天然物合成研究―万有シンポと共に２０年

東北大学　平間正博

はじめに

最初に、万有仙台シンポジウムを２０回も続けてくださった萬有製薬株式会社の英断と（財）万有生命科学振興国際交流財団の方々のご努力とご厚意には心から御礼を申し上げたい。鈴木國夫さんをはじめとする萬有製薬の方々のお世話で、第１回の（万有）仙台シンポジウムが開催されたのが、１９９０年。あれから、もう１９年も経ち、今年で第２０回を迎える。次ページの表をごらん頂きたい。縁があって、私が第１回から５回目までのオーガナイザーを勤めさせていただいた。当初、鈴木國夫さんとも相談し、「できるだけ若手を中心にしてシンポジウムのスピーカーを選ぼう」と努めた。その後、在仙の多くの先生方や学生さん、国内外の講演者の方々のご協力によって第２０回を迎えるに至った。私も、もう還暦を迎えてしまった。しかも２００２年に病気をして以来、組織委員から「名誉」組織委員にしていただいて、満足に参加さえしていない。しかし、第２０回記念ということで、今回の担当組織委員の桑原先生から「２０年の歴史を踏まえて講演をするように」との命令である。私が研究室を担当して以来の２０年の研究は、万有シンポと共に「進歩」してきたかどうか怪しいが、共同研究者の力を借りて一所懸命にやってきた。主にシガトキシン関連研究とクロモプロテイン系９員環エンジイン抗腫瘍性抗生物質研究に重点を置いた。後者についても、漸くマデュロペプシンクロモフォアの全合成・構造改訂やケダルシジンクロモフォアアグリコンの合成に成功するなど、永年の共同研究者の努力が実ってきたが、今回は、「Organic chemistry takes on tropical seafood poisoning（*THE LANCET*, 2001)」を目標にやって来た、シガトキシン合成関連研究に焦点を絞って紹介させていただく。

始めに天然物ありき

様々な生理・生物活性を持った天然有機化合物は、構造も活性発現機構も人知の及ばない興味深いものであることが非常に多い。私の天然物合成は、特定の天然物の構造と生理活性に惚れてしまうところから始まる。そのためには、惚れるに足る興味深い天然物を発見してくれる研究者が必須である。天然物がなければ始まらない。さまざまな生物現象を司る、あるいは生理活性を有する天然分子を探索、発見、構造決定をする研究は、諸科学が進歩するために非常に重要な分野である。今後も、当該分野の研究者が評価され、研究が発展することを祈っている。私は以前、「超天然物」を提案した。広過ぎた定義[1]であったが、趣旨は、

仙台シンポジウム

地区(回数)	仙台(第1回)	仙台(第2回)	仙台(第3回)	仙台(第4回)	仙台(第5回)	仙台(第6回)	仙台(第7回)	仙台(第8回)	仙台(第9回)
テーマ	新しい合成方法論の開拓と天然物合成の新展開	生物応答と分子機能に挑戦する有機合成	生物応答と分子機能に挑戦する有機合成 II	生物応答と分子機能に挑戦する有機合成 III	生物応答と分子機能に挑戦する有機合成 IV	生物応答と分子機能に挑戦する有機合成	生物応答と分子機能に挑戦する有機合成	生物応答と分子機能に挑戦する有機合成	生物応答と分子機能に挑戦する有機合成-キラリティの形成と認識の分子機構-
日時	1990年5月19日(土)	1991年9月14日(土)	1992年7月4日(土)	1993年6月19日(土)	1994年4月28日(木)	1995年4月28日(金)	1996年4月26日(金)	1997年4月25日(金)	1998年4月25日(土)
場所	ホテル仙台プラザ	艮陵会館	仙台国際センター	仙台国際センター	仙台国際センター	仙台国際センター	仙台国際センター	仙台国際センター	仙台国際センター
Organizer	平間正博	平間正博	平間正博	平間正博	平間正博	山本嘉則	小笠原國郎	吉藤正明	宮野壮太郎
座長	平間正博 福本圭一郎 (以上東北大)	吉藤正明 金子主税 (以上東北大)	山本嘉則 野副重男 (以上東北大)	平間正博 金子主税 (以上東北大)	山本嘉則 小笠原國郎 (以上東北大)	山本嘉則 福本圭一郎 (以上東北大)	吉良満夫 加藤紀元 (以上東北大)	平間正博 山本嘉則 (以上東北大)	山本嘉則(平間先生から変更) 井原正隆 (以上東北大)
講師	林民生 (北大) 小笠原國郎(東北大 山口雅彦(九工大) 村井章夫(北大) 高橋孝志(東工大) 山本嘉則(東北大)	中山仁 (北大) 井原正隆(東北大) 上野民夫(京大) 橋和夫 (東大) 西沢麦夫(徳島文理大) 関口章 (東北大)	青山安宏(長岡技科大 鈴木啓介(慶應大) 鈴木正昭(名大) 柴崎正勝(東大) 佐藤雅之(東北大) 山村庄亮(慶應大)	池上四郎(帝京大) 宮仕勉 (東北大) 富岡清 (阪大) 丹羽治樹(名大) 小川智也(理研/東大 安元健(東北大)	新開一朗(メルク社) 吉藤正明(東北大) 冨士薫 (京大) 中村英士(北大) 大泉康 (東北大) 首藤紘一(東大)	平間正博 (東北大) 志津里芳一(海バイオ) 冨本浩嗣 (萬有) 丸岡啓二 (北大) 吉田潤一 (京大) 村井眞二 (阪大)	山口雅彦 (東北大) 宮野壮太郎(東北大) 藤井郁雄(生物工学研) 塩入孝之 (名市大) 福山透 (東大) 桑嶋功 (東工大) 向山光昭 (東理大)	中村栄一 (東大) 今本恒雄(千葉大) 吉良満夫(東北大) R.P. Volante(メルク社) 森美和子 (北大) 香月勗 (九大)	野崎京子(京大) 磯合憲三(東理大) 田村類(京大) T.R. Verhoeven(メルク社) 柘田卓三(東大) 原田宣之(東北大)
参加人数	170名	170名	250名	260名	310名	336名	392名	368名	394名

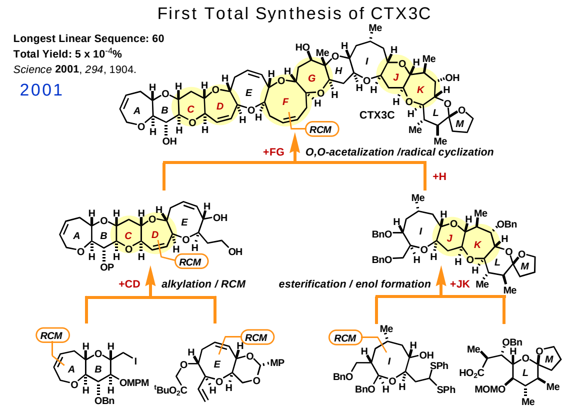
地区(回数)	仙台(第10回)	仙台(第11回)	仙台(第12回)	仙台(第13回)	仙台(第14回)	仙台(第15回)	仙台(第16回)	仙台(第17回)	仙台(第18回)	仙台(第19回)
テーマ	生物応答と分子機能挑戦する有機合成- 合成化学の最先端-	有機化学のフロンティア-21世紀に向けて	有機化学のフロンティア-21世紀に向けて	有機化学のフロンティア	有機化学の挑戦-分子構築から生体機能解明まで-	有機化学の挑戦-有機合成化学の使命と未来-	有機化学の挑戦-新しい有機合成手法開拓-	有機合成化学の力量 小分子から巨大分子まで	有機合成化学と生物学の橋渡しを目指すケミカルバイオロジー	有機化学の目指す夢
日時	1999年6月17日(木)	2000年6月10日(土)	2001年6月30日(土)	2002年6月8日(土)	2003年6月28日(土)	2004年6月26日(土)	2005年5月28日(土)	2006年6月24日(土)	2007年6月23日(土)	2008年6月21日(土)
場所	仙台国際センター	仙台国際センター	仙台国際センター	仙台国際センター	仙台国際センター	仙台国際センター	仙台国際センター	仙台国際センター	仙台国際センター	仙台国際センター
Organizer	井原正隆	平間正博	山口雅彦	山本嘉則	袖岡幹子	桑原重文	井上祥雄	山口雅彦	上田実	佐々木誠
座長	宮野壮太郎 大類洋 (以上東北大)	山口雅彦 袖岡幹子 (以上東北大)	袖岡幹子 井上祥雄 (以上東北大)	井原正隆 井上祥雄 (以上東北大)	山口雅彦 桑原重文 (以上東北大)	根東義則 山本嘉則 (以上東北大)	山口雅彦 山本嘉則 (以上東北大)	服部徹太郎 山口雅彦 (以上東北大)	有本博一 上田実 (以上東北大)	有本博一 桑原重文 (以上東北大)
講師	内山真伸(東北大) 奈良坂紘一(東大) 野依良治(名大) 北泰行(阪大) 山本嘉則(東北大) 向山光昭(東理大)	藤田誠(名大工) 魚住泰広(分子科学研 正田晋一郎(東北大工 小林修(東大薬) 中谷和彦(京大工) 西村紳一郎(北大理)	根東義則(東北大・ 鈴木敏夫(新潟大・ 上村大輔(名大・理) 茶谷直人(阪大・工) 飯田剛彦(万有) 玉尾皓平(京大・化	柴崎正勝(東大・薬) Teck Peng Loh(シンガ 有澤美枝子(東北大・ R.D. Larsen(メルク) 大石徹(阪大・理) 山本尚(名大・工)	岩渕好治(東北大・薬 谷野圭持(北大・理) 鈴木正昭(岐阜大・医 間瀬俊明(万有) 笹井宏明(阪大・産研 磯部稔(名大・農)	伊藤幸成(理研) 鈴木啓介(東工大) 林民生(京大理) 森謙治 (理研) 向山光昭(北研)	井上将行(東北大・理 橋本幸彦(東大・工) R J. DeVita(MRL) 袖岡幹子(東北大・多 神戸宣明(阪大・工) 丸岡啓二(京大・理)	金井求(東大・薬) 寺田眞浩(東北大・理) 田中富士枝(Scripps) 髙村義徳(万有) 志津里芳一(海洋バイオ 福山透(東大・薬)	浜地格(京大・工) 長田裕之(理研) Feroze Ujjainwalla(MRL) 内山真伸(理研) 檜山為次郎(京大・工) 竜田邦明(早大・理工)	山口茂弘(名大・理) 安田修祥(Merck) 山口雅彦(東北大) 只野金一(慶応大理工) 相本三郎(阪大蛋白研) 上村大輔(慶応大理工)
参加人数	398名	408名	430名	446名	420名	540名	500名	444名	481名	430名

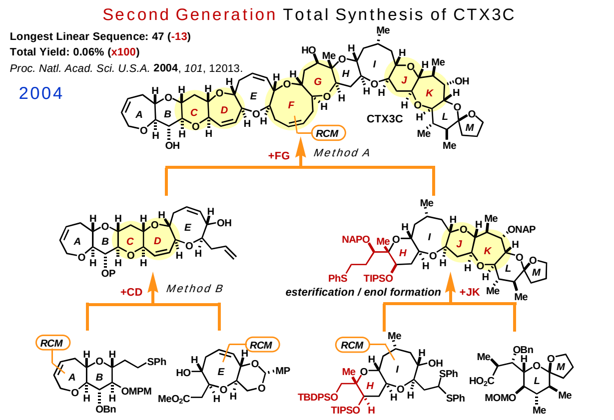
「天然物全合成研究を生体高分子との相互作用を含めて展開して行こう」ということである。今でもその姿勢は変わらないつもりでいる。

シガトキシン類の全合成

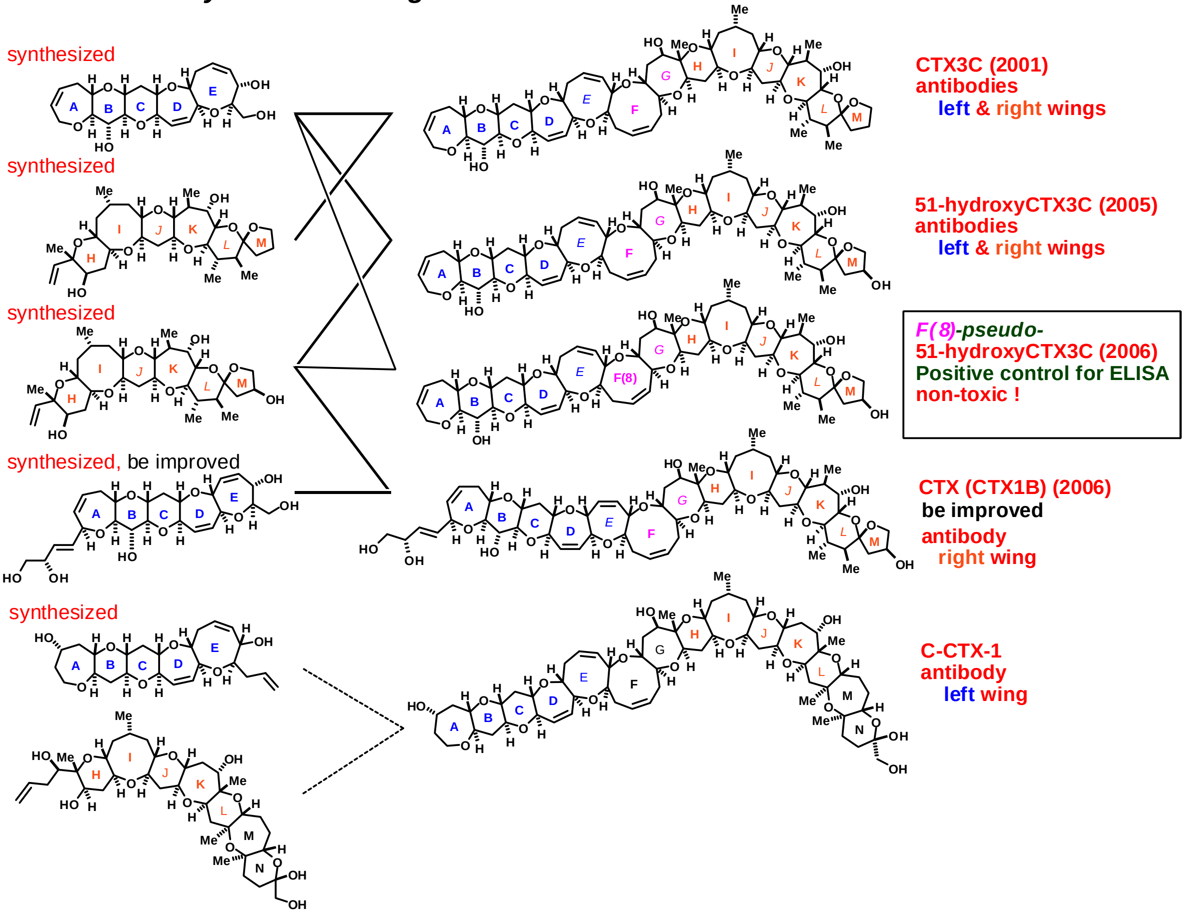
珊瑚礁周辺の魚介類によって引き起こされるシガテラ中毒は、世界最大規模の自然毒食中毒であり、年間５万人から１０万人以上の中毒患者が発生していると言われている。その原因毒シガトキシン類は、天然からは極微量しか得られず、分子の大きさの点で他の天然物を凌駕する複雑さを備え、３０～３４個の不斉炭素を持つ。不飽和８，９員環エーテルを中心にして 13 個のエーテル環が梯子状に連なった 3 ナノメーターの分子長を有する巨大分子である[2]。しかも、極めて微量で神経ナトリウムイオンチャネルに作用する。私達の研究は、普遍的全合成法開発を基盤にして、積極的に他分野の研究者との共同研究によって、抗シガトキシン抗体作製、抗体‒シガトキシン複合体の結晶構造解析（分子認識機構解明）、抗体を利用した毒魚検定イムノアッセイ法開発、毒性中和機能開発（シガテラ中毒治療法開発）、電気生理学的特性解析、クライオ電子顕微鏡によるシガトキシン‒Na イオンチャネル複合体の単粒子構造解析（イオンチャネル阻害原理解明）へと発展させたいと願って来た。大分進展した分野もあれば、非常に困難な研究で苦しんでいる分野もある。基礎科学と応用分野の両面での新発見と新機能開拓を図っている。

私達は、２００１年に２環構築型ポリエーテル連結法を基盤とする CTX3C の全合成を完成した[3]。合成を始めてから１２年かかった[4]。その後、51-hydroxyCTX3C や CTX1B(ciguatoxin)の全合成も達成した[5]。現在の全合成法はかなり改良されたが、CTX3C の場合でも、まだ総工程数は１００以上、収束的合成の最長工程が４７段階であり[6]、CTX1B のミリグラム単位の合成もまだこれからの課題である。一方、近年単離され、米国やカリブ海地域で問題になっている、太平洋産のシガトキシンより構造が大きく複雑なカリブ海産シガトキシン類（C-CTX）の全合成も検討中である[7]。





Total Syntheses of Ciguatoxins & Antibodies

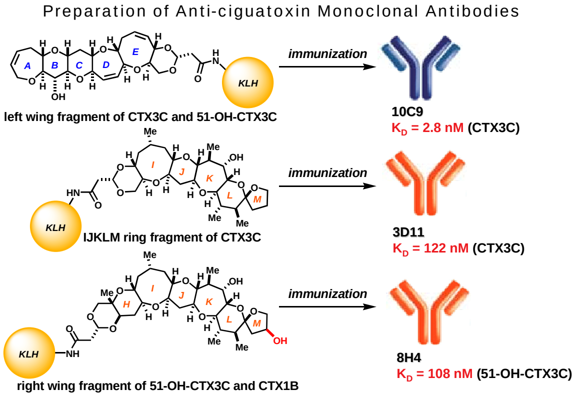


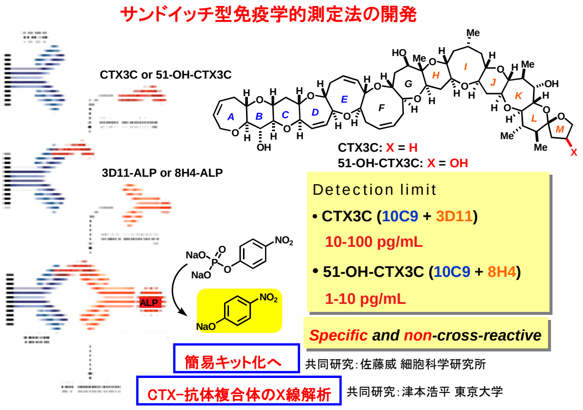
抗体作製・毒魚検定イムノアッセイ法開発

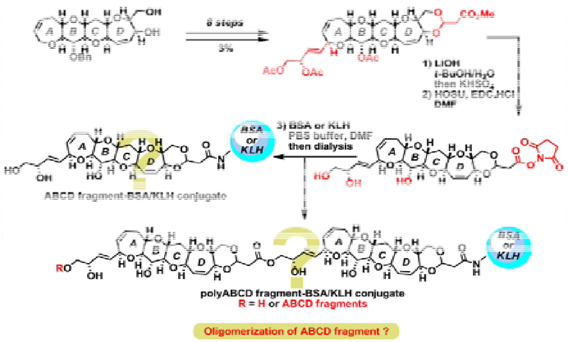
藤井・円谷との共同研究によって、毒自身を用いないで、無毒の５環性以上の合成フラグメントを抗原用ハプテン（表面積＞ca. 400 Å^2）とすれば、シガトキシン類を高感度で認識できるモノクローナル抗体が作製できる方法の開発に成功した[8]。この方法で、CTX3C と 51-HydroxyCTX3C に対する特異的モノクローナル抗体３種を調製し、シガトキシン類１分子を２つの抗体で左右からサンドイッチ型に挟み込んで 10pg/mL 程度の高感度で検出可能な発光および吸光サンドイッチイムノアッセイ ELISA 法（微量分析法）を開発した。更に、食中毒予防に向けた迅速簡易キット化への実用化も、（株）細胞科学研究所の佐藤威博士によって実現した。CTX1B の左部分を認識する抗体の作製には苦労したが、最近、漸く成功した。

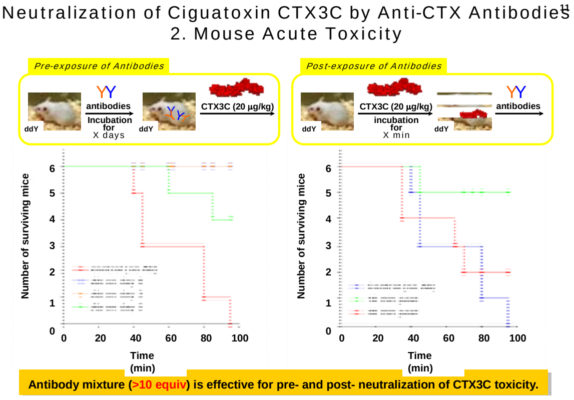
毒性中和機能開発（シガテラ中毒治療法開発）

マウス免疫によって得た抗体を用いて，シガテラ中毒にかかったマウスの毒性中和実験に成功した。サンドイッチ抗体２種を用いると、中和作用の相乗効果が観測された[9]。マウス抗体のヒト抗体化も進展している。



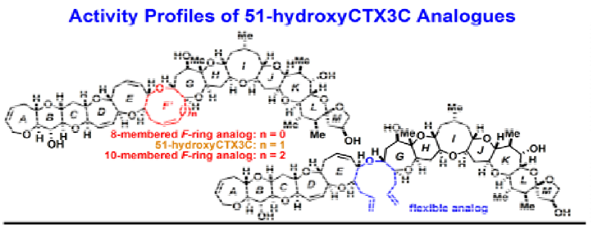






ビオチンコンジュゲートの位置選択的合成

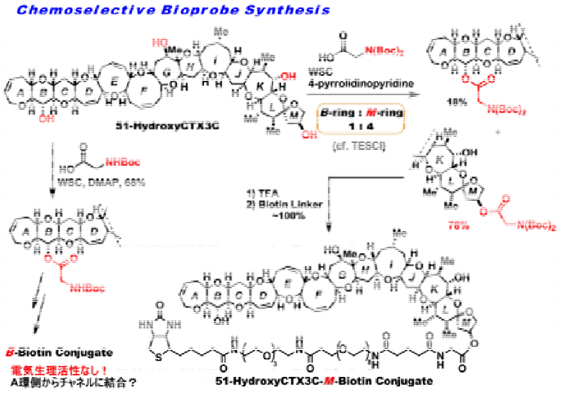
51-hydroxyCTX3C のＢ環とＭ環水酸基を選択的に化学修飾する方法を開発した。



Compound	competitive binding assay Ki (nM)	cytotoxicity EC50 (nM)	Mouse acute toxicity LD50 (μg/kg)
51-hydroxyCTX3C	0.0048	0.005	0.31
flexible analog	864	186	> 667
8 membered F-ring analog	55	120	> 667
10 membered F-ring analog	n.m.	0.24	600
PbTx-3	1.2	15	> 200

x 200,000　x 10,000　x 37,000　x 24,000　x 50　x 2000

n.m.; not measured



おわりに

抗体−シガトキシン複合体の結晶構造解析（分子認識機構解明）[10]、Na⁺ イオンチャネル結合シガトキシンの構造要件（擬似 CTX の合成から、Ｆ環が９員環であること）[11] やシガトキシン誘導体等の電気生理学的特性解析 [12] についても紹介したい。全合成に磨きをかける一方、自分の研究室だけではできないことも、共同研究を利用して学際的研究・総合科学的展開へと発展させて来た積りである。基本は、「始めに天然物ありき」であり、「全合成を基盤にし

て総合科学へ」である。

THE LANCET

Organic chemistry takes on tropical seafood poisoning

<*THE LANCET*, **2001**, 358, 1878>

Acknowledgements

Prof. M. Inoue *(The Univ. of Tokyo)*

Total Synthesis of Ciguatoxins

Prof. T. Oishi *(Osaka Univ.)*

Prof. S. Oguri *(Hokkaido Univ.)*

Prof. S. Yamashita

Drs. H. Uehara, K. Miyazaki,

Drs. A. Tatami, J. Wang

Drs. G. X. Wang, K. Yoshikawa

Drs. H. Maruyama, S. Sasaki

Drs. G. Murphy, F. Saito

Y. Ishihara, T. Shida, K. Takeuchi

SAR of Ciguatoxins

Dr. Lee Nayoung

Dr. T. Usuki

Electrophysiology

Prof. K. Yamaoka, *Hiroshima Internat. Univ.*

Monoclonal Antibodies

Prof. I. Fujii, *Osaka Prefect. Univ.*

Prof. T. Tsumuraya, *Osaka Prefect. Univ.*

Immunoassay Kit

Dr. T. Sato, *Cell Science & Tech. Inst.*

X-ray Analysis of Antibody Complex

Prof. K. Tsumoto, *Univ. of Tokyo*

Ciguatera in Okinawa

N. Oshiro, *Okinawa Kankyo Eisei Inst.*

Electron Microscope & Single Particle Anal.

Dr. C. Sato, *Nat. Inst. Adv. Ind. Sci. & Tech.*

Financial Support

JST (SORST, CREST) , MEXT

参考文献

1) 平間正博、*有機合成化学協会誌*, **49**, 1032 (1991).

2) M. Murata, A. M. Legrand, Y. Ishibashi, T. Yasumoto, *J Am Chem Soc*., **111**, 8929 (1989); T. Yasumoto, M. Murata, *Chem Rev*., **93**, 1897 (1993); T. Yasumoto, *Chem Rec*., **1**, 228 (2001).

3) M. Hirama, T. Oishi, H. Uehara, M. Inoue, M. Maruyama, H. Oguri, M., Satake, *Science*, **294**, 1904 (2001); M. Inoue, H. Uehara, M. Maruyama, M. Hirama, M., *Org Lett*., **4**, 4551 (2002).

4) M. Hirama, *Chem. Rec*., **5**, 240 (2005).

5) M. Inoue, K. Miyazaki, Y. Ishihara, A. Tatami, Y. Ohnuma, Y. Kawada, K. Komano, S. Yamashita, M. Hirama, *J. Am. Chem. Soc*., **128**, 9352 (2006).

6) Inoue, K. Miyazaki, H. Uehara, M. Maruyama, M. Hirama, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 12013 (2004); M. Inoue, M. Hirama, *Synlett*, **4**, 577 (2004); M. Inoue, M. Hirama, *Acc. Chem. Res*., **37**, 961 (2004); S. Kobayashi, B. H. Alizadeh, S. Sasaki, H. Oguri, and M. Hirama, *Org. Lett*., **6**, 751 (2004); M. Inoue, S. Yamashita, A. Tatami, K. Miyazaki, and M. Hirama, *J. Org. Chem*., **69**, 2797 (2004). M. Inoue, Y. Ishihara, S. Yamashita, M. Hirama, *Org. Lett*. **8**, 5801 (2006); M. Inoue, S. Yamashita, Y. Ishihara, M. Hirama, *Org. Lett*. **8**, 5805 (2006).

7) M. Inoue, F. Saito, M. Iwatsu, Y. Ishihara, M. Hirama, *Tetrahedron Lett*. 48, 2171 (2007); K. Yoshikawa, M. Inoue, M. Hirama, *Tetrahedron Lett*. **48**, 2177 (2007).

8) H. Oguri, M. Hirama, T. Tsumuraya, I. Fujii, M. Maruyama, H. Uehara, Y. Nagumo, *J. Am. Chem. Soc*., **125**, 7608 (2003); T. Tsumuraya, I. Fujii, M. Inoue, A. Tatami, K. Miyazaki, M. Hirama, *Toxicon*, **48**, 287 (2006).

9) M. Inoue, N. Lee, T. Tsumuraya, I. Fujii, M. Hirama, *Toxicon*, in press.

10) K. Tsumoto, A. Yokota, Y. Tanaka, M. Ui, T. Tsumuraya, I. Fujii, I. Kumagai, Y. Nagumo, H. Oguri, M. Inoue, M. Hirama, *J. Biol. Chem*., **283**, 12259 (2008); M. Ui, Y. Tanaka, T. Tsumuraya, I. Fujii, M. Inoue, M. Hirama, K. Tsumoto, *J. Biol. Chem*., **283**, 19440 (2008).

11) M. Inoue, N. Lee, K. Miyazaki, T. Usuki, S. Matsuoka, M. Hirama, *Angew. Chem. Int. Ed*. (VIP), **47**, 8611 (2008).

12) Yamaoka, M. Inoue, H. Miyahara, K. Miyazaki, M. Hirama, *Br. J. Pharmacol*., **142**, 879 (2004); V. Ghiaroni, H. Fuwa, M. Inoue, M. Sasaki, K. Miyazaki, M. Hirama, T. Yasumoto, G. P. Rossini, G. Scalera, A. Bigiani, *Chem. Senses* **31**, 673-680 (2006); K. Yamaoka, M. Inoue, K. Miyazaki, M. Hirama, C. Kondo, E. Kinoshita, H. Miyoshi, I. Seyama, *J. Biol. Chem*., in press (2009).