

## 〈総 説〉

# 微生物由来の代謝調節物質アロサミジン，アフラスタチンに関する生物有機化学的研究の展開

作田庄平

帝京大学理工学部バイオサイエンス学科

(2018年11月6日受付)

アロサミジン，アフラスタチンAはともに放線菌の代謝産物である。アロサミジンは、はじめてのキチナーゼの阻害物質として発見され、キチンを生体成分として持つ生物に対する作用だけでなく、キチンを持たない生物に対しても生物活性を示し、哺乳類に対しては抗喘息活性を有することが見出された。また、放線菌に対してアロサミジンは、キチナーゼ生産促進作用を持ち、土壤環境におけるキチン代謝や菌叢を調節するシグナル物質として機能することが示唆された。アフラスタチンAは、カビ毒であるアフラトキシンの生産阻害物質の探索研究によって最初に見出された化合物であり、ユニークな構造を有する。アフラスタチンAおよび類縁化合物であるブラストサイジンAの全絶対立体配置が決定され、それらはタンパク質合成阻害作用を持ち、プロテインフォスファターゼを阻害することが示された。アフラスタチンの発見は、微生物や植物由来の他のアフラトキシン生産阻害物質に関する研究へと発展した。

## 序 文

微生物の代謝産物であるアロサミジン<sup>1)</sup>，アフラスタチンA<sup>2)</sup>が発見されてから、それぞれ30年、20年以上になる。両化合物とも、新しい生物活性と新規性の高い構造を持つ物質として見いだされ(図1)、関連研究分野の発展に貢献してきた。本総説では、2001年以降に、両化合物に関して行われてきた研究を記す。

### 1. アロサミジン

アロサミジンはカイコのキチナーゼを阻害する

物質として、*Streptomyces*属放線菌の菌体メタノール抽出液から単離された。アロサミジンが発見された1986年当時、キチナーゼの酵素学的性質や機能に関する知見は乏しく、はじめてのキチナーゼ阻害物質であるアロサミジンは種々の生物におけるキチナーゼの役割を探るために用いられた。これまで調べられたアロサミジンの作用を、表1に発表された年代順にまとめた。

キチンは昆虫の皮膚、真菌の細胞壁、甲殻類の殻などの主成分であり、それらキチンを持つ生物のキチナーゼは脱皮や成育時に機能することがアロサミジンにより示された。アロサミジンは酵母に対しては出芽の際に母細胞と娘細胞の切り離しを阻害する活性を示したが、糸状菌の菌糸の成長

図1. アロサミジン, デメチルアロサミジン, アフラスタチンAの構造式

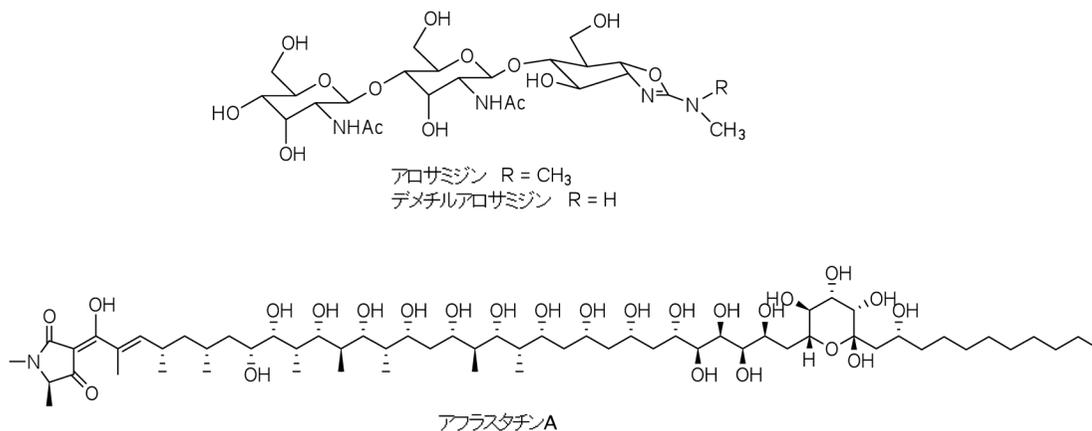


表1. キチナーゼの役割とアロサミジンの作用

生物*	キチナーゼの役割	アロサミジンの作用	文献 (年)
昆虫	古い皮膚の分解	脱皮阻害	3) (1987)
酵母	隔壁の切離し	細胞の切離し阻害	4) (1990)
寄生虫	囲食膜の分解	マラリア原虫生活環攪乱	5) (1993)
真菌	菌糸成長等	菌糸形態異常	6) (1994)
細菌	栄養源の取得	キチナーゼ生産促進	7) (2001)
哺乳類	防御、消化?	抗喘息作用	8) (2004)
植物	防御	ストレス耐性の増強	9) (2009)
真珠貝	結晶構造の形成	結晶構造に乱れ	10) (2017)

\*アンダーラインの生物はキチンを生体成分として持つ

等には影響を与えず、キチナーゼ阻害物質は抗真菌作用を示さないことが分かった。キチナーゼは、キチンを生体成分として持たない植物、哺乳類、細菌なども生産し、ほぼすべての生物が持つことが現在明らかになっている。植物では病原真菌に対する防御物質としてキチナーゼが生産され、細菌ではキチンを資化するためにキチナーゼが用いられる。哺乳類におけるキチナーゼの役割は未だ不明な点が多いが、アロサミジンが抗喘息作用を示すことが報告された。一方で、アロサミジン生産放線菌におけるアロサミジンの役割に関する研究により、アロサミジンはキチナーゼ生産

促進物質として機能することが示された。以下に、アロサミジンの抗喘息作用とキチナーゼ生産促進作用に関して筆者らが行った研究の詳細を記す<sup>11)</sup>。

### 1-1. アロサミジン類の抗喘息作用

2004年に、Eliasのグループにより、喘息モデルマウスの肺において、喘息発症時に哺乳類酸性キチナーゼ (acidic mammalian chitinase, AMCCase) の発現が上昇し、AMCCaseの抗体あるいはアロサミジンを投与すると喘息症状が緩和することが見出された<sup>8)</sup>。実験では、オボアルブミンの投与に

よる、肺の上皮細胞における好酸球遊走の活性化やエオタキシン発現の上昇といった喘息症状が、アロサミジンの腹腔内投与により緩和されたとの結果であった。このことより、AMCaseは、抗原刺激から喘息発症にいたる経路において、メディエーターとして機能すると考えられた。また、アロサミジンはファミリー18キチナーゼの触媒部位にキチンミミックとして結合することが、多くのエックス線結晶解析により示されていることより<sup>12)</sup>、AMCaseの活性部位にアロサミジンが結合することで、メディエーターとしての機能が阻害されることが示唆された。

この報告を受けて、AMCaseのキチナーゼ活性を強く阻害するアロサミジン誘導体は、より強力な抗喘息作用を示す可能性があると考え、九州大学呼吸器科の井上博雅博士（現鹿児島大学）との共同研究を開始した。哺乳類にはAMCaseの他のキチナーゼとしてキトトリオンダーゼが知られ、両者には低いホモロジーがある。デメチルアロサミジンは酵母のキチナーゼをアロサミジンより強力に阻害するが、キトトリオンダーゼに対してもアロサミジンより強く阻害した。そこで、デメチルアロサミジンとアロサミジンのAMCaseに対する阻害を調べることにし、また喘息モデルマウスを用いた抗喘息作用を検討した。その結果、組換えAMCaseに対して、アロサミジンとデメチルアロサミジンは同等の阻害活性を示したが、デメチルアロサミジンの方がアロサミジンより強い抗喘息作用を示すことが明らかになった。IL-13の経口投与により引き起こされる、好酸球遊走の活性化、エオタキシン発現の上昇を、デメチルアロサミジンはアロサミジンの十分の一の濃度で抑制した。また、喘息の症状である気道過敏性は、アセチルコリンの投与による気道内圧の上昇を目安に調べることができるが、アロサミジンは気道内圧の上昇をある程度抑制したが、デメチルアロサミジンはアロサミジンの十分の一の濃度で、気道内

圧の上昇を完全に抑制したことより、デメチルアロサミジンがアロサミジンよりすぐれた抗喘息作用を示すことが分かった<sup>13)</sup>。このアロサミジン類の抗喘息活性の違いは、AMCaseの発現量へ与える影響や代謝速度の違いによるものではなく、AMCaseに対するキチナーゼ阻害活性が同等であることより、アロサミジン類の抗喘息作用のターゲットはAMCase以外に存在することが考えられた<sup>14)</sup>。

AMCaseと喘息の関連性が報告された頃、キチナーゼ様タンパク質と喘息との関係も相次いで報告された。キチナーゼ様タンパク質とは、キチナーゼと高いホモロジーを持つが、触媒部位の酸性アミノ酸が他のアミノ酸に置換し、キチンやキチンオリゴ糖と結合するが、キチナーゼ活性は消失したタンパク質である。種々の生物での存在が知られるが、その生理的役割は不明である。マウスのキチナーゼ様タンパク質であるYm1、Ym2およびBRP-39について、それぞれが喘息と関連するとの報告が出された。さらに、BRP-39のヒトでのホモログであるYKL-40の発現量が喘息患者では高いことが示された<sup>15)</sup>。アロサミジン類はBRP-39等のキチナーゼ様タンパク質に結合することが予想でき、アロサミジンとデメチルアロサミジンの抗喘息作用の違いは、キチナーゼ様タンパク質との相互作用の強さの違いによる可能性が考えられた。そこで、キチナーゼ様タンパク質の組換え体を調製し、アロサミジン類との相互作用を調べる計画を立てた。キチナーゼ様タンパク質の活性部位のアミノ酸を置換し、キチナーゼ活性を持たせた改変タンパク質については、BRP-39の改変体に対して、デメチルアロサミジンがアロサミジンより強くキチナーゼ活性を阻害していることを見出した。今後、キチナーゼ様タンパク質の生理作用の解明と合わせて、アロサミジン類の抗喘息作用機構の全体像を明らかにすることが必要である。

### 1-2. アロサミジンのキチナーゼ生産促進活性

土壌より分離した放線菌の5%以上がアロサミジン生産菌であることより、アロサミジン発見当初より、アロサミジンの生産菌における生理作用を解明したいと考えた。キチンを単一炭素源とする培地でアロサミジン生産菌を培養する際に、アロサミジンを培地に添加すると、培養液中のキチナーゼ活性が上昇し、さらにキチンの分解が進むことで、菌の成育が促進されることを見出した<sup>16)</sup>。アロサミジンによって生産が促進されるキチナーゼは、アロサミジン感受性であったが、アロサミジンがキチナーゼ生産促進作用を示す、数十nMから数 $\mu$ Mの低濃度では阻害を受けなかった。また、アロサミジン生産菌のアロサミジン生産量は培養液中1 $\mu$ M程度であったため、生理的濃度で生産されていると考えられた。

アロサミジンによるキチナーゼ生産の分子機構は<sup>17)</sup>、キチンがキチナーゼの分解により生じるジアセチルキトビオースの存在が必要で、まず、ジアセチルキトビオースにより、キチナーゼ発現が起こり、生成したキチナーゼによってキチンの分解が進む。ジアセチルキトビオースは菌の栄養源として利用されるとともに、菌体内に生産されるアロサミジンを菌体外に排出する因子として作用する<sup>18)</sup>。菌体外に出たアロサミジンはキチナーゼ遺伝子の上流にコードされる二成分制御系を利用して、キチナーゼ発現を活性化する。大量に生産されるキチナーゼによって生じるジアセチルキトビオースによって、菌の成育は促進される。

アロサミジンのキチナーゼ生産促進作用は、アロサミジン非生産菌においても見られ、生産が促進されるキチナーゼおよびその遺伝子上流の二成分制御系遺伝子は、アロサミジン生産菌とのホモロジーがあった<sup>19)</sup>。このことより、アロサミジンは放線菌が一般に有する、キチン分解システムに作用し、キチナーゼ生産促進作用を示すことが考えられた。

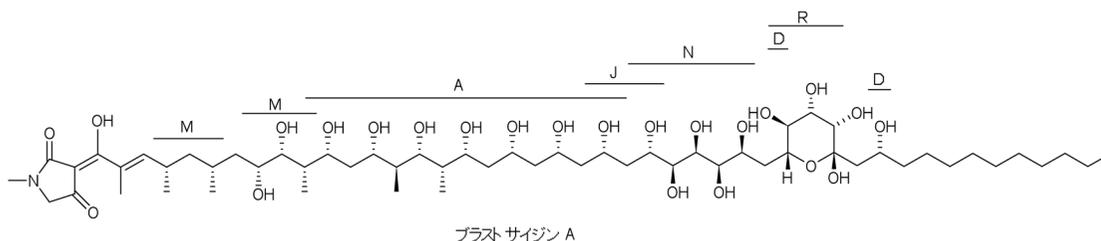
土壌には、昆虫や真菌由来のキチンが存在し、それらキチンを主に分解する微生物は放線菌であり、放線菌のキチナーゼ生産システムは、環境におけるキチン代謝を担い、他の菌や植物の成育に影響を与えていることが予想される。従って、アロサミジンのキチナーゼ生産促進作用は、環境中で機能する可能性が考えられた。モデル実験として、キチン液体培地で土壌希釈液をアロサミジン添加条件で培養すると、無添加の場合に比べて放線菌の数が増加した。このことは、アロサミジンが土壌等の菌叢に影響を与えるシグナル物質として機能する可能性を示唆した。

キチンおよび放線菌は植物の成長促進作用があり、放線菌の作用は、植物病原菌に対する抵抗性を高めることにあり、キチンの作用は、放線菌の成育を促進することにあると推測されている。従って、アロサミジンやアロサミジン生産菌は、植物に対して成育促進作用を示す可能性がある。

## 2. アフラスタチン

食品に生えたカビは、毒性物質（マイコトキシン）を食品中に蓄積する。マイコトキシンはカビが死滅した後も食品中に残り、通常の調理方法では分解されない。食品汚染が問題となるマイコトキシンでは、基準値が設けられ、汚染食品は破棄される。マイコトキシン汚染による被害は、世界の食品供給量の25%におよぶことより、マイコトキシン汚染問題の解決は、食糧問題に大きく貢献することになる<sup>20,21)</sup>。マイコトキシンの中でも特に汚染が問題となるのは、強い発ガン性を有するアフラトキシンである。世界的な食糧の流通により、50億人がアフラトキシンによる健康被害リスクに晒され、肝臓がんの三分の一が、アフラトキシンが原因で発症すると推定されている<sup>22)</sup>。しかし、アフラトキシン汚染問題を解決することができる汚染防除法は未だに開発されていない。

図2. プラストサイジンAの構造式と絶対立体配置決定に用いた手法



M: モデル化合物合成, A: アセトナイド法と MTPA 法の組合せ, J: J-based 法, N: NMR データベース法, D: 分解物の絶対立体配置, R: 6 員環の相対立体配置

マイコトキシン汚染の防除には、麦類赤カビ病菌 *Fusarium graminearum* の生産するデオキシニバレノールの場合のように、抗カビ活性を持つ農薬が広く用いられている。しかし、抗カビ剤の使用には耐性菌の問題がある。アフラトキシンは *Aspergillus* 属によって生産されるが、*Aspergillus* 属に対して圃場で効果的な農薬は見出されておらず、また使用した場合の医薬品での耐性菌が懸念される。そこで、アフラトキシンは二次代謝産物であることより、アフラトキシンの生産を生産菌の成育に影響を与えずに抑制する物質は、耐性菌の早期蔓延の心配が少ない、アフラトキシン汚染防除剤として有効であると考え、アフラトキシン生産阻害物質の探索研究を開始した。アフラトキシン生産を選択的に阻害する薬剤は、アフラトキシン生産調節機構を探るプローブとしても有効であり、生産調節機構の解明は新たな汚染防除法の開発につながると考えられた。

アフラスタチンAは放線菌代謝産物を対象としたスクリーニングによりはじめて見出された、アフラトキシン生産阻害物質である。アフラスタチンの構造研究、作用機構解析、またアフラスタチン研究から展開したその他のアフラトキシン生産阻害物質に関する筆者らの研究を以下に記す<sup>23)</sup>。

### 2-1. アフラスタチンAの構造

テトラミン酸の側鎖に、メチル基と水酸基が多

く置換した長鎖アルカンが存在する特異な構造を有するアフラスタチンAには不斉炭素が29個ある。2000年に、直鎖構造の相対立体配置をJ-based法で決定する手法を主に用いて、全絶対立体配置を報告した<sup>24)</sup>。その後、類縁化合物のプラストサイジンAの構造を解析する際に、一部構造の訂正が必要なが判明し、C-8, 9, 28, 29, 30, 31の絶対立体配置を修正した構造を、プラストサイジンAの絶対立体配置とともに発表した<sup>25)</sup>。

図2にプラストサイジンAの構造解析に用いた手法を示したが、立体構造が既知のモデル化合物を合成して天然物と比較、アセトナイド法による相対立体配置決定、MTPA法、J-based法、NMRデータベース法と、立体構造を決定するための手法のほぼ全てを用いた。アフラスタチンAの合成研究も多く行われ、Evansによる全合成の報告も学会でなされたが、報文は出されていない。

### 2-2. アフラスタチンの作用機構

アフラトキシンの生産は成育後期に始まる。一次代謝での調節を受けて、生合成遺伝子クラスターにコードされる調節タンパク質が発現し、調節タンパク質が生合成酵素の発現を誘導してアフラトキシンが生合成される。調節タンパク質が発現した後の生合成については、ほぼ全ての経路や酵素が明らかにされている。しかし、調節タンパク質の発現に至る一次代謝での調節機構に関して

は、未だに不明である。アフラスタチンAおよびブラストサイジンAは、調節タンパク質の発現を抑制したことから、一次代謝に作用点があることが示唆された<sup>26)</sup>。タンパク質合成を阻害するガリボゾームには作用せず<sup>27)</sup>、また、プロテインチロシンフォスファターゼを阻害することが明らかとなり、タンパク質合成に関与するプロテインフォスファターゼの阻害が作用点であると推定された。既知のタンパク質合成阻害剤やプロテインチロシンフォスファターゼの中には、高い選択性でアフラトキシン生産を阻害するものがあったが、それらの調節タンパク質の発現抑制作用に違いが見られることより、今後アフラスタチンAが作用するプロテインフォスファターゼを同定し、アフラトキシン生産との関係を明らかにする必要がある。

### 2-3. アフラトキシン生産阻害物質に関する研究の展開

アフラスタチンの作用機構解析を行う過程で、偶然に、ヒトのジペプチジルペプチダーゼIIの阻害剤である、放線菌代謝物ジオクタチンAが選択的にアフラトキシン生産を阻害することを見出し

た<sup>28)</sup>。アフラトキシン生産阻害物質生産菌をバイオコントロール剤として利用することを考え、*Stenotrophomonas*属細菌の生産するcyclo(L-Ala-L-Pro)およびcyclo(L-Val-L-Pro)を阻害物質として同定した<sup>29)</sup>。精油の農業への応用は比較的容易であることより、精油成分のプレコセンII<sup>30)</sup>、シリリング酸メチル<sup>31)</sup>が弱いアフラトキシン生産阻害活性を持つことを見出した。化合物ライブラリーを対象にした検索で、呼吸阻害剤が選択的なアフラトキシン生産阻害剤であることを見出し、呼吸阻害活性を有するボスカリド等の農薬も同様の作用を有することを示した<sup>32)</sup>。また、呼吸阻害活性を有する没食子酸オクチル等の食品添加物が見出した<sup>33)</sup>。以上のアフラトキシン生産阻害物質を図3に示した。

農薬、食品添加物については、アフラトキシン汚染が自然状態で起こるインドネシアで実地試験を行い、落花生の収穫前に農薬を散布し、収穫後の貯蔵段階でのアフラトキシン汚染を防除できることを示した。食品添加物は落花生の収穫後に散布することで、貯蔵段階でのアフラトキシン汚染を抑制した。

図3. アフラトキシン生産阻害物質の構造式

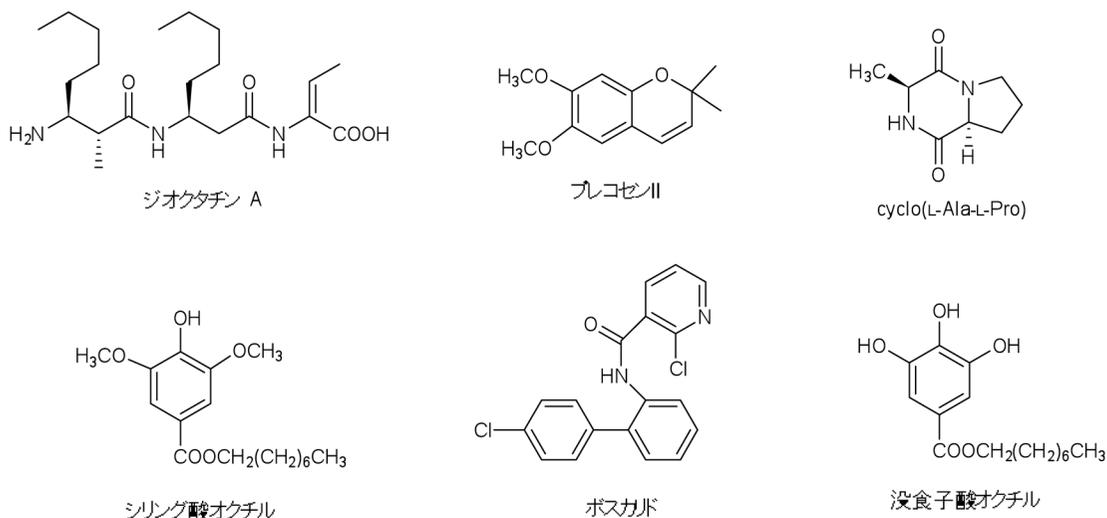


表2. アフラトキシン生産阻害物質と作用点

化合物	構造式	作用点
アフラスタチン A	図 1	プロテインフォスファターゼ
ブラストサイジン A	図 2	プロテインフォスファターゼ
ジオクタチン A	図 3	ミトコンドリア ClpP プロテアーゼ
cyclo(L-Ala-L-Pro)	図 3	<i>Aspergillus</i> 属 GST
プレコセン II	図 3	電位依存性アニオンチャンネル
シリング酸アルキル	図 3	ミトコンドリアコンプレックス II
呼吸阻害剤	図 3	コンプレックス I、II、III
没食子酸オクチル	図 3	コンプレックス II

得られた阻害物質の標的タンパク質を同定し、作用機構解析を行った (表2)。ジオクタチンは、ミトコンドリアのClpプロテアーゼのClpPサブユニットに結合し、ClpPのプロテアーゼ活性を促進することを見出した。また、cyclo(L-Ala-L-Pro)は、*Aspergillus*属に特有のグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) に結合し、そのGST活性を阻害することを見出した<sup>34)</sup>。アルキル炭素鎖長が6,7あるいは8のシリング酸アルキルが強くアフラトキシン生産を阻害し、ミトコンドリア呼吸鎖のコンプレックスIIを阻害することが明らかになった。プレコセンIIはミトコンドリアの外膜にある電位依存性アニオンチャンネルに結合し、ミトコンドリア内にスーパーオキシドを蓄積することによりアフラトキシンやトリコテセン生産を阻害することを見出した<sup>35)</sup>。これら明らかになった阻害物質の作用点は、ミトコンドリアの機能、活性酸素と関係するものであり、正常なミトコンドリアの機能下での育成、およびスーパーオキシド量の減少がアフラトキシン生合成を開始するためには重要であることが推定された。

今後は、これまでに得られたアフラトキシン生産についての基礎知見をもとに、アフラトキシン生産調節機構の全体像を明らかにし、新たな防除法の開発につなげることが重要である。

## 謝辞

本研究は、日本ワックスマン財団学術研究助成奨励金、サッポロ生物科学振興財団研究助成金、飯島記念食品科学振興財団学術研究助成金、公益信託医用薬物研究奨励富岳基金、科学研究費補助金、新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業、農林水産省委託プロジェクト、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業に支援いただいた。

## 利益相反自己申告

申告すべきものなし

[この総説は、2001年度住木・梅澤記念賞受賞者作田庄平博士が受賞後の研究をまとめたものです。]

## 参考文献

- 1) Sakuda S, Isogai A, Matsumoto S, Suzuki A, Koseki K: Structure of allosamidin, a novel insect chitinase inhibitor, produced by *Streptomyces* sp. *Tetrahedron Lett.* 1986; 27: 2475–8.
- 2) Sakuda S, Ono M, Furihata K, Nakayama J, Suzuki A, Isogai A: Aflastatin A, a novel inhibitor of aflatoxin production of *Aspergillus*

- parasiticus*, from *Streptomyces*. J Am Chem Soc. 1996; 118: 7855–6.
- 3) Sakuda S, Isogai A, Matsumoto S, Suzuki A: Search for microbial insect growth regulators II. Allosamidin. A novel insect chitinase inhibitor. J Antibiot. 1987; 40: 296–300.
  - 4) Sakuda S, Nishimoto Y, Ohi M, *et al.*: Effects of demethylallosamidin, a potent yeast chitinase inhibitor, on the cell division of yeast. Agric Biol Chem. 1990; 54: 1333–5.
  - 5) Shahabuddin M, Toyoshima T, Aikawa M, Kaslow DC: Transmission-blocking activity of a chitinase inhibitor and activation of malarial parasite chitinase by mosquito protease. Proc Natl Acad Sci USA 1993; 90: 4266–70.
  - 6) Yamanaka S, Tsuyoshi N, Kikuchi R, Takayama S, Sakuda S, Yamada Y: Effect of demethylallosamidin, a chitinase inhibitor, on morphology of fungus *Geotrichum candidum*. J Gen Appl Microbiol. 1994; 40: 171–4.
  - 7) Nakanishi E, Okamoto S, Matsuura H, Nagasawa H, Sakuda S: Allosamidin, a chitinase inhibitor produced by *Streptomyces*, acts as an inducer of chitinase production in its producing strain. Proc Japan Academy Ser B. 2001; 77: 79–82.
  - 8) Zhu Z, Zheng T, Homer RJ, *et al.*: Acidic mammalian chitinase in asthmatic Th2 inflammation and IL-13 pathway activation. Science 2004; 304: 1678–82.
  - 9) Takenaka Y, Nakano S, Tamoi M, Sakuda S, Fukamizo T: Chitinase gene expression in response to environmental stresses in *Arabidopsis thaliana*: Chitinase inhibitor allosamidin enhances the stress. Biosci Biotechnol Biochem. 2009; 73: 1066–71.
  - 10) Kintsu H, Okumura T, Negishi R, *et al.*: Crystal defects induced by chitin and chitinolytic enzymes in the prismatic layer of *Pinctada fucata*. Biochem Biophys Res Commun. 2017; 489: 89–95.
  - 11) Sakuda S, Inoue H, Nagasawa H: Novel biological activities of allosamidin. Molecules 2013; 18: 6952–68.
  - 12) van Scheltinga ACT, Armand S, Kalk KH, Isogai A, Henrissat B, Dijkstra BW: Stereochemistry of chitin hydrolysis by a plant chitinase/lysozyme and X-ray structure of a complex with allosamidin: Evidence for substrate assisted catalysis. Biochemistry 1995; 34: 15619–23.
  - 13) Matsumoto T, Inoue H, Sato Y, *et al.*: Demethylallosamidin, a chitinase inhibitor, suppresses airway inflammation and hyperresponsiveness. Biochem Biophys Res Commun. 2009; 390: 103–8.
  - 14) Sato Y, Suzuki S, Muraoka S, *et al.*: Preparation of allosamidin and demethylallosamidin photoaffinity probes and analysis of allosamidin-binding proteins in asthmatic mice. Bioorg Med Chem. 2011; 19: 3054–9.
  - 15) Lee CG, Elias JA: Role of breast regression protein-39/YKL-40 in asthma and allergic responses. Allergy Asthma Immunol Res. 2010; 2: 20–7.
  - 16) Suzuki S, Nakanishi E, Ohira T, Kawachi R, Nagasawa H, Sakuda S: Chitinase inhibitor allosamidin is a signal molecule for chitinase production in its producing *Streptomyces*. I. Analysis of the chitinase whose production is promoted by allosamidin and growth accelerating activity of allosamidin. J Antibiot. 2006; 59: 402–9.
  - 17) Suzuki S, Nakanishi E, Ohira T, *et al.*: Chitinase inhibitor allosamidin is a signal molecule for chitinase production in its producing *Streptomyces*. II. Mechanism for regulation of chitinase production by allosamidin through a two-component regulatory system. J Antibiot. 2006; 59: 410–7.
  - 18) Suzuki S, Nagasawa H, Sakuda S: Identification of the allosamidin-releasing factor in allosamidin-producing *Streptomyces*. J Antibiot. 2014; 67: 195–7.
  - 19) Suzuki S, Nakanishi E, Furihata K, *et al.*: Chitinase inhibitor allosamidin promotes chitinase production of *Streptomyces* generally. Int J Biol Macromol. 2008; 43: 13–9.
  - 20) Strosnider H, Azziz-Baumgartner E, Banziger M, *et al.*: Workgroup report: Public health strategies for reducing aflatoxin exposure in developing countries. Environ. Health

- Perspectives 2006; 114: 1898–1903.
- 21) Wu F: Global impacts of aflatoxin in maize: trade and human health. *World Mycotoxin J.* 2015; 8: 137–42.
  - 22) Liu Y, Chang CCH, Marsh GM, Wu F: Population attributable risk of aflatoxin-related liver cancer: Systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* 2012; 48: 2125–36.
  - 23) Sakuda S, Yoshinari T, Furukawa T, *et al.*: Search for aflatoxin and trichothecene production inhibitors and analysis of their modes of action. *Biosci Biotech Biochem.* 2016; 80: 43–54.
  - 24) Ikeda H, Matsumori N, Ono M, *et al.*: Absolute configuration of aflastatin A, a specific inhibitor of aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*, *J Org Chem.* 2000; 65: 438–44.
  - 25) Sakuda S, Matsumori N, Furihata K, Nagasawa H: Assignment of the absolute configuration of blasticidin A and revision of that of aflastatin A. *Tetrahedron Lett.* 2007; 48: 2527–31.
  - 26) Kondo T, Sakurada M, Okamoto S, *et al.*: Effects of aflastatin A, an inhibitor of aflatoxin production, on aflatoxin biosynthetic pathway and glucose metabolism in *Aspergillus parasiticus*. *J Antibiot.* 2001; 54: 650–7.
  - 27) Yoshinari T, Noda Y, Yoda K, Sezaki H, Nagasawa H, Sakuda S: Inhibitory activity of blasticidin A, a strong aflatoxin production inhibitor, on protein synthesis of yeast: selective inhibition of aflatoxin production by protein synthesis inhibitors. *J Antibiot.* 2010; 63: 309–14.
  - 28) Yoshinari T, Akiyama T, Nakamura K, *et al.*: Diocatin A is a strong inhibitor of aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Microbiology* 2007; 153: 2774–80.
  - 29) Jermnak U, Chinaphuti A, Poapolathep A, Kawai R, Nagasawa N, Sakuda S: Prevention of aflatoxin contamination by a soil bacterium of *Stenotrophomonas* sp. that produces aflatoxin production inhibitors. *Microbiology* 2013; 159: 902–12.
  - 30) Yaguchi A, Yoshinari T, Tsuyuki R, *et al.*: Isolation and identification of precocenes and piperitone from essential oils as specific inhibitors of trichothecene production by *Fusarium graminearum*. *J Agric Food Chem.* 2009; 57: 846–51.
  - 31) Jermnak U, Yoshinari T, Sugiyama Y, Tsuyuki R, Nagasawa H, Sakuda S: Isolation of methyl syringate as a specific aflatoxin production inhibitor from the essential oil of *Betula alba* and aflatoxin production inhibitory activities of its related compounds. *Int J Food Microbiol.* 2012; 153: 339–44.
  - 32) Sakuda S, Prabowo DF, Takagi K, *et al.*: Inhibitory effects of respiration inhibitors on aflatoxin production. *Toxins* 2014; 6: 1193–200.
  - 33) Furukawa T, Iimura K, Kimura T, Yamamoto T, Sakuda S: Inhibitory activities of alkyl syringates and related compounds on aflatoxin production. *Toxins* 2016; 8: 177.
  - 34) Iimura K, Furukawa F, Yamamoto T, Negishi L, Suzuki M, Sakuda S: The mode of action of cyclo (L-Ala-L-Pro) in inhibiting aflatoxin production of *Aspergillus flavus*. *Toxins* 2017; 9: 219.
  - 35) Furukawa T, Sakamoto N, Suzuk M, Kimura M, Nagasawa H, Sakuda S: Precocene II, a trichothecene production inhibitor, binds to voltage-dependent anion channel and increases the superoxide level in mitochondria of *Fusarium graminearum*. *PLoS ONE* 2015; 10: e0135031, 2015.
-

## Progress in bioorganic chemistry on allosamidin and aflastatin, microbial metabolites that control metabolism

Shohei Sakuda

Department of Biosciences, Teikyo University

Allosamidin and aflastatin A are metabolites of *Streptomyces*. Allosamidin was isolated as the first chitinase inhibitor and used as a biological probe to investigate chitinase roles in not only chitin-containing organisms but also chitin-non-containing organisms. Allosamidin showed anti-asthmatic activity toward mammals. Furthermore, it showed promoting activity for chitinase production of *Streptomyces*, which suggested that allosamidin was a signal molecule controlling chitin metabolism and bacterial flora in soils. Aflastatin A was isolated by the first screening search for aflatoxin production inhibitors produced by microbes. Absolute structures of aflastatin A and its colleague, blasticidin A, were determined and their modes of action for inhibiting aflatoxin production were shown to inhibit protein synthesis by inhibiting a protein phosphatase. Based on studies on aflastatin A, many aflatoxin production inhibitors were found from other sources such as microbial metabolites and plant constituents.