

住木・梅澤記念賞受賞講演会記録

2012年11月8日, 学士会館202号室

【2012年度受賞講演, 座長: 鈴木賢一】

微生物由来天然物をはじめとするシグナル伝達作用物質の 探索に関する研究

石橋正己 (千葉大学大学院薬学研究院)

当研究室では現在, 種々の疾患や生命現象に関連するシグナル伝達分子を標的としたスクリーニング研究を行っている。スクリーニング対象としては, 日本国内の土壌や海水・海泥から採取した放線菌を研究材料として収集している。またこの他アジア産植物や変形菌等の種々の天然資源を用いている。本講演では, 1) 微生物由来代謝産物に関する研究, および2) シグナル伝達分子を標的としたスクリーニング研究の二つを中心に, これまでの研究内容の概要を記す。

1. 微生物由来代謝産物に関する研究

演者は, 1988-89年北里研究所において, 微生物からの殺細胞活性成分の探索に関する研究を行い, フラキノシン, グルコピエリシジノールなどの数種の新規活性成分の単離・構造決定および合成に関する研究に従事した。このうち, フラキノシン類は *Streptomyces* sp. KO-3988 から得られた新規殺細胞活性天然物であり, ポリケチド由来のナフトキノン環にイソプレノイド鎖が結合した

ハイブリッド型のユニークな化学構造をもっている (図1)¹⁾。その後, 本化合物を対象とした全合成研究や生合成遺伝子クラスター研究が国内外の研究者により活発に展開された^{2,3)}。

この研究経験を基礎として演者は現在千葉大学においても, 放線菌を対象とした生物活性天然物の探索を行っている。これまでに主に千葉県産土壌, 海泥等から分離した放線菌株より数種のユニークな化学構造と生物活性をもつ新規天然物を単離した。その中で最近千葉産放線菌より単離した新規芳香族複素環化合物 (図2) の例を以下に紹介する。

図1. フラキノシンAの構造

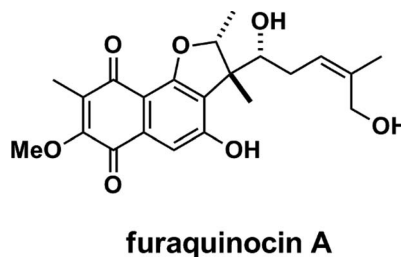
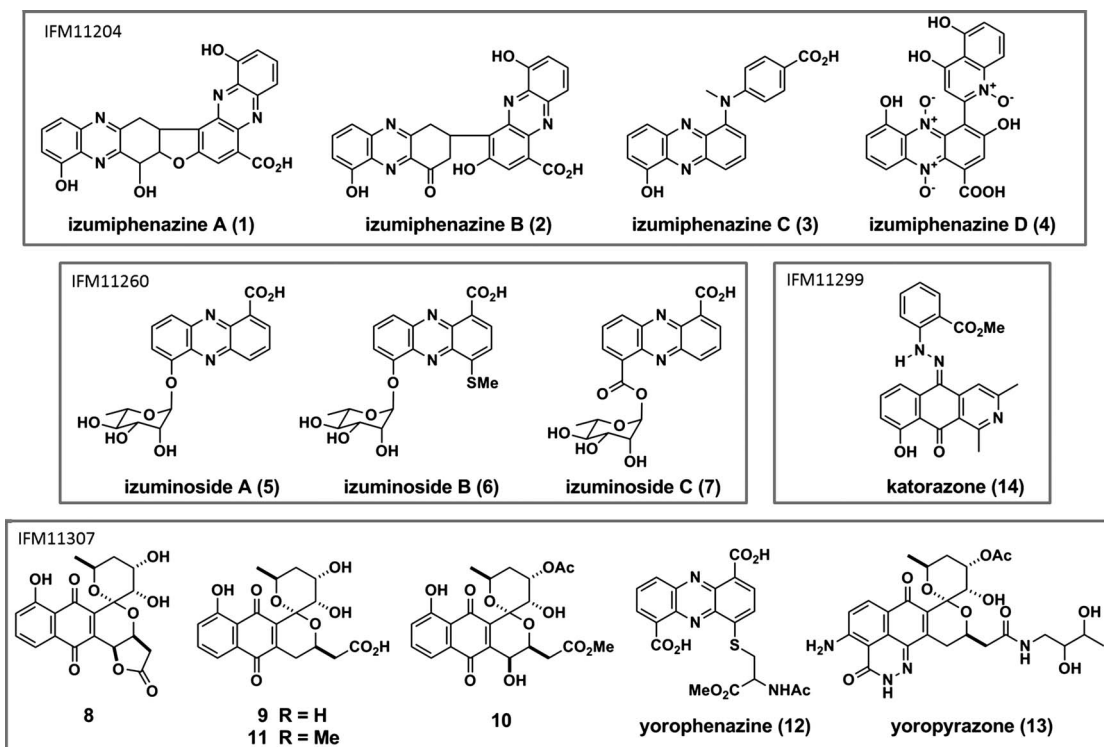


図2. 千葉産放線菌由来新規生物活性芳香族複素環化合物



1.1. フェナジン二量体アルカロイド izumiphenazine

千葉市いずみの森で採取した土壌サンプルから分離した *Streptomyces* sp. IFM 11204 の培養エキスより TLC 呈色試験によるケミカルスクリーニングを指標として4種の新規フェナジンアルカロイド izumiphenazine A~D (1~4) を単離した^{4,5)}。スペクトルデータに基づく構造解析の結果, 1と2はフェナジンが炭素-炭素結合で二量体を形成した構造をもつことが判明した。本菌からは同時に数種の既知フェナジン誘導体が得られた。化合物3は *N*-メチル基を介して1-ヒドロキシフェナジンと4-アミノ安息香酸が結合した構造をもち, また化合物4はフェナジン *N*-ジオキシドとキノリン *N*-オキシドが連結した新規化合物であった。フェナジン *N*-ジオキシドおよびキノリン *N*-オキシドは各々天然物として多くの例が報告されてい

るが, 両者が連結した天然物は初めてである。

1.2. フェナジン配糖体 izuminoside

千葉市いずみの森で採取した土壌サンプルから分離した上記とは別の菌株 *Streptomyces* sp. IFM 11260 の培養エキスから3種の新規フェナジンカルボン酸配糖体 izuminoside A~C (5~7) を単離した⁶⁾。配糖体構造をもつフェナジン類の報告例は比較的少ない。化合物5~7に含まれるラムノースのアノマー位はINEPT実験によって明らかとなった¹J_{C-H}値からいずれもα配置であることが示唆された。また, 酸加水分解後, 旋光度検出器を用いたHPLC分析により化合物5~7に含まれるラムノースはいずれもL型であることが明らかとなった。

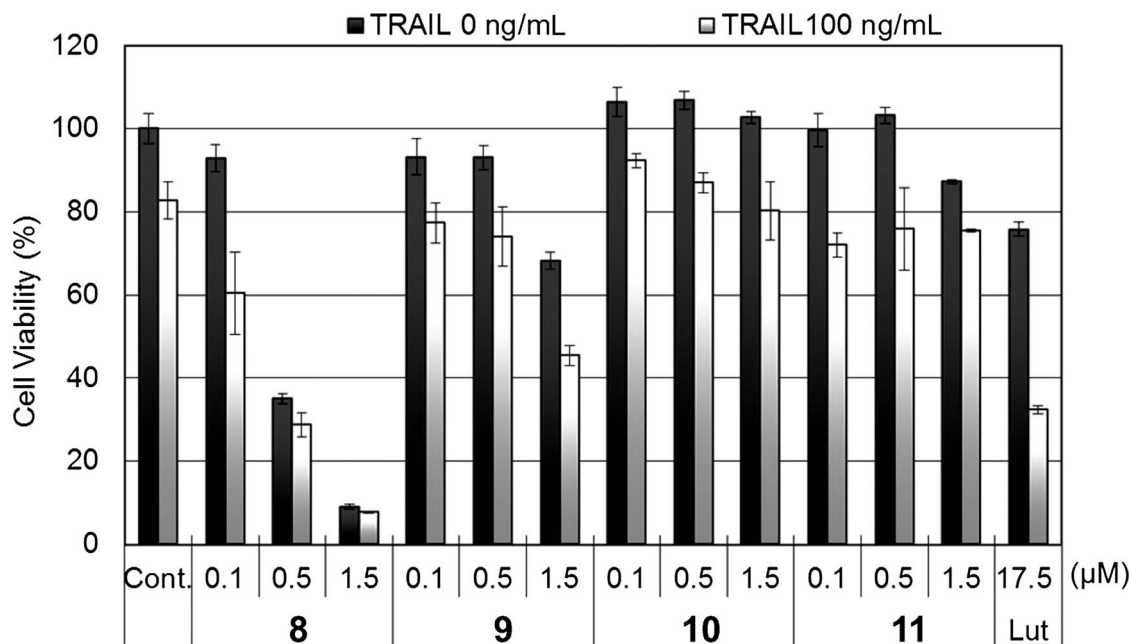
1.3. グリセウシンエナンチオマーとナフトピリダゾンアルカロイド yoropyrazone

市原市養老溪谷の土壌より分離した *Streptomyces* sp. IFM 11307 の培養エキスは NaOH により青色を呈し、360 nm に UV 吸収を示した。そこで本菌の培養上清および菌体の酢酸エチル可溶部について各種クロマトグラフィーによる分離精製を行い、スピロピラノナフトキノン骨格をもつ新規化合物 4 種 (8~11)、ならびに新規フェナジノシステイン (12) および新規ナフトピリダゾンアルカロイド yoropyrazone (13) を単離した^{7,8)}。このうち化合物 8 と 9 は既知の (-)-4'-deacetylgriseusin A および B と各々 NMR スペクトルデータが一致したものの比旋光度の符号が逆であった。Griseusin 類については一連の鏡像異性体の合成研究が詳細な CD スペクトルデータとともに報告されており、化合物 8 と 9 についてその CD データを文献値と比較した結果、各々既知天然物のエナンチオマーに相当する (+)-4'-

deacetylgriseusin A および B であると結論した。化合物 10 と 11 については絶対配置に関わらず新規化合物であったが CD データより化合物 8, 9 と同様に既知の griseusin 類とは逆の系列の絶対立体配置をもつことが示唆された。一方、13 はスピロピラノナフトキノン骨格にピリダゾン環が縮環し、側鎖にアミド結合で繋がったジヒドロキシブチルアミンをもつ新規化合物であることが明らかとなった。

これら一連の芳香族複素環天然物について TRAIL 耐性ヒト胃がん細胞 AGS (TRAIL-resistant human gastric adenocarcinoma) に対する TRAIL 耐性克服作用に関する試験を行った結果、とくに化合物 8~11 に顕著な活性が認められた (図 3)。すなわち、例えば化合物 8 は 0.1 μ M において、化合物単独使用時に比較して TRAIL (100 ng/mL) 併用時に、細胞生存率を 33% 低下させた。

図 3. TRAIL 耐性ヒト胃がん細胞 AGS に対する化合物 8~11 の TRAIL 耐性克服作用



1.4. アザアントラキノン-フェニルヒドラゾン katorazone

香取市で採取した土壌サンプルから分離した *Streptomyces* sp. IFM 11299 の培養エキスより新規アザアントラキノン-フェニルヒドラゾン化合物 katorazone (14) を既知のアザアントラキノン utamycin A とともに単離した⁹⁾。14 は utamycin A のカルボニル基の一つとヒドラジニルアントラニル酸メチルとがフェニルヒドラゾンを形成した新規化合物であった。これはフェニルヒドラゾン構造をもつ天然物としては二例目である。また、utamycin A は以前、遺伝子操作された *Streptomyces* sp. から単離されていたものであり、野生放線菌株から単離されたのは今回が初めてである。

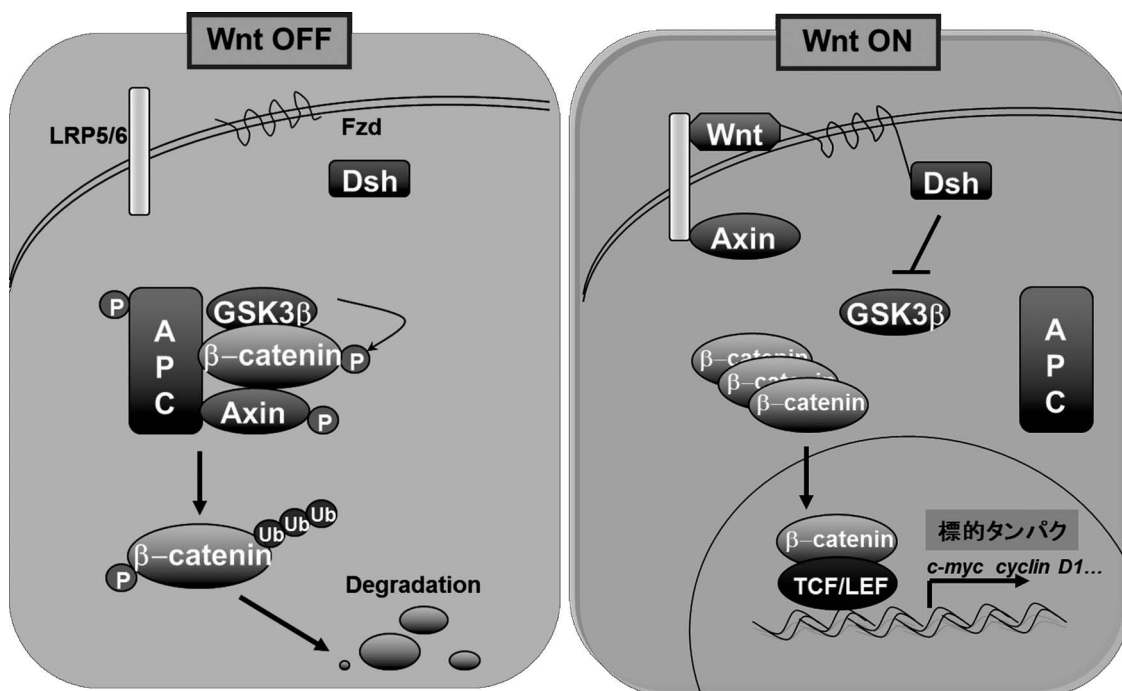
2. シグナル伝達分子を標的としたスクリーニング

一方、当研究室では、主としてシグナル伝達分子を標的としたスクリーニングを基盤とする包括的な天然物化学研究を行っている。スクリーニング標的としては、疾患および種々の生命現象に関連する Wnt, hedgehog, TRAIL シグナル経路および bHLH 転写因子などをとりあげている。ここではその中から Wnt および hedgehog シグナルに関するスクリーニングについて紹介する。

2.1. Wnt シグナル

ウィント (Wnt) シグナルは、進化上幅広い生物種に保存されており、胚や幹細胞における発生、細胞極性、細胞運命決定、分化、増殖、自己複製、多能性維持等の様々な生命現象に重要な役割を果たしている。成人においても本シグナルが正常に機能していることが重要であり、本シグナ

図4. Wntシグナル伝達経路 (Wnt/ β カテニン経路)



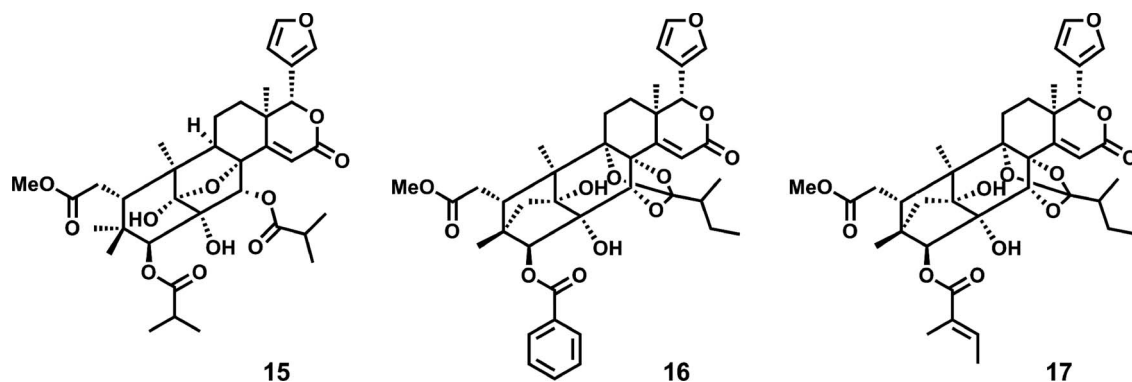
ルの破綻が、がん、アルツハイマー病、骨粗鬆症、糖尿病、心臓血管系疾患、統合失調症等の種々の疾患につながる事が知られている。従ってWntシグナルを制御する新たな低分子化合物を見出せば、これら生命システムに関わる基礎研究および各々に関連する疾患治療薬の創製へ貢献することが期待され、これまでにWntシグナル阻害剤として β カテニン複合体形成阻害作用やAxin分解抑制作用などを示す合成化合物が報告されている¹⁰⁾。

当研究室では、とくに β -cateninを介する本シグナル経路 (Wnt/ β カテニン経路, 図4) に着目し、本経路を阻害または活性化する天然物のスクリーニングを主に植物や放線菌を対象として行っている。スクリーニングには本経路における転写因子TCFに対する結合部位 (CCTTTGATC) をもつルシフェラーゼレポータープラスミド SuperTOP-Flash を安定的に導入した細胞 (STF/293細胞) を用い、試料添加時のルシフェラーゼ活性を測定することにより転写活性を評価する。なお、変異したTCF結合部位 (CCTTTGGCC) をもつレポータープラスミド SuperFOPFlash を導入した細胞を用いた試験も行い、こちらのルシフェラーゼ活性には影響を及ぼさない試料をTCF転写活性に対して選択的に作用するものと判断している。スクリーニングの結果、これまでにアヤメ科植物

Eleutherine palmifolia から単離した新規ナフトレン配糖体 eleutherinoside 類¹¹⁾、変形菌由来ビスインドールアルカロイド dihydroarcyriarubin C¹²⁾、変形菌由来ペプチドラクトン melleumin B の合成類縁体¹³⁾ 等がWntシグナル阻害作用を示すことを見出した。一方、マメ科 *Erythrophleum succirubrum* から単離した既知のフラボノイド配糖体やトウダイグサ科 *Excoecaria indica* から得られたフォルボール型ジテルペン¹⁴⁾ はWntシグナル活性化作用を示した。ここでは、最近の成果として、二種の植物および千葉県産放線菌から単離したWntシグナル阻害作用を示す天然物について紹介する。

顕著なWntシグナル阻害作用が認められたセンダン科 *Xylocarpus granutum* 葉部エキスについて、活性成分の精製を行い、リモノイド成分 (15~17) 等を単離した (図5)。スペクトルデータに基づく構造解析の結果、化合物15と16は新規化合物であることが判明し、xylogranin A (15) およびB (16) と命名した。このうち化合物16と17は強いTCF転写阻害作用を示し、そのIC₅₀値は各々54nM, 49nMであった。一方、化合物15は活性を示さなかった。化合物16と17にはオルソエステル基が含まれるが化合物15には含まれない。化合物16 (または17) と化合物15では、DFT計算による安定構造も異なっていたため活性との

図5. センダン科 *Xylocarpus granutum* から単離したリモノイド成分



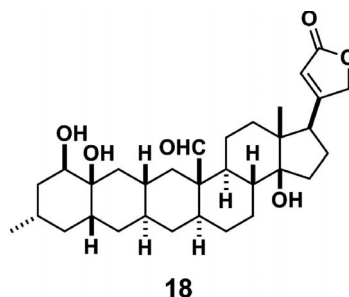
相関が示唆された。

強力な Wnt シグナル阻害活性を有していた **16** について、ヒト大腸がん細胞 (SW480 細胞) を用いて、本シグナルの転写活性化因子である β -catenin のたんぱく質の発現量を検討したところ、細胞全体、細胞質では顕著な変化は認められなかったが、核内において β -catenin の濃度依存的な減少がみられた。また、免疫染色法により SW480 細胞における β -catenin の局在変化を検討したところ、化合物未処理群では核内にも存在した β -catenin が化合物添加により核内から消失している傾向が認められた。したがって、**16** は核内の β -catenin を減少させる作用をもつことがわかった。次に **16** による Wnt シグナルの標的遺伝子である *c-myc*、*PPAR δ* の発現量の影響を検討した。まず、ウエスタンブロット法により、標的遺伝子産物の発現量を検討したところ、200 nM の濃度で *c-myc* は細胞全体、核内において、*PPAR δ* は核内において減少がみられた。また、mRNA の発現量をリアルタイム PCR 法により検討したところ、*c-myc* は化合物添加により低濃度では上昇したが、200 nM の濃度では減少し、また、*PPAR δ* も 200 nM の濃度で減少した。したがって、**16** は Wnt シグナルの標的遺伝子の発現を mRNA レベルで抑制することが示された。

一方、ガガイモ科 *Calotropis gigantea* にも強い Wnt シグナル阻害を有することが見出されたので本植物エキス中の活性成分の探索を行った。本植物の滲出液メタノールエキスを溶媒分配し、活性が認められた酢酸エチル可溶部について上記の活性試験を指標として、シリカゲル、ODS カラムによる分画を行った結果 6 種のカルデノリド類 (**18** 等) を単離した (図 6)。

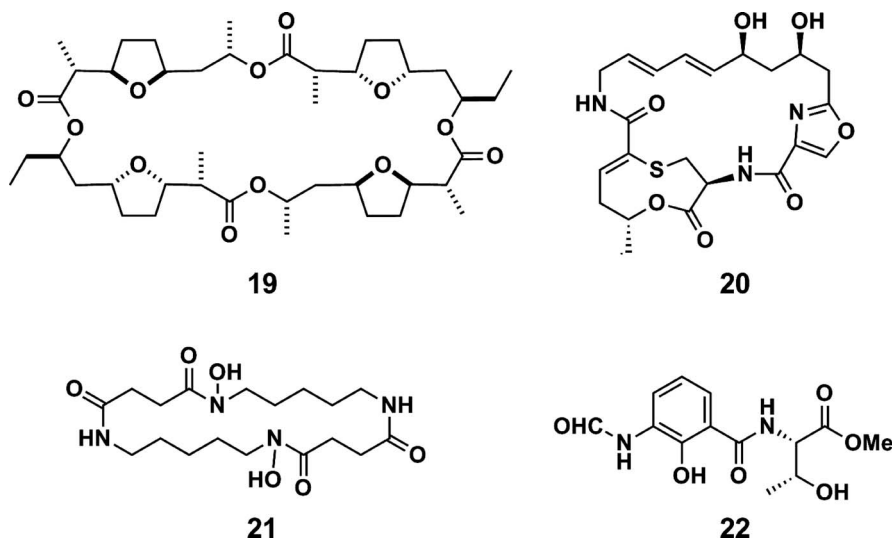
これら 6 種の化合物はいずれも nM 単位の強力な TCF/ β -catenin 転写阻害活性をもつことが判明した (IC_{50} 0.7~3.8 nM)。またこれらの化合物のうち、calotropin (**18**) について 3 種のヒト大腸が

図 6. ガガイモ科 *Calotropis gigantea* から単離したカルデノリド化合物 calotropin (**18**)



ん細胞 (DLD1, HCT116, SW480) および非がん細胞 (293, 293T) に対する毒性試験を行った。その結果、**18** はとくに大腸がん細胞に対して顕著な細胞毒性を示すことがわかった。次に、大腸がん SW480 細胞において、活性化化合物 **18** が Wnt シグナルの転写活性化因子である β -catenin と標的遺伝子である *c-myc* のタンパク質の発現量へ及ぼす影響を検討した。その結果、**18** により β -catenin のタンパク質量は細胞全体、核、細胞質で濃度依存的に減少することが認められた。また、標的遺伝子である *c-myc* の減少も確認された。しかし、**18** とプロテアソーム阻害剤である MG-132 と併用すると、 β -catenin の減少は認められなかった。さらに **18** の添加により β -catenin の分解シグナルである CK1 α および GSK3 β による β -catenin のリン酸化の促進が認められ、**18** は、 β -catenin のリン酸化を促進することにより、その分解を促進することが示唆された。**18** による β -catenin の減少は GSK3 β 阻害剤である LiCl を処理しても変わらなかったため、**18** の効果は GSK3 β には依存しないことが示唆された。一方、CK1 α 阻害剤である CKI-7 を添加すると **18** による β -catenin の分解は認められなくなった。また CK1 α RNAi によっても **18** による β -catenin の分解は認められなくなった。**18** は CK1 α のタンパク量を増加させることが明らかとなったため、**18** は CK1 α の増加により β -catenin の

図7. Wntシグナルに関するスクリーニングにより放線菌から単離した化合物



リン酸化を誘導し、プロテアソーム系での β -catenin の分解を促進することを介して、Wntシグナルを阻害することが示唆された。

この他、千葉県産放線菌エキスに対しても Wntシグナル阻害作用に関するスクリーニングを行った。その結果、3種の放線菌株について各々 Wntシグナル阻害作用をもつ活性成分の探索を行った(図7)。まず千葉市若葉区産の一放線菌株 CKK179 の培養エキスには dinactin (19) とその関連化合物が含まれていた。19 はアンモニウムまたはカリウムイオノフォアとして知られているが、 IC_{50} 値 1.3 nM という低濃度で TCF 転写阻害作用を示した¹⁵⁾。また、九十九里町産海水サンプルより分離した放線菌株 CKK748 からは griseoviridin (20)、千葉市産土壌由来の放線菌株 CKK784 からは biscaberin (21) を始めとする数種のマクロラクタム類および *N*-formylantimycin acid methyl ester (22) を単離、同定した。これらのうち、20 および 21 は濃度依存的に TCF 転写阻害活性を示した¹⁶⁾。

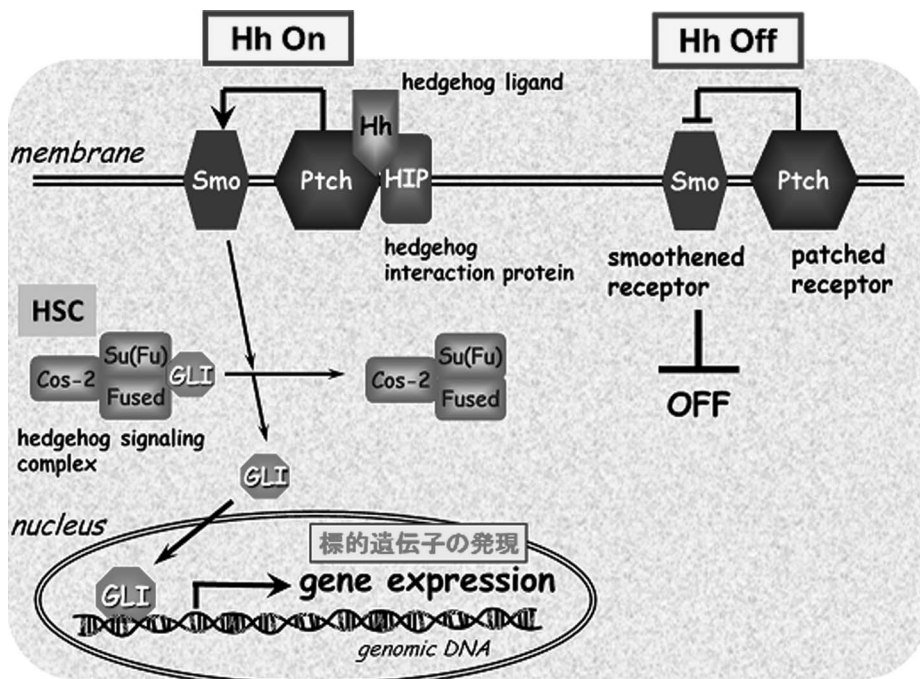
2.2. Hedgehog シグナル

ヘッジホッグ (Hh) シグナル伝達経路は、シヨ

ウジョウバエからヒトに至るまで高度に保存されており、胚、胎児および成体の発生、分化において、増殖、幹細胞維持、パターン形成などを時間と場所に依存して制御する重要な役割を果たしている。一方で本シグナルはがん、細胞増殖性疾患、神経障害、骨形成異常等にも関与することが報告されており、Hh シグナル経路を標的とした治療剤の開発が進んできている。本経路は、リガンドタンパク質 Hh、その受容体である膜貫通型タンパク質 Ptch、Ptch によって抑制されるもう一つの膜貫通型タンパク質 Smo、およびその下流で機能する数種のタンパク複合体 (HSC) とそこから放出される転写因子 GLI などで主に構成される (図8)。

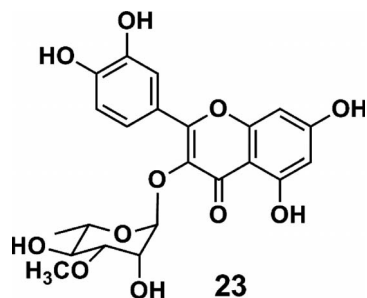
これまでに Smo 阻害剤としてユリ科コバイケイソウ (小梅蕙草) に含まれるステロイドアルカロイド cyclopamine などが知られており、また転写因子 GLI を阻害する合成化合物なども数種報告されている¹⁰⁾。当研究室では本経路における転写因子 GLI1 の転写活性に関する細胞アッセイ系を構築した¹⁷⁾。まずプロモーター部に 12 個の GLI 結合部位 (GACCACCCA) を有し、その下流にル

図8. ヘッジホッグ (Hh) シグナル伝達経路



シフェラーゼをコードする配列をもつレポーターベクター (pGL4-GLIBS) を作成した。次に本ベクターをテトラサイクリン (TC) の添加によって GLI1 が発現する細胞 (T-Rex システム) に安定的に遺伝子導入し, TC の添加により GLI1 の増加に伴ってルシフェラーゼの発現が増大する細胞を樹立した。本細胞アッセイシステムを用いてスクリーニングを行った結果, 当研究室保有の天然物のなかからヘッジホッグ (Hh) シグナル阻害作用を示す化合物を数種見出した¹⁷⁾。今回, さらなるスクリーニング試験により Hh 阻害作用が認められたトウダイグサ科 *Excoecaria agallocha* について活性成分の探索を行ったので以下に紹介する。

スクリーニングの結果, 活性が認められたバングラデシュ産トウダイグサ科 *E. agallocha* (現地名, Gewa) の地上部のメタノールエキス (20.5 g) について溶媒分配を行い, ヘキサン, 酢酸エチル, ブタノール, および水可溶画分を得た。Hh シグナル阻害作用が認められた酢酸エチル可溶画分に対

図9. トウダイグサ科 *Excoecaria agallocha* から単離した新規化合物 gewain

して ODS およびシリカゲルカラムクロマトグラフィー, 続いて分取 HPLC を行い, 活性成分として化合物 **23** を単離した¹⁸⁾。本化合物 (**23**) は各種スペクトルデータや加水分解実験の結果に基づき, 3-O-メチル-L-ラムノースを含む新規フラボノイド配糖体であることが判明し, gewain と命名した (図9)。**23** は顕著な GLI1 転写阻害活性 (IC_{50} 0.5 μ M) を示し, Hh シグナルが亢進している PANC1 細胞 (IC_{50} 0.7 μ M) や DU145 細胞 (IC_{50}

0.8 μ M) に対して強い細胞毒性を示したが対照とした C3H10T1/2 細胞に対する細胞毒性は低かった (IC₅₀ > 100 μ M)。また **23** は PANC1 細胞において核内の GLI1 タンパクを減少させたことから、GLI1 タンパクの細胞質から核への移行を阻害したと推定された。また化合物 **23** は siRNA により Smo をノックダウンした状態でも、Hh の標的遺伝子である Ptch の mRNA を減少させた。このことから、化合物 **23** による Hh シグナルの阻害は Smo とは無関係 (Smo 非依存的) に起こっていることが示唆された。

3. おわりに

当研究室では、上述のシグナル伝達経路の他、これまでに千葉産放線菌から TRAIL 受容体誘導作用に関するスクリーニングによりテレオシジン¹⁹⁾ を、TRAIL 耐性克服作用に関するスクリーニングにより新規チロシン誘導体²⁰⁾ を各々単離した。千葉産以外では、富山県産土壌由来の放線菌から新規カルバメート型およびピリジン型アルカロイド化合物を単離した^{21,22)}。またこの他、幹細胞の分化および維持増殖に関わる bHLH 転写因子についても標的として取り上げ²³⁾、放線菌を対象とした活性成分のスクリーニングも行っている。また一方で、天然物をモチーフとした多様性指向型合成にも取り組んでおり、スクリーニングに活用している²⁴⁾。このように今後も放線菌代謝産物を始めとする天然物および天然物基盤合成化合物を対象として、種々のシグナル分子に作用するスクリーニングを継続して行い、有用な活性低分子化合物の発見ならびに創製を行っていきたい。

謝辞

本研究は、千葉大学大学院薬学研究院活性構造化学研究室で行われたものであり、荒井緑准教

授、當銘一文助教を始めとする研究室メンバーの努力に深く感謝します。とくに放線菌に関する研究の中心となった日本学術振興会外国人特別研究員 M. S. ABDEL FATTAH 博士 (エジプト・ヘルワン大学) に感謝します。放線菌の同定、保存に関してお世話になっている千葉大学真菌医学研究センターの五ノ井透教授に感謝します。また、本研究の遂行に当たりご支援を賜りました日本学術振興会科学研究費補助金 (新学術領域研究, 基盤研究, 特別研究員奨励費), 科学技術振興機構, 積水化学自然に学ぶものづくりプログラム, アストラゼネカ R&D グラント, および千葉大学概算要求プロジェクト (SPECT, ヨウ素) に感謝いたします。

参考文献

- 1) ISHIBASHI, M.; S. FUNAYAMA, K. KOMIYAMA, *et al.*: Novel antibiotics, furaquinocins C, D, E, F, G and H. *J. Antibiotics* 44: 390~395, 1991 and references cited therein
- 2) SAITO, T.; T. SUZUKI, M. MORIMOTO, *et al.*: Total synthesis of the furaquinocins. *J. Am. Chem. Soc.* 120: 11633~11644, 1998 and references cited therein
- 3) KAWASAKI, T.; Y. HAYASHI, T. KUZUYAMA, *et al.*: Biosynthesis of a natural polyketide-isoprenoid hybrid compound, furaquinocin A: Identification and heterologous expression of the gene cluster. *J. Bacteriol.* 188: 1236~1244, 2006 and references cited therein
- 4) ABDEL FATTAH, M. S.; K. TOUME & M. ISHIBASHI: Izumiphenazine A, B and C: novel phenazine derivatives isolated from *Streptomyces* sp. IFM 11204. *J. Nat. Prod.* 73: 1999~2002, 2010
- 5) ABDEL FATTAH, M. S.; K. TOUME & M. ISHIBASHI: Izumiphenazine D, new phenazoquinoline N-oxide from *Streptomyces* sp. IFM 11204. *Chem. Pharm. Bull.* 59: 508~510, 2011
- 6) ABDEL FATTAH, M. S.; K. TOUME & M. ISHIBASHI: Isolation and structure elucidation of izuminosides A-C: a rare phenazine glycosides from *Streptomyces* sp. IFM 11260. *J. Antibiotics*

- 64: 271~275, 2011
- 7) ABDELFAH, M. S.; K. TOUME & M. ISHIBASHI: New pyranonaphthoquinones and phenazine alkaloid isolated from *Streptomyces* sp. IFM 11307 with TRAIL resistance-overcoming activity. *J. Antibiotics* 64: 729~734, 2011
 - 8) ABDELFAH, M. S.; K. TOUME & M. ISHIBASHI: Yoropyrazone, a new naphthopyridazone alkaloid isolated from *Streptomyces* sp. IFM 11307 and evaluation of its TRAIL resistance-overcoming activity. *J. Antibiotics* 65: 245~248, 2012
 - 9) ABDELFAH, M. S.; K. TOUME, M. A. ARAI, *et al.*: Katorazone, a novel yellow pigment with 2-azaquinone-phenylhydrazone structure produced by *Streptomyces* sp. IFM 11307. *Tetrahedron Lett.* 53: 3346~3348, 2012
 - 10) TAKEBE, N.; P. J. HARRIS, R. Q. WARREN, *et al.*: Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 8: 97~106, 2011
 - 11) LI, X.; T. OHTSUKI, T. KOYANO, *et al.*: New Wnt/ β -catenin signaling inhibitors isolated from *Eleutherine palmifolia*. *Chem. Asian J.* 4: 540~547, 2009
 - 12) KANIWA, K.; M. A. ARAI, X. LI, *et al.*: Synthesis, determination of stereochemistry, and evaluation of new bisindole alkaloids from the myxomycete *Arcyria ferruginea*; an approach for Wnt signal inhibitor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17: 4254~4257, 2007
 - 13) ARAI, M. A.; S. HANAZAWA, Y. UCHINO, *et al.*: Total synthesis and evaluation of Wnt signal inhibition of melleumin A and B and their derivatives. *Org. Biomol. Chem.* 8: 5285~5293, 2010
 - 14) YAMAGUCHI, T.; K. TOUME, M. A. ARAI, *et al.*: Phorbol esters with Wnt signal-augmenting effects isolated from *Excoecaria indica*. *Nat. Prod. Commun.* 7: 475~477, 2012
 - 15) TAMAI, Y.; K. TOUME, M. A. ARAI, *et al.*: Nonactin and related compounds found in a screening program for Wnt signal inhibitory activity. *Heterocycles* 84: 1245~1250, 2012
 - 16) TAMAI, Y.; K. TOUME, M. A. ARAI, *et al.*: Griseoviridin and cyclic hydroxamates found in a screening program for Wnt signal inhibitor. *Heterocycles* 86: 1517~1524, 2012
 - 17) HOSOYA, T.; M. A. ARAI, T. KOYANO, *et al.*: Naturally occurring small-molecule inhibitors of Hedgehog/GLI-mediated transcription. *ChemBioChem* 9: 1082~1092, 2008
 - 18) RIFAI, Y.; M. A. ARAI, T. KOYANO, *et al.*: New Hedgehog/GLI signaling inhibitors from *Excoecaria agallocha*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 21: 718~722, 2011
 - 19) KIKUCHI, H.; T. OHTSUKI, T. KOYANO, *et al.*: Activity of mangosteen xanthenes and teleocidin A-2 in death-receptor expression enhancement and tumor necrosis-factor related apoptosis-inducing ligand assays. *J. Nat. Prod.* 73: 452~455, 2010
 - 20) AHMED, F.; T. OHTSUKI, W. AIDA, *et al.*: Tyrosine derivatives isolated from *Streptomyces* sp. IFM 10937 in a screening program for TRAIL-resistance overcoming activity. *J. Nat. Prod.* 71: 1963~1966, 2008
 - 21) AIDA, W.; T. OHTSUKI, X. LI, *et al.*: Isolation of new carbamate- or pyridine-containing natural products, fuzanins A, B, C, and D from *Kitasatospora* sp. IFM10917. *Tetrahedron* 65: 369~373, 2009
 - 22) MAEKAWA, K.; K. TOUME & M. ISHIBASHI: Isolation of new fuzanins, carbamate-containing natural products, from *Kitasatospora* sp. IFM10917. *J. Antibiotics* 63: 385~388, 2010
 - 23) ARAI, M. A.; A. MASADA, T. OHTSUKA, *et al.*: The first Hes1 dimer inhibitors from natural products. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19: 5778~5781, 2009
 - 24) ARAI, M. A.; M. SATO, K. SAWADA, *et al.*: Efficient synthesis of chromone and flavonoid derivatives with diverse heterocyclic units. *Chem. Asian J.* 3: 2056~2064, 2008