

〈総説〉

生理活性物質：論理と展開

生方 信

北海道大学大学院農学研究院

(2019年2月28日受付)

新しい物質，新しい方法，新しい概念。私が長年にわたって探し求めてきたものである。時に，研究範囲が広すぎるといふ批判や忠告を受けてきた私にとって，微生物や他の生物が生産する生理活性物質という軸を持つことで，ともすれば散逸構造的な形態をとりがちな研究領域をなんとか纏める事ができるようになった。本総説では，主に住木・梅澤記念賞受賞後の研究に焦点をあて，生理活性物質に関する私自身の考え方を述べる事とする。

1. 序文

日本の農学，殊に農芸化学の分野では生理活性物質という用語を狭義の生物活性物質を包摂する広い概念として使用してきた。“生命現象に関わる機能を正または負に調節する物質”と定義すると狭義の内因性生理活性物質も含まれ，生理活性物質を生産する他の微生物やヒトを含む真核生物との相互作用の解明，それ以外の生命現象の解明や，難治疾患の新しい治療に繋がる低分子化合物の創出までを含めた包括的な意味がでてくる。

梅澤浜夫博士は，「抗生物質を求めて（文藝春秋）」の中で，「Antibiotics（オックスフォード大学出版）」という大きな本の著者として名を連ねているフローリー夫人は，抗生物質の研究が制ガン物質，酵素阻害物質の研究に拡大していることを理解し難く，あるいは理解しようとしないうようにみえた」と述べている。

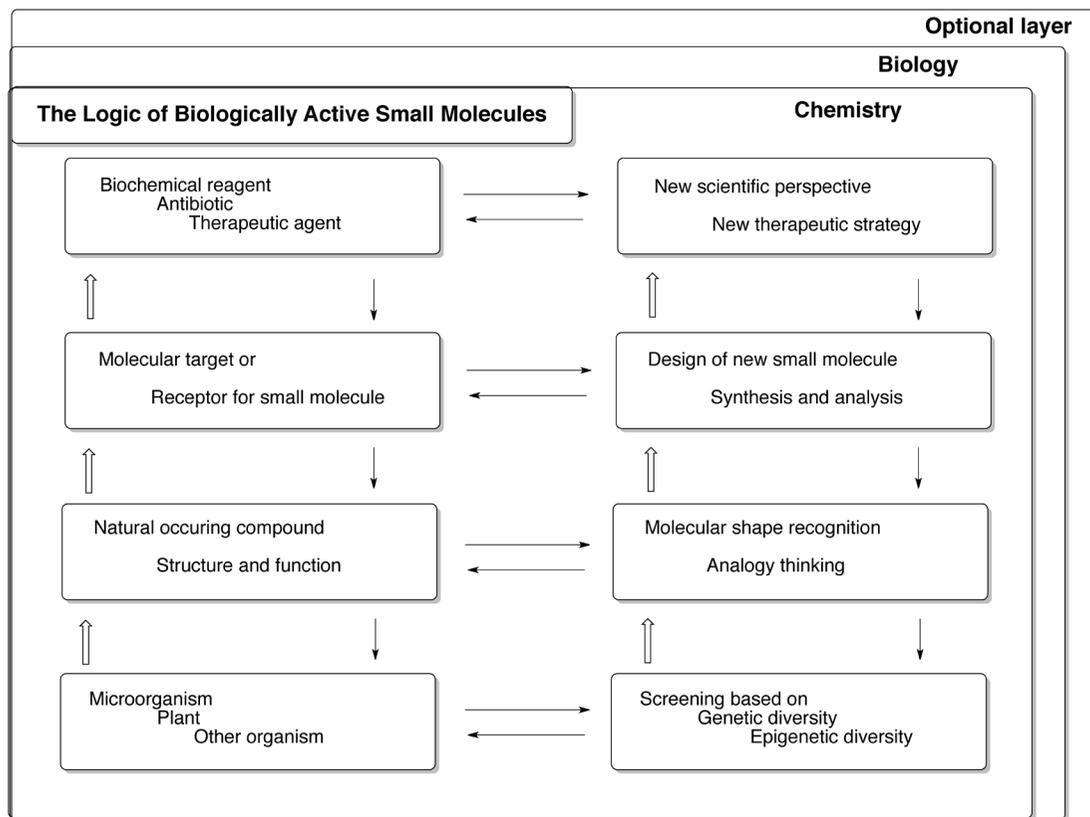
ワックスマン博士による抗生物質の定義からす

れば，夫人の態度も判らなくもないが，言葉に囚われるあまり，自由な精神を失ってしまう事は避けなければならない。この分野のフラッグジャーナルとなったThe Journal of AntibioticsがAn International Journal devoted to Research on Bioactive Microbial Productsとして，比較的幅広い領域の論文を掲載している事は私のような研究者にとっては有難い。

私は放線菌や他の微生物などの天然資源から生命の最小単位である細胞に作用する生理活性物質の構造と機能の解明を目標に研究を行ってきた^{1,2)}。

本総説では，富山県立大学：活性DMSO種を用いた新反応の発見と展開，北海道大学：研究テーマの設定に至るまで，トウトマイセチン：世界唯一の脱リン酸化酵素1型（PP1）阻害剤の発見と化学生物学的展開，難培養放線菌の新規クラス生育因子の発見，その他の生理活性物質，に焦点を当て自説を展開する。

図1には，私自身が生理活性物質に関する研究を行う時に実践している考え方の概念を示したも

図1. 生理活性物質のロジック²⁾

のである。私自身が抗生物質の全合成研究からスタートした事から、最初のレイヤーを化学とした、生物学は膨大であり第一レイヤーの様な線形ロジックでは表しにくく、生きている生物の様に様相を変える。第三レイヤーは物理学、哲学、直感など状況に応じて変化する。

2-1. 富山県立大学：活性DMSO種を用いた新反応の発見と展開

1995年、富山県立大学生物工学研究センターを母体とした新しい大学院大学を創るという使命をおび、富山県に教授として赴任した。仮研究室での設計からスタートし、自身の研究室をゼロから構築していく事は苦労も多いが、スタッフや学生

と共にワクワクしながら新しい価値を創造していく何物にも代えがたい経験をする事ができた。

この年、1995年度の住木・梅澤記念賞を受賞した。歴代の受賞者は錚々たる研究者で占められている。住木先生、梅澤先生の名に恥じない研究をしなければと、身の引き締まる思いがしたものである。

私は抗生物質の合成研究から科学者としてのキャリアをスタートしたので、アボガドロ数の分子を一斉に操作して新たな分子の構築をしていく事に慣れていた。従って、培養液中の中の生理活性物質の取り扱いや、その化学構造の決定、分子形状の決定、作用機作の決定の際にも常に分子論的な考察を行ってきた。それと共に、化合物を合成する際にも、どこかで新しい反応を組み込んでい

きたいという潜在的な思いがあった。

研究室のテーマを決定するにあたって、あたためていたテーマの一つに、エピデルスタチン (epiderstatin) の合成研究の際に偶然見いだした新しい反応があった。ジメチルスルホキンドが過剰な Swern 酸化の条件で、一級アミドのニトリルへの変換が進行するという発見である。それまで知られていた反応では加熱条件が必要であったが、この反応では -78°C で進行する。赤外吸収スペクトルを見た時の、胸の高まりを今でも鮮明に思い出す事ができる。新しい研究室を立ち上げたら、直ちに成果を出さなければたち行かなくなる。我々は、それまで合成すること自体が困難であったトリフルオロイミデート類の安定性と有用性を初めて示す事に成功した^{3,4,5)}。

開発した新反応を用いて、理化学研究所で新規ケモタイプとして見いだしたりポシドマイシン (liposidomycin) の立体化学の確定と合成研究を行った。さらにトウトマイシン (tautomycin; トートマイシンと表記される事もあるが、オリジナルの表記は理化学研究所抗生物質研究室の磯野清主任研究員 (当時) により命名されたトウトマイシンである)、トウトマイセチン (tautomycetin; トートマイセチンと表記される事もあるが、オリジナルの表記はトウトマイセチンである) の生合成研究と作用機作の解析、赴任直前に発見したスパロキソマイシン (sparoxomycin) 類の合成研究等に加え、どうしても新たな生理活性物質の発見をしたかった。

「スクリーニングなんて無謀です」と反対されながらも、新規神経突起伸長阻害物質インドカルバゾスタチン (indocarbazostatin) とインドカルバゾスタチン B の発見^{6,7,8)}、メイラード反応阻害物質の新規スクリーニング系の開発⁹⁾ など、後々まで影響を与える重要な発見の基礎がこの時にできたと感じている。

時間はかかるものの、遺伝学的観点からもエピ

ジェネティックスの観点からも多様性がある生物、殊に微生物を対象としたスクリーニングは、それだけでも夢があり独創性のある研究に繋がる可能性が高いと云える。

近年、新規ケモタイプを持つ化合物の発見は困難になっているが、新しい機能の発見や新しい創薬ターゲットの発見、新しい生物間相互作用の発見などに目を転ずれば、微生物を初めとした生物を対象として研究を行う事が、これからも重要であり続けるものと考えられる。

独創的な研究を行うには、研究の場 (フィールド) が究めて大切である。相応しくなければ自ら場を構築しなければならない。幸いな事に富山県立大学で創設した研究室は教育・研究の面で良い研究室であったと云える。当時の研究室のスタッフやポスドクは、皆、教授となり自らの研究室を切り盛りしながら活躍している。卒業した学生達もアカデミアや産業界でそれぞれ活躍している。

2-2. 北海道大学：研究テーマの設定に至るまで

2003年に富山から札幌に研究拠点を移し、母校に戻った。北大へ移るチャンスとしてはこれが3度目である。最初は、理研の研究員に採用された直後に「出身研究室の助手に」というものであった。余談だが、この少し後、北里研究所のセミナーに招かれ、大村智博士らの前で講演をした。北大の博士課程で達成したナナオマイシン (nanaomaycin) の全合成が大村先生の目にとまったのかもしれない。講演後、北里柴三郎記念室に案内していただいた。ほどなく「北里研究所の主任研究員にどうか、教授にもなれます」という声がかかったと、聞かされた。

母校での思い出は強烈である。修士課程で(±)-パリタンチン (palitantin) の全合成を完成し、「博士課程に進むのだから、フレノリシン

(frenolicin)の全合成のための合成戦略(strategy)を立案するように」と、当時、助教授だった市原耿民博士に云われ、計画を持っていくと採用された。修士課程までの時代は合成戦術(tactics)を立案し、実際に一人で達成したものだったが、大筋の合成戦略は市原博士が立案したものだった。

フレノリシンの合成では、合成戦略の立案、原料となるユグロン(juglone)の大量合成法の確立、文献検索でナナオマイシン(nanaomycin)をみつけ、これを最初のターゲットに決め、ほぼ一人で垂直な崖を登るようにして(±)-ナナオマイシンA及び(±)-フレノリシンの全合成を達成し、その間ユグロンの新規アルキル化法の開発もし、プルンバギン(plumbagin)を合成、投稿用の論文も書いた。

しかし、博士課程での仕事は、全て第二著者だった。「5年間も大学院にいながら、第一著者が1報もない」研究者の誕生である。市原博士からは「これはアメリカ式です。君が指導者になった時、君自身のフィロソフィーでやりなさい」と云われた。アメリカ式…「後生畏るべし」と心の中で呟いた。物事が動いていく力学を、おぼろげながら理解しはじめた瞬間であり、忘れられない恩師の一人である。多くの優れた研究者を輩出したトップラボラトリーの典型的な教室運営の一つであった。

Paul A. Grieco教授とSamuel Danishefsky教授の研究室でのバーノレピン(vernolepin)合成の競争の結果が読み取れる、二報の論文を図書館で読み、Grieco教授は天才だと思った。手紙をGrieco教授に書き、来札したGrieco教授の前でプレゼンし、ポストドクトラル・リサーチアソシエートとして採用されるに至った。留学の収穫の一つは、研究室主宰者としての場の構築を考えさせられた事である。Grieco教授はCorey教授の、Danishefsky教授はStork教授の研究室運営の手法を採用した様に思える。

学部学生の頃、先輩の一人は「市原先生の云っ

た事を全部ノートにつけている」と云っていた。私は、それでは先生を超えられないと思い、先生が何を勉強しているかを秘かに研究した。答えはアメリカ化学会誌と有機合成化学協会誌であった。実験が命であるが、自ら学び、考えなければ結果はついて来ない。有機合成化学協会に入会し、図書館で毎週アメリカ化学会誌を読んでいった。それとアイデノートをつける事。この事が上で述べた留学に繋がったのである。定職なしの留学は研究室第一号であった。後に、坂村・市原研出身者の教授第一号にもなった。

2度目は、理学部の講師にというものだった。農学・理学・薬学・工学と四つの学問領域に道が開かれていた事になる。生理活性物質に関する研究はそれほど幅広い分野と云える。もう一つは医学。生理活性物質の研究は医学に直接・間接的に貢献する可能性がある。富山県立大学で生物学を、富山医科薬科大学で非常勤講師として医学部と薬学部の学生に細胞生物学を講義した事もあったが、北大では農学院から医学部を受け直して医学に進んだ学生もいる。「でぶ医者になる」と宣言していたと聞かされていた幼い頃の自分を思いだし、少し不思議な感覚がした。ともあれ母校から3度声がかかったら行かざるを得ない、恩返しをするつもりで札幌に戻った。

研究林を含めて世界一広く美しい北大のキャンパスは若者を引きつけるのに十分な憧れの対象であるが、学生時代には実感できなかった。北大に赴任してみて、その凄さをあらためて認識した。赴任当時の農学部はゆったりとした時間が流れているように見えた。気になったのは、個々に優れた研究者がいても、それが点で終わり、線そして面へと発展する、いわゆる切磋琢磨する環境が欠けているように見えた事だった。

他学部の教授から「農学物は歴史に胡座をかいている」と云われ、ずいぶん悔しい思いをした。私達の世代は、多感な高校生の時に東大入試の中

止、大学に入学しても入学式も卒業式もない時代に育った。アカデミアに対する独特の感覚を持ち、物事に対する対処の仕方が他世代と少し違う。周りの人々や歴代の学部長に「もっと頑張ろう」と鼓舞する事もあった。

自然が独創性の賜であるとしたら、この環境の中で良い仕事をしなかったら研究者として生きている意味がない。担当した木質資源化学分野は、学部は森林科学科に属し、研究科は応用生命科学専攻に属していた。実験的なハイブリッドの研究室であった。

研究室のテーマとして、私がこれまで続けてきた生理活性物質の研究に加え、有機化学を基盤とした人工リグニンの創製、森林や木材と確実に関わっているに違いない未知の微生物や樹木の生産する新たな生理活性物質の探索を提案した。また、先代の教授から開発したHBSパルプに関する研究も続けてほしいと要請され、木材に変えて稲藁・麦藁・朽殻などの農業残渣からのバイオリファイナリー研究も行った。2008年の改組により農学院・応用生物学専攻・生命分子化学講座・木質生命化学研究室となった。

北大でのスクリーニングでは、神経突起伸長阻害物質インドカルバゾスタチンC及びD¹⁰、オートファジー誘導物質(+)-エボジムノラクタム((+)-epogymnolactam)¹¹を新規物質として見いだした。また、後述する難培養放線菌の生育因子の探

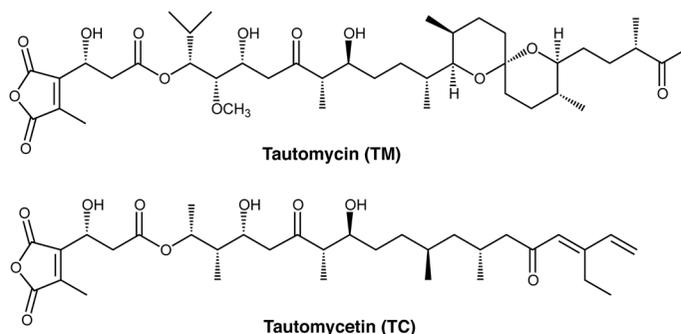
索では、ジンクメチルフィリン (zincmethylphyrin) I及びIIIを新規物質として見いだした。

2-3. トウトマイセチン：世界唯一の脱リン酸化酵素1型 (PP1) 阻害剤の発見と化学生物学的展開

これまで続けてきた生理活性物質の中でも、ライフワークに関わる分子が、放線菌 *Streptomyces spiroverticillatus* の二次代謝産物トウトマイシン (tautomycin)¹² と *Streptomyces griseochromogenes* の生産するトウトマイセチン (tautomycetin)¹³ である (図2)。特異な構造とオカダ酸 (okadaic acid) の構造との類似性を明らかにしたことがきっかけとなり、北大遺伝子病制御研究所の菊池九二三教授の研究室との共同研究によりトウトマイセチンが世界唯一のタンパク質脱リン酸化酵素1型 (PP1) の特異的阻害剤となることが判明した¹⁴。

トウトマイセチンを動物細胞に作用させると、細胞内のタンパク質脱リン酸化酵素2型 (PP2A) の機能を保持したまま、PP1の作用を完全に阻害することができた。かくして、トウトマイセチンをPP2Aの特異的阻害剤であるオカダ酸とセットで使用することで、真核生物に於ける二つの主要なタンパク質脱リン酸化酵素であるPP1とPP2Aの細胞内での役割を明確に区別して解析することが可能となった^{15,16}。

図2. トウトマイシンとトウトマイセチンの構造



さらに、トウトマイセチン自身が免疫抑制剤や抗がん剤のリード化合物として重要であるだけでなく、PP1が“がんや神経疾患の治療法”の標的となる可能性を示すことができたのは人類にとって朗報である。

トウトマイセチンは唯一のPP1特異的阻害剤として世界中で使われている。構造は機能を語ると云われるが、農学的視点に加え、有機化学と細胞生物学を習得することで、構造式から機能を推定し、作業仮説を構築することが可能となる¹³⁾。

トウトマイセチンを用いて、リボソームタンパク質S6 (RPS6) のser247のリン酸化・脱リン酸化がATM (ataxia telangiectasia mutated) キナーゼ及びPP1により制御されることを発見した仕事に関連して、我々はトウトマイセチン:PP1 (TC:PP1) 複合体の推定構造を報告した¹⁷⁾。TC:PP1複合体の結晶化も試みたが成功していなかった。最近、その結晶構造がChoyらにより報告された¹⁸⁾。

PP1との複合体を形成した結晶中でのトウトマイセチンの立体配座は、我々が提唱した立体配座と類似していたが、彼らの結晶構造では、システイン残基(C127_{pp1})が末端二重結合と1,6-共役付加していた。有機化学反応では $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -不飽和ケトンに対して1,4-付加が優先する。トウトマイセチンでは β 位にエチル基が置換しており、PP1特異的システイン残基C127_{pp1}が末端二重結合の近傍に存在しているために1,6-付加反応が優先すると考えられる。自然のデザインはやはり面白い。

他のセリン/スレオニンホスファターゼであるPP2A, PP5, PP4, PP6に対するIC₅₀は、彼らの実験条件に於いてPP1のIC₅₀の139~2657倍であった。PP2Bに加え、チロシンホスファターゼであるSHP2, SHP1, Lyp, PTP1B, PTPa, HePTP, CD45, VHR, CDC12Aに対するIC₅₀はPP1のIC₅₀の10⁴~10⁵倍以上である¹⁸⁾。

トウトマイセチンはPP1特異的阻害剤として使

用可能であることがあらためて示された。

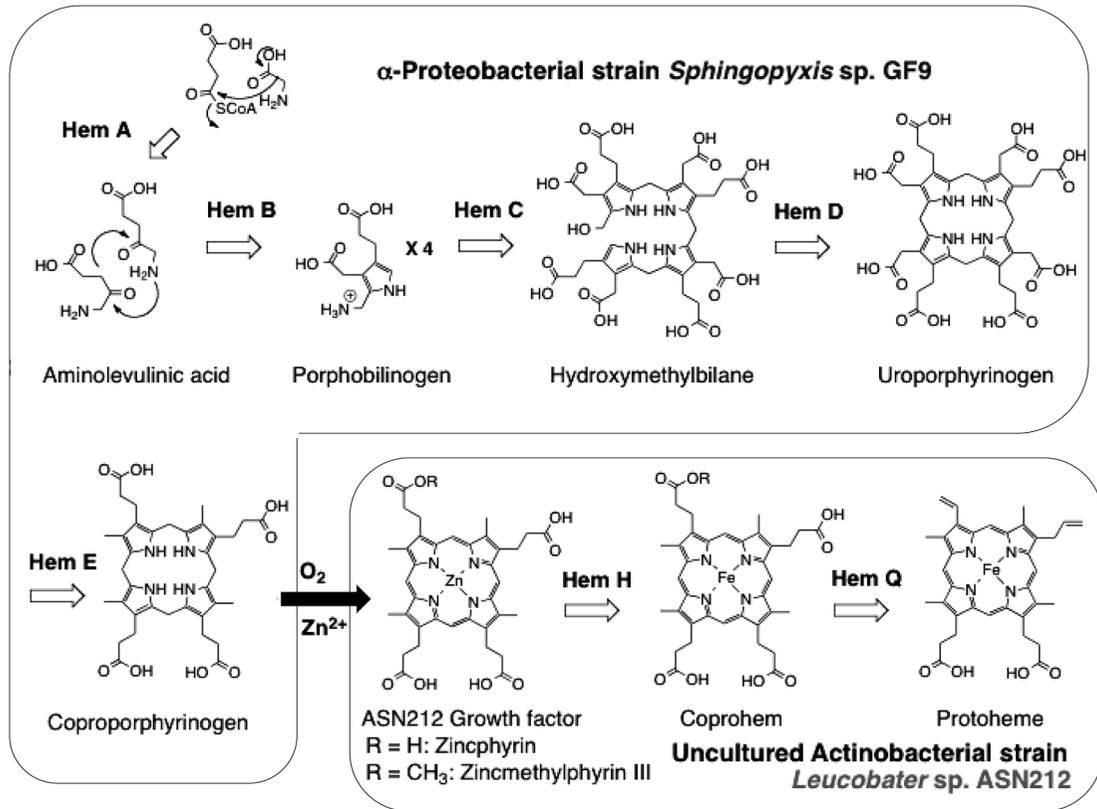
2-4. 難培養放線菌の新規クラス生育因子の発見

これまで、微生物由来の薬剤は、多く見積もっても、わずか1%の培養可能な微生物から発見されていたにすぎない。もし残りの99%以上の難培養微生物を培養できれば、薬剤開発の可能性が格段に広がり、人類の生存・福祉に直接・間接に貢献できる可能性がある。

本研究では、産業技術総合研究所で分離された難培養放線菌*Leucobacter* sp. ASN212に着目した。この難培養放線菌は α -プロテオバクテリア綱に属する*Sphingopyxis* sp. GF9の培養濾液の添加により増殖することが観察されていたが、詳細な増殖機構は長年の間不明であった。

GF9株の最適培養条件を探索後、100Lタンク培養装置による培養を複数回行うことにより、210Lの培養液を得た。計算上、オリジナルの培養液1トン分に相当する。最適化された分離条件を用い、各精製段階でASN212株の生育促進活性を測定することで、新規構造を持つ生育因子ジंकメチルフィリンI (zincmethylphyrin I, 0.8mg), ジंकメチルフィリンIII (zincmethylphyrin III, 2.0mg) を発見した。さらに、ジंकコプロポルフィリンI (zinc coproporphyrin I, 0.8mg), コプロポルフィリンI (coproporphyrin I, 0.3mg), ジंकフィリン (zincphyrin, 3.0mg), コプロポルフィリンIII (coproporphyrin III, 1.2mg) を、新規クラスの生育因子として単離構造決定することに成功した。これらの生育因子はピコモラーからナノモラーという超低濃度でASN212株の生育を誘導する。また、これらの生育因子はより高濃度でGF9株の生育を阻害し、セントリプレップ-50を利用した共培養に於いてASN212株の生育を促進するばかりでなく、GF9株の生育曲線の落ち込みを防

図3. *Sphingopyxis* sp. GF9 から難培養放線菌 *Leucobacter* sp. ASN212 への Hem 生合成リレー



ぎ ASN212 株の増殖と同調して特徴的な 2 段階目の増殖が観測された事から、両株には相利共生の関係が成り立つと考えられた¹⁹⁾。

生育因子の構造から、その標的を呼吸鎖として仮説をたてた。天然の生育因子に見られる亜鉛錯体以外に、合成したコプロポルフィリン鉄錯体にも ASN212 株の増殖活性が見られた。

生育因子生産株である GF9 株を初めとした多くの菌は、好気呼吸に必須なプロトヘムを標準生合成経路により生合成する。しかしながら、ASN212 株を含むアクチノバクテリア門やフィルミクテス門に属するグラム陽性細菌は標準経路から、コプロポルフィリン (coproporphyrin) → コプロヘム (coproheme) を経た新規経路によりプロトヘム (protoheme) を生合成する事から、ASN212 株のコプロポルフィリン類による増殖メカニズム

を提唱した²⁰⁾。

我々は最近、ASN212 株が Hem 生合成の標準経路の前半の生合成遺伝子に欠損を持つことを見いだした。ASN212 株は GF9 株から新規経路の Hem 生合成酵素の基質となる生育因子を受け取ることによってプロトヘムを合成し、初めて好気呼吸ができるようになり生育が可能になると理解できる (図3)。

さらに、*α*-プロテオバクテリア (GF9 株) とアクチノバクテリア (ASN212 株) の相利共生は、このペアに特有なものではなく、微生物の生存戦略としてかなりの普遍性がある証拠を得ている。標準 hem 生合成系が機能している微生物に対しては過剰なコプロポルフィリン類は活性酸素を生成させる増殖阻害物質として作用し、Hem 生合成系に欠損があり新規経路を持つ微生物に対しては、コプロポルフィリン類がプロトヘム合成の基質と

して有用と考えられる。事実、 γ -プロテオバクテリア綱に属する微生物にもコプロポルフィリンを基質とするHemHを有しているものがあり、HemQ (chlorite dismutase) の遺伝子がバクテリアや古細菌に見られる古い遺伝子であることから、アクチノバクテリア門やフィルミクテス門以外にも、かなりの微生物がHemQ関連酵素を有している可能性が出てきた (投稿準備中)。

一連の研究は、プロテオバクテリアの古細菌への細胞内共生により真核細胞の共通の祖先 (LECA) が誕生したとする説を彷彿とさせる興味深い発見である (図3)。

今まで報告されてきた難培養微生物に対する複数の生育因子の構造を眺めてみると、呼吸鎖に対する電子伝達体として機能するキノン類や、プロトヘムの合成に必須な鉄イオンを包摂できるシデロフォア類であることから、生育因子による難培養微生物の呼吸鎖への貢献はかなり一般的なのかもしれない。

2-5. その他の生理活性物質

スパロキソマイシン (sparoxomycin) A1,A2, インドカルバゾスタチン (indocarbazostatin), インドカルバゾスタチンC,D, (+)-エボジムノラクタムの発見¹¹⁾と全合成²¹⁾, 細胞応答の異なる側鎖C-6アナログとオートファジー阻害活性を示す側鎖C8アナログの発見²²⁾, MurAを標的とする6-チューリッポシドB (6-tuliposide B) の初の全合成²³⁾と新規機能の発見^{24,25,26)}, テルペンヒドロペルオキシド (terpene hydroperoxide) によるメチルグリオキサール (MGO) の分解機構の解明²⁷⁾, PPAR γ の隠された活性化誘導剤として再発見したミコフェノール酸 (mycophenolic acid)²⁸⁾の構造活性相関研究^{29,30,31,32)}から派生した、薬剤ターゲットとしての*Trypanosoma congolense* GMPリダクターゼ (GMPR) の発見³³⁾, *Cryptosporidium*

*parvum*を感染させたSCIDマウスの排出オーシスト数を顕著に減少させるIMPDH/GMPR阻害剤としてのジスルフィラム (disulfiram) の再発見³⁴⁾など、多数の生理活性物質が私にインスピレーションを与え、化学と生物の狭間にある「隠された自然界の秘密」を少しずつ明らかにしていく楽しさを与えてくれた。

若い頃からの座右の書である、H.C.Brown著「ボラン—私はいかにして研究を進めたか—(守屋一郎訳)」、宮田親平著「科学者達の自由な楽園」、先に挙げた梅澤浜夫著「抗生物質を求めて」、農学を選ぶのに決定打となった坂口謹一郎著「日本の酒」、「世界の酒」。本からの影響に加え、沢山の優れた研究者、学生との出会いが研究に対するモチベーションの維持に役だった。抗生物質の化学合成から研究の世界に入った私の、もう一つのひそやかな関心は研究を通じて、人類の生存と福祉に貢献することにあった。それは間接的であっても良い。

約40数年間の研究生活を振り返ってみて、生化学試薬として実用化された分子が3種類、動物薬や医薬として臨床試験や前臨床試験に入った分子が2種類。およそ10年ごとに研究環境を変え、いずれも隠れ家のような小さな研究室で、学生や若い研究者仲間と日々の研究を楽しみながら、こつこつと業績を積み上げてきた。2017年度の日本農学賞・読売農学賞の受賞はその集大成と云えるかもしれない。ResearcherIDによると、2019年3月6日時点での総被引用数は4498回、十数名の小さな研究室としては比較的多い方かもしれない。

本総説を終えるにあたって、学生時代や若手研究者の時に励まされたH.C.Brown博士のフィロソフィーと言葉を少し変え、次代を担う研究者に贈りたい。ほとんどの微生物は、その性質が解明されておらず、これを解明することは科学者の最優先課題の一つとみなせる。微生物や生理活性物質に関する研究には、発見される事を待っている

新大陸が存在する事は疑う余地がない。熱意と希望を持って研究している楽観主義者はこの新大陸を発見するに違いない。

“Tall oaks from little acorns grow.”

謝辞

本総説は主に富山県立大学および北海道大学において、多くの学生諸氏、ポスドク、共同研究者、教員の協力と、科学研究費補助金、公益財団法人発酵研究所などの研究助成金により得られた成果を基にしている。記して深謝したい。

利益相反自己申告

申告すべきものなし。

[この総説は、1995年度住木・梅澤記念賞受賞者生方 信博士が受賞後の研究をまとめたものです。]

引用文献

- 1) Ubukata M: Lessons from biologically active small molecules. In: *Agricultural science for human sustainability*. Hashidoko Y, *et al.* (ed.) Kaiseisha Press, 2012. p. 58–61.
- 2) Ubukata M: The logic of biologically active small molecules: amazing ability of microorganisms. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2018; 82: 1063–72.
- 3) Nakajima N, Saito M, Ubukata M: Preparation and reaction of 4-methoxybenzyl (MPA) and 3,4-dimethylbenzyl (DMPM) perfluoroimides. *Tetrahedron Lett.* 1998; 55: 65–68.
- 4) Nakajima N, Sato M, Ubukata M: Activated dimethyl sulfoxide dehydration of amide and its application to one-pot preparation of benzyl-type perfluoroimides. *Tetrahedron* 2002; 58: 3561–77.
- 5) Nakajima N, Saito M, Kudo M, Ubukata M: Allyl, epoxy and glycosyl perfluoroimides. One-pot preparation and reaction. *Tetrahedron* 2002; 58: 3579–88.
- 6) Ubukata M, Tamehiro N, Matsuura N: Indocarbazostatin, a novel inhibitor of NGF-induced neurite outgrowth from rat Pheochromocytoma PC12 cells. *J Antibiot.* 1999; 52: 921–4.
- 7) Matsuura N, Tamehiro N, Andoh T, Kawashima A, Ubukata M: Indocarbazostatin and indocarbazostatin B, novel inhibitors of NGF-induced neuronal differentiation in PC12 cells. I. Screening, taxonomy, fermentation and biological activities. *J Antibiot.* 2002; 55: 355–62.
- 8) Tamehiro N, Matsuura N, Feng Y, Nakajima N, Ubukata M: Indocarbazostatin and indocarbazostatin B, novel inhibitors of NGF-induced neuronal differentiation in PC12 cells. II. Isolation, physicochemical properties and structural elucidation. *J Antibiot.* 2002; 55: 363–70.
- 9) Matsuura N, Aradate T, Sasaki C, *et al.*: Screening system for the Maillard reaction inhibitor from natural product extracts. *J Health Sci.* 2002; 48: 520–6.
- 10) Feng Y, Matsuura N, Ubukata M: Indocarbazostatins C and D, new inhibitors of NGF-induced neuronal differentiation in PC12 cells. *J Antibiot.* 2004; 627–33.
- 11) Mitsuhashi S, Shindo C, Shigetomi K, Miyamoto T, Ubukata M: (+)-Epogymnolactam, a novel autophagy inducer from mycelial culture of *Gymnopus* sp. *Phytochem.* 2015; 114: 155–9.
- 12) Ubukata M: Tautomycin, a dynamic bioactive substance, In *Recent Res. Devel. In Agricultural & Biological Chem.* 1. Research Signpost. 1997; 363–84.
- 13) Ubukata M: Tautomycin, protein phosphatase 1 specific inhibitor, opened the door for understanding the role of PP1 in Minkowski space. In: Atta-ur-Rahman FRS, Choudhary MI (eds.) *Frontiers in drug design & discovery*, Vol. 9. Bentham Science Publishers, 2018. p. 203–30.
- 14) Mitsuhashi S, Matsuura N, Ubukata M, Oikawa H, Shima H, Kikuchi K: Tautomycin is a novel and specific inhibitor of serine/threonine

- protein phosphatase type 1, PP1, *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; 287: 328–31.
- 15) Mitsuhashi S, Shima H, Tanuma N, *et al.*: Usage of tautomycetin, a novel inhibitor of protein phosphatase 1 (PP1), reveals that PP1 is a positive regulator of Raf-1 *in vivo*. *J Biol Chem.* 2003; 278: 82–8.
- 16) Mitsuhashi S, Shima H, Li Y, *et al.*: Tautomycetin suppresses the TNF α /NF- κ B pathway via inhibition of IKK activation. *Int J Oncol.* 2008; 33: 1027–35.
- 17) Li Y, Mitsuhashi S, Ikejo M, *et al.*: Relationship between ATM and ribosomal protein S6 revealed by the chemical inhibition of Ser/Thr protein phosphatase type 1. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2012; 76: 486–94.
- 18) Choy MS, Swingle M, D'Arcy B, *et al.*: PP1: Tautomycetin complex reveals a path toward the development of PP1-specific inhibitors. *J Am Chem Soc.* 2017; 139: 17703–6.
- 19) Bhuiyan MNI, Takai R, Mitsuhashi S, *et al.*: Zincmethylpyrins and coproporphyrins, novel growth factors released by *Sphingopyxis* sp., enable laboratory cultivation of previously uncultured *Leucobacter* sp. through interspecies mutualism. *J Antibiot.* 2016; 69: 97–103.
- 20) Takai R, Shigetomi K, Kamagata Y, Ubukata M: Growth mechanism of uncultured actinobacterial strain *Leucobacter* sp. ASN212 by zinc coproporphyrin. *Heterocycles* 2017; 95: 145–51.
- 21) Okado Y, Shigetomi K, Mitsuhashi S, Ubukata M: First total synthesis of (+)-epogymnolactam, a novel autophagy inducer. *J Antibiot.* 2015; 68: 721–4.
- 22) Ueda K, Okado Y, Shigetomi K, Ubukata M: Novel autophagy modulators: design and synthesis of (+)-epogymnolactam analogues and structure–activity relationship. *Bioorg Med Chem.* 2018; 26: 5159–68.
- 23) Shigetomi K, Kishimoto T, Shoji K, Ubukata M: First total synthesis of 6-tuliposide B. *Tetrahedron: Asymmetry* 2008; 19: 1444–9.
- 24) Shigetomi K, Shoji K, Mitsuhashi S, Ubukata M: The antibacterial properties of 6-tuliposide B. Synthesis of 6-tuliposide B analogues and structure-activity relationship. *Phytochem.* 2010; 71: 312–24.
- 25) Shigetomi K, Omoto S, Kato Y, Ubukata M: Asymmetric total synthesis of 6-tuliposide B and its biological activities against tulip fungi. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2011; 757: 718–22.
- 26) Shigetomi K, Olesen SH, Yang Y, Mitsuhashi S, Schönbrunn E, Ubukata M: MurA as a primary target of tuliposide B and 6-tuliposide B. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2013; 77: 2517–9.
- 27) Nagamatus R, Mitsuhashi S, Shigetomi K, Ubukata M: Cleavage of α -dicarbonyl compounds by terpene hydroperoxide. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2012; 76: 1904–8.
- 28) Ubukata M, Takamori H, Ohashi M, *et al.*: Mycophenolic acid as a latent agonist of PPAR γ . *Bioorg Med Chem Lett.* 1007; 17: 4767–70.
- 29) Batovska DI, Kim DH, Mitsuhashi S, Cho YS, Kwon HJ, Ubukata M: Hydroxamic acid derivatives of mycophenolic acid inhibit histone deacetylase at the cellular level. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2008; 72: 2623–31.
- 30) Mitsuhashi S, Takenaka J, Iwamori K, Nakajima N, Ubukata M: Structure–activity relationships for inhibition of inosine monophosphate dehydrogenase and differentiation of K562 cells among the mycophenolic acid derivatives. *Bioorg Med Chem.* 2010; 18: 8106–11.
- 31) Sunohara K, Mitsuhashi S, Shigetomi K, Ubukata M: Discovery of *N*-(2,3,5-triazoyl) mycophenolic amide and mycophenolic epoxyketone as novel inhibitors of human IMPDH. *Bioorg Med Chem Lett.* 2013; 23: 5140–4.
- 32) Suganuma K, Sarwono AEY, Mitsuhashi S, *et al.*: Mycophenolic acid and its derivatives as potential chemotherapeutic agents targeting inosine monophosphate dehydrogenase in *Trypanosoma congolense*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016; 60: 4391–3.
- 33) Sarwono AEY, Suganuma K, Mitsuhashi S, *et al.*: Identification and characterization of guanosine 5'-monophosphate reductase of *Trypanosoma congolense* as a drug target. *Parasitol Int.* 2017; 66: 537–44.
- 34) Sarwono AEY, Mitsuhashi S, Kabir MHB, *et*

al.: Repurposing existing drugs: identification of irreversible IMPDH inhibitors by high-

throughput screening. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2019; 34: 171–8.

Biologically active small molecules: A logical expansion

Makoto Ubukata

Graduate School of Agriculture, Hokkaido University,
Sapporo, Hokkaido 060–8589, Japan

New molecules, new methods, and new concepts, these were my longstanding goals. For me who has been criticized or advised that the scope of research is too broad, by having the axis of biologically active small molecules produced by microorganisms, I was able to find a focused research area. This paper will focus on my researches after receiving the Sumiki-Umezawa Memorial Award, and I describe my own way of thinking about biologically active small molecules.