

東北大学大学院理学研究科 教授

平間 正博

「超天然物の反応制御と分子設計」

1. 研究実施の概要

ビラジカルを発生して DNA を切断するエンジン系低分子とそれを安定化して運ぶタンパク質複合型抗癌抗生物質や、イオンチャネル蛋白質に結合して猛烈な神経毒性を発揮するポリエーテル系天然物の全合成を基盤としながら、タンパク質複合体の立体構造と機能発現原理を明らかにして、天然物の機能を超える分子（超天然物）を化学合成する新しい方法論を開拓する。すなわち、天然物を超える超天然物の設計へと発展させることを目的として研究を進めて来た。研究の中心は天然有機化合物の合成化学に置きながら、構造生物学や遺伝子工学、構造化学、物理有機化学へと研究が広がって行くに従い、生物活性天然物の構造と反応と機能が、極めて合理的な原理で統括されていることが分かり、目をみはる思いである。5年間の CREST 研究の重要成果をまとめると、1) タンパク質複合型抗癌抗生物質 C1027 の NMR による三次元構造解析と分解安定化機構解明、2) C1027 のアポタンパク質の遺伝子工学による変異アポタンパク質の作成、3) C1027 に ESR 観測される常磁性種の解析、4) C1027 の分解機構と三次元構造解析に基づいた重水素化アポタンパク質の設計およびクロモフォア再構成による新しい超タンパク質複合系の構築、5) C1027 およびケダルシジクロモフォアの¹³C 標識したモデル化合物の合成、並びに生成する p-ベンザインビラジカルのスピントラップと ESR による常磁性種の解析、6) シガトキシン CTX3C の全合成の達成、7) シガトキシンの効率的合成法の開発、8) シガトキシン CTX3C の両末端部位に結合するモノクローナル抗体の作成、9) 抗シガトキシン CTX3C 抗体を用いた CTX3C の特異的かつ高感度サンドイッチ ELISA 分析法の開発、等である。以下、重要成果の概要を述べる。

(1) タンパク質複合型抗癌抗生物質 C1027 の三次元構造解析と分解安定化機構解明

タンパク質複合型抗癌抗生物質 C1027 は、DNA 切断活性を示す非常に不安定なエンジンクロモフォアと、これを特異的に結合して安定化するアポタンパク質から構成されている。以前私達は、速度論的研究によりクロモフォアは室温で p-ベンザイン形と平衡になっていると推定した。アポタンパク質が、単独では急速に芳香環化するクロモフォアを、どのように結合し安定化するかという問題は、蛋白質による低分子認識と運搬 (DDS) の観点から非常に重要である。そこで、C1027 アポタンパク質と芳香環化クロモフォアから成る複合体の三次元 NMR 構造を決定した。クロモフォア結合ポケット中心部における疎水性相互作用と辺縁部における静電的相互作用が、アポタンパク質によるクロモフォアの特異的結合を決めている。しかも、p-ベンザインビラジカルが周辺のアポタンパク質から水素を引き抜きにくい立体構造になっている。即ち、アポタンパク質によるクロモフォアの安定化作用は、主に速度論的な反応性低下に由来することを明らかにした。

(2) 天然抗生物質 C1027 に ESR 観測される常磁性種の解析

C1027 には、ESR シグナルが定常的に、4年後でも観測された。二次元ニューテーション FTESR などを詳細に解析した結果、このスペクトルは、三重項を含む少なくとも3種以上のラジカル種に由来することが分かった。しかし、p-ベンザインビラジカルの吸収が観

測されている積極的な証拠はなかった。C1027 芳香環化クロモフォアとアポタンパク質との複合体の NMR 三次元構造から次のことが予想された。C6 位近傍に Gly96 水素がある。距離は近いが C6 位 σ ラジカルに対して C-H 結合が直交していて水素引き抜き反応に対して配向が悪い。しかも平衡は大きくエンジン形に偏っているので反応は遅い。しかし、Gly96 水素はゆっくりとクロモフォアのピラジカル形と反応してペプチド鎖上のグリシニルラジカルとフェニルラジカルを生成し、酸素との反応性が高いグリシニルラジカルは捕捉されてパーオキシラジカルとなる。これらが ESR で観測されると推定される。三重項種は、グリシニルパーオキシラジカルとフェニルラジカルとのラジカル対に由来する可能性が高い。これらのラジカル種は、平衡によって微量ながら連続的に供給されるので、ESR で定常的に観測される。逆に言うと、常磁性種が定常的に観測されることは、エンジンクロモフォアが p-ベンザインピラジカルと平衡にあることを支持する。クロモフォアがアポタンパク質とゆっくり反応して分解する機構は、古くなった C1027 が、MALDI-TOFMS によって Gly96 で酸化分解された分子量 9086 と C 末側の 1444.7 のペプチド断片を示すことから支持され、自己分解の重要な経路の一つが明らかになった。

(3) C1027 およびケダルシジクロモフォアの ^{13}C 標識したモデル化合物の合成と、生成する p-ベンザインピラジカルのスピントラップと ESR による常磁性種の解析

天然物 C1027 やケダルシジクロモフォアのモデル化合物もジクロロメタンやアセトニトリル溶液中で常磁性を示す。芳香環化の速度論的研究によって、芳香環化のエンジン形と p-ベンザイン形の平衡として存在するためと考えられた。しかし、ESR 観測している常磁性種が、p-ベンザインピラジカルそのものに由来するのか、結論を出せなかった。そこで、3 位と 6 位を別個に ^{13}C 標識した化合物を合成した。不対電子が ^{13}C 核上にあれば相互作用によって大きな超微細構造 (100G 以上) が現れるはずである。しかし、標識化合物が示した ESR は、10G 程度の小さな広幅化しか示さなかった。したがって、観測される信号は、ピラジカルに由来するのではなく、不対電子中心が標識位置から離れた場所にあることが明確になった。この系 (重ジクロロメタン溶液) にスピントラップ MNP を加えると、スピアダクトの ESR に ^{13}C 核に由来する超微細構造が観測された。これは、3、6 位ラジカルがトラップされたこと、および室温におけるエンジン形と p-ベンザインピラジカル形の平衡の存在を支持する。これらの結果を総合すると、p-ベンザインピラジカルの基底状態は一重項で ESR 信号を示さず、分子内水素転位によって生成する安定ラジカルの信号が観測されていると結論される。

(4) C1027 の分解機構と三次元構造解析に基づいた重水素化アポタンパク質の設計：遺伝子工学による重水素化アポタンパク質の作成とクロモフォア再構成による新しい超タンパク質複合系の構築

C1027 のクロモフォアはアポタンパク質によって安定化されているが、少しずつアポタンパク質と反応して自己分解することが判明した。では、C1027 アポタンパク質を DDS キャリヤータンパク質として改良するには、Gly96 のメチレンを重水素に置換すればよい

のではないかと期待した。放線菌の C1027 アポタンパク質生産遺伝子が大腸菌中で発現することができるようにして、培地に重水素化グリシンを加えて大腸菌を培養し、重水素化 Gly を平均 75%取り込ませたアポタンパク質を合成した。これに天然 C1027 から取り出したクロモフォアを再構成させ、Gly を重水素化した人工 C1027 複合体を合成した。複合体中のクロモフォアの寿命を測定すると、固体状態と水溶液状態 (pH 6.8) で天然物よりそれぞれ約 2 倍、5 倍寿命が長いことが明らかになり、キャリアタンパク質として、天然物より優れた人工 C1027 (超タンパク質複合体) を創製することに成功した。天然物の構造解析に基づいた生理活性超天然物の合理的な設計法を示すことができた。

また、クロモフォア結合ポケットのアミノ酸残基の特異的変異アポタンパク質の中で、特に Asp101Ala と Asp101Asn では、芳香環化クロモフォアの結合定数がそれぞれ 67 分の 1、18 分の 1 に減少したが、His104Phe の結合定数は約 4 倍に増大した。クロモフォアのアミノ基と Asp101 のカルボキシル基間の静電的相互作用が特異的結合に重要であること、酸性溶液中で正に荷電した His104 はそれを邪魔していることが明らかになった。

(5) シガトキシン CTX3C の全合成

毎年 2 万人以上の人々が中毒する世界最大の海産物食中毒シガテラ中毒の原因毒素シガトキシンは、5、6、7、8 および 9 員環エーテルが 13 個梯子状に連結した、不斉炭素が 30 個を超える、分子長が 3nm 以上のいも虫状巨大分子である。1989 年に安元 健と村田道雄によって構造決定されてから、天然からは極めて微量しか採れないことや、電位依存性ナトリウムチャンネルに作用する猛毒性と複雑な構造に興味をもたれ、世界中の合成化学者が全合成に挑戦して来た。私たちは CREST の全面的な支援を得て、2001 年世界に先駆けてシガトキシン CTX3C の全合成に成功した。「仙台発の、化学として挑戦的で、しかも世の中に役立つ研究をしたい」という気持ちで 12 年前に合成研究を開始してから、絶対配置を決定し、最終的に完成した合成法にたどり着くまでには紆余曲折を経た。成功の鍵は、戦術としては 1992 年に Grubbs によって開発されたオレフィン閉環メタセシス反応を用いて中員環エーテルを短工程で合成したこと、そして戦略的には 13 個のポリエーテル環の組み立て方として、2 個のセグメントを連結する際に間に 2 つの環を作りながら組み上げて行く方法 (二環構築型収束的ポリエーテル合成法 3 種) を工夫したことである。

(6) シガトキシン CTX3C の効率的合成法の開発

CTX3C 全合成最大の未解決の問題は、最終段階の水酸基脱保護反応であった。CTX3C トリベンジルエーテル自身にはマウスに対する急性毒性がなかったことは、実験者にとって全合成の最終段階まで安全に実験できることと、神経毒性発現に関して重要な示唆を示しており、この中間体を合成できた意味は極めて大きい。しかし、ベンジル基の還元的除去が A 環アリリックエーテルの加水素分解 (開裂) と競争になり、天然物が低収率でしか得られなかったのである。保護基の問題は、全合成においてしばしば成否に関わる重大問

題となる。この問題はナフチルメチル (NAP) 基に変えて見事に解決され、2002 年春には天然物の量を凌駕する 1 ミリグラムの CTX3C を化学合成することに成功し、神経科学の研究に供することができた。その後も更に合成経路の改良を進めている。

(7) シガトキシン CTX3C の両末端部位に結合するモノクローナル抗体の作成

シガトキシンを含む魚を簡便確実に検定してシガテラ中毒を予防するために、抗シガトキシンモノクローナル抗体を用いた免疫学的分析法の開発が望まれている。しかし、毒素シガトキシン本体を用いた特異性の高いモノクローナル抗体作成は、天然シガトキシンの量が少ないこともあって成功していない。そこで、化学合成したシガトキシン CTX3C の部分構造をハプテンとして抗体を作るアプローチを様々に検討した結果、二環 (AB 環部)、三環性 (ABC 環部) では CTX3C に結合する抗体が得られず、五環性フラグメント (ABCDE 環部および IJKLM 環部) をハプテンとして始めて毒素本体に高い親和性を示すモノクローナル抗体、10C9 および 3D11 が得られた。これらは、構造が類似した他のポリエーテル海産毒、プレバトキシン類、オカダ酸、マイトトキシン等には殆ど結合しないことが明らかになった。合成した無毒の部分構造をハプテンとして、毒素本体の標的部位を認識する抗体を作成する合理的手法を確立した。

(8) 抗シガトキシン CTX3C 抗体を用いた CTX3C の特異的かつ高感度サンドイッチ ELISA 分析法の開発

シガトキシン CTX3C の ABCDE 環側および IJKLM 環側に結合するモノクローナル抗体 10C9 および 3D11 を用いて、CTX3C を特異的かつ高感度 (1ppb レベル) で検出できるサンドイッチ免疫アッセイ法を開発した。

我々の全合成の成功は、研究の終点ではなく、もっと効率的な合成法開発や、更に優れた抗シガトキシン抗体作製、イオンチャネル阻害原理解明等、新たなライフサイエンスの展開への出発点になりうると期待している。

2. 研究構想

X 線や NMR の進歩によって、生体高分子の構造と分子認識を原子レベルで解析する仕事も、我々有機化学者の守備範囲になりつつある。一方、21 世紀の有機化学は、自然や生命の仕組みを、分子を基礎にした分子集合体の科学として総合的に理解する方向に向かうことは間違いない。本研究は、精密化・高速化された有機合成化学を機軸に、物理有機化学、コンピューターと、分子生物学、構造生物学の進歩を併せて、蛋白質複合体に焦点を置き、その三次元構造と機能発現の反応原理を解明する。そして、原子レベルの反応制御によって、天然物の機能を超える次世代の機能性分子や蛋白複合系超天然物の合理的分子設計を目指した。即ち、ピラジカルを発生して DNA を切断する低分子とそれを安定化して運ぶ蛋白質複合型抗癌抗生物質や、イオンチャネル蛋白質に結合して猛烈な神経毒性を發揮する天然物の蛋白複合体の立体構造と機能発現原理を明らかにする。そして更に、天然物の機能を超えるラジカル発生分子や蛋白複合体を化学合成する新しい方法論を開拓し

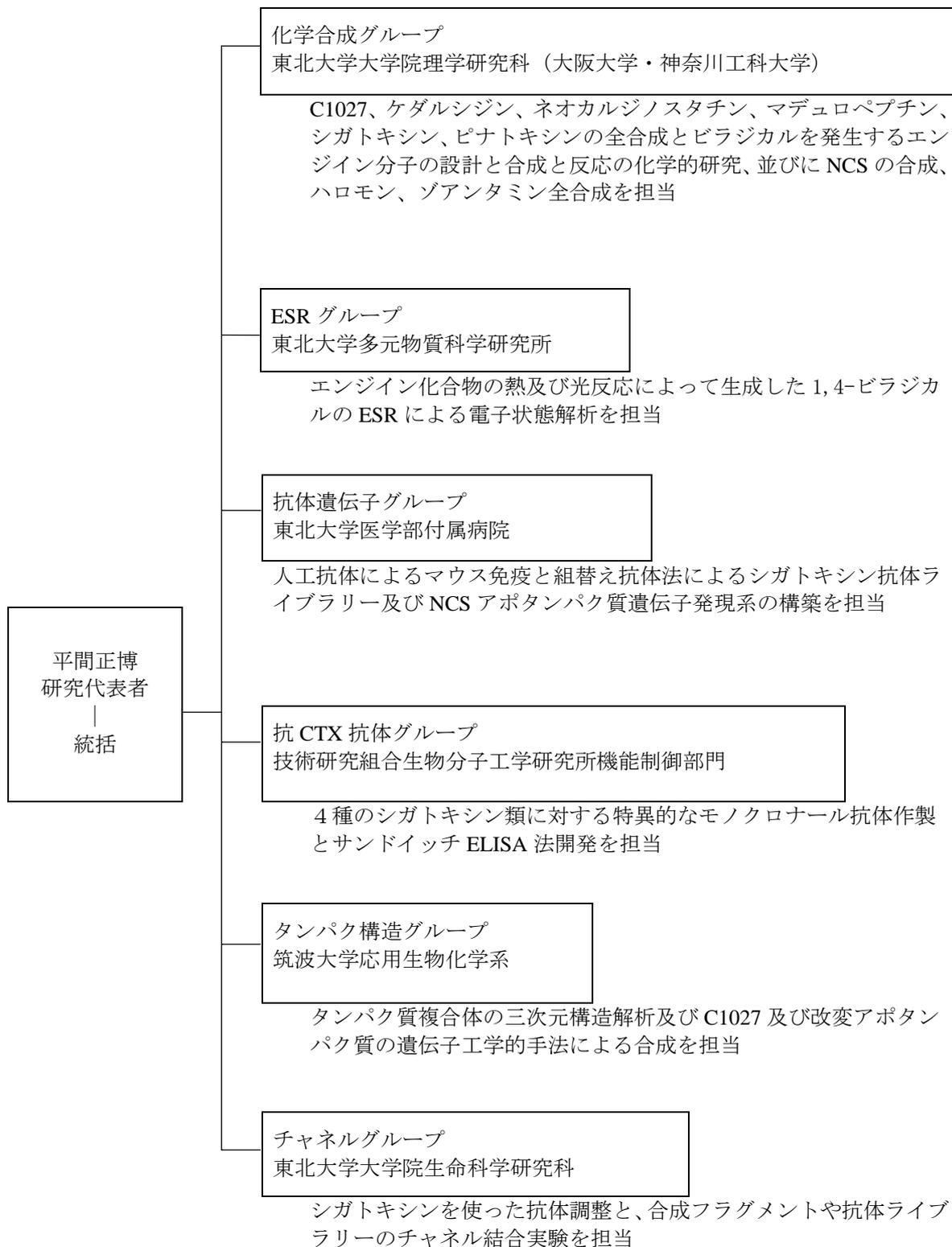
て、自然を原子レベルと同時に分子集合体で理解する超天然物化学を創始し、機能性材料や医療応用への可能性を探ることを目指した。当初の主要な研究項目は次の5項目であった。

- (1) 1, 4-ピラジカル活性種を安定化する蛋白質複合系の原理とデザイン
- (2) 新しい集積型ポリ-1, 4-ピラジカルの設計と反応制御
- (3) 神経毒ポリエーテルのイオンチャネル阻害の原理と修復
- (4) 人工ハプテンによるシガトキシン特異的抗体の創出
- (5) 海産生理活性分子、骨そしょう薬ノルゾアンタミンおよび抗癌剤ハロモン等の大量合成法の開発

研究体制は、平間グループが中心となって合成研究他を推進した。ピラジカルを発生するエンジン系抗生物質 (C1027) の蛋白質複合体の NMR による三次元構造の解析とアポタンパク質改変は筑波大学田中グループ、その常磁性種の ESR 研究は東北大学多元研秋山グループ、蛋白質複合型抗癌抗生物質ネオカルジノスタチンアポタンパク質の改変は東北大学医学部付属病院の富岡・水柿・後藤グループ、シガトキシン合成アナログのナトリウムイオンチャネル結合活性や全合成中間体の毒性評価は東北大農学研究科佐竹グループ、抗シガトキシン抗体の調製は東北大学医学部付属病院の富岡・水柿・後藤グループおよび生物分子工学研の藤井グループとの共同研究である。当初企画した研究項目中、(2)は後に困難であることが判明したが、それ以外の項目については、共同研究者の協力のおかげでかなりの成果を挙げる事ができた。特に C1027 複合体の三次元構造解析と ESR の研究から、不安定なエンジンクロモフォアを安定化する超アポタンパク質を設計できたこと、そして、シガトキシン CTX3C の全合成を世界に先駆けて完成することができたこと。しかも、全合成中間体を用いて抗シガトキシン CTX3C 抗体とサンドイッチ免疫アッセイを開発できたことは、特筆に値すると思う。我々が開発した全合成法を他のシガトキシン類や関連化合物の合成に応用し、神経科学研究のツールとして利用すべく更に研究を進めている。本研究によって、有機合成が天然物化学、生物有機科学、更に学際的研究の中軸として非常に重要な役割を果たせることを示せたのではないか。研究は、基礎研究として挑戦的で画期的であるばかりでなく、人々の健康や魚類資源の有効利用の社会的要請にも答えるものでありたいと願っている。

3. 研究実施体制

(1) 体制



4. 研究期間中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2000. 11. 26~29	日韓有機化学セ ミナー	仙台市 ホテル一の坊	35名	天然物有機合成と生物有機化学、新反応開発と不斉触媒および有機分子集合組織体と機能性物質のセッションから構成され、広い有機化学分野の未発表データを含む最新の研究成果をお互いに発表し、忌憚のない意見交換を行った。学術としての有機化学の深奥を極め、21世紀の科学技術の基盤化学として期待される有機化学の姿を提示する素晴らしいセミナーであった。

5. 主な研究成果

(1) 論文発表

1. M. Hirama Synthesis and Chemistry of Chromoprotein Antitumor Antibiotics: Nine-Membered Eneidyne are Equilibrated with p-Benzyne Type Biradicals. *Pure and Appl. Chem.*, **69**, 525-530 (1997).
2. S. Kawata, F. Yoshimura, J. Irie, H. Ehara, and M. Hirama Synthetic Study of Kedarcidin Chromophore: Advanced Models and Thier Chemical Behavior. *Synlett*, 250-252 (1997).
3. M. Yamaguchi, A. Nitta, R.S. Reddy, and M. Hirama Stereoselective Hydrogenation of Tetrasubstituted Enones. *Synlett*, 117-118 (1997).
4. H. Oguri, S. Hishiyama, O. Sato, T. Oishi, M. Hirama, M. Murata, T. Yasumoto, and N. Harada Synthesis Study of Ciguatoxin. Absolute Configuration of the C2 Hydroxy Group. *Tetrahedron*, **53**, 3057-3072 (1997).
5. M. Yamaguchi, T. Sotokawa, and M. Hirama Allylgallation Reaction of Carbon-Carbon Triple Bond with Allylsilane and GaCl₃. *Chem. Commun*, 743-744 (1997).
6. M. Yamaguchi, Y. Kido, A. Hayashi, and M. Hirama Friedel-Crafts β -Silylvinlylation Reaction. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **36**, 1313-1315 (1997).
7. M. Yamaguchi, H.-Y. Park, and M. Hirama Chemistry and Antimicrobial Activities of 3,5,7,9-Decatetrayn-2-ol and Related Compounds. *Chemistry Lett.*, 535-536 (1997).
8. K. Kano, S. Negi, R. Takaoka, H. Kamo, T. Kitae, M. Yamaguchi, H. Okubo, and M. Hirama Chiral Recognition of Tetrahelicene Dicarboxylic Acid by Linear Dextrins. *Chemistry Lett.*, 715-716 (1997).
9. M. Yamaguchi, Y. Igarashi, R.S. Reddy, T. Shiraishi, and M. Hirama Asymmetric Michael Addition of Nirtoalkanes to Prochiral Acceptors Catalyzed by proline Rubidium Salts. *Tetrahedron*, **53**, 11223-11236 (1997).
10. M. Satake, A. Morohashi, H. Oguri, T. Oishi, M. Hirama, N. Harada, and T. Yasumoto The

- Absolute Configuration of Ciguatoxin. *J. Am. Chem. Soc.*, 119, 11325-11326 (1997).
11. T. Oishi, K. Maeda, and M. Hirama Stereocontrolled Synthesis of the HIJ Ring System of Ciguatoxin. *Chem. Commun.*, 1289-1290 (1997).
 12. T. Oishi, M. Shoji, N. Kumahara, and M. Hirama Stereoselective Synthesis of the LM Ring Moiety of Ciguatoxin: Reagent Control of Asymmetric dihydroxylation. *Chemistry Lett.*, 845-846 (1997).
 13. T. Oishi, Y. Nagumo, and M. Hirama Convergent Synthesis of a Trans-fused 6-7-6 Tricyclic Ether System Based on a Ring-Closing Methathesis Reaction. *Synlett*, 980-982 (1997).
 14. S. Kawata, S. Ashizawa, and M. Hirama Synthetic Study of Kedarcidin Chromophore: Revised Structure. *J. Am. Chem. Soc.*, 119, 12012-12013 (1997).
 15. M. Yamaguchi, M. Arisawa, Y. Kido, and M. Hirama 2,6-Divinylation of phenols with ethyne. *Chem. Commun.*, 1663-1664 (1997).
 16. T. Kaneko, T. Takahashi, and M. Hirama Synthetic Study of Neocarzinostatin Chromophore: Stereoselective Synthesis of N-Methylfucosamine and Its α -Glycoside. *Heterocycles*, 47, 91-96 (1998).
 17. T. Noda, A. Ishiwata, S. Uemura, S. Sakamoto, and M. Hirama Synthetic Study of Pinnatoxin A: Stereoselective Synthesis of the BCD-ring Unit, a Novel 6,5,6-Bis-spiroketal System. *Synlett*, 298-300 (1998).
 18. T. Oishi, Y. Nagumo, and M. Hirama Convergent Synthesis of the trans-Fused 6-n-6-6 (n=7-10) Tetracyclic Ether System Based on a Ring-closing Metathesis Reaction. *Chem. Commun.*, 1041-1042 (1998).
 19. M. Yamaguchi, M. Arisawa, and M. Hirama Ortho-Vinylation Reaction of Anilines. *Chem. Commun.*, 1399-1400 (1998).
 20. T. Mita, S. Kawata, and M. Hirama Evidence for Spontaneous Cycloaromatization of Nine-Membered Monocyclic Ene-diyne. *Chemistry Lett.*, 959-960 (1998).
 21. S. Kawata and M. Hirama Synthetic Study of the Kedarcidin Chromophore: Efficient Construction of the Aryl Alkyl Ether Linkage. *Tetrahedron Lett.*, 39, 8707-8710 (1998).
 22. M. Yamaguchi, M. Arisawa, K. Omata, K. Kabuto, M. Hirama, and T. Uchimaru Ortho-Vinylation Reaction of Phenols with Ethyne. *J. Org. Chem.*, 63, 7298-7305 (1998).
 23. I. Sato, K. Toyama, T. Kikuchi, and M. Hirama New Synthetic Route to the Highly Strained Cores of C-1027 and Neocarzinostatin Chromophores. *Synlett*, 1308-1310 (1998).
 24. K. Takahashi, M. Hagiwara, S. Ashizawa, and M. Hirama Concise Synthesis of the Naphthoate Component of N1999-A2. *Synlett*, 71-72 (1999).
 25. T. Kaneko, M. Takahashi, and M. Hirama Photochemical Cycloaromatization of Nonbenzenoid Ene-diyne. *Angew. Chem. Internat. Ed. Engl.*, 38, 1267-1268 (1999).
 26. T. Kaneko, M. Takahashi, and M. Hirama Benzannulation Alters the Rate Limiting Step in Ene-diyne Cycloaromatization. *Tetrahedron Lett.*, 40, 2015-2018 (1999).
 27. G. Hirai, H. Oguri, and M. Hirama Synthetic Study of Zoanthamine Alkaloids: The C-ring Model Possessing Three Consecutive Quaternary Carbons. *Chemistry Lett.*, 141-142 (1999).
 28. K. Kano, H. Kamo, S. Negi, T. Kitae, R. Takaoka, M. Yamaguchi, H. Okubo, and M. Hirama Chiral recognition of an anionic tetrahelicene by native cyclodextrins. Enantioselectivity dominated by location of a hydrophilic group of the guest in a cyclodextrin cavity. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 15-21 (1999).

29. H. Oguri, S. Sasaki, S. Hishiyama, T. Oishi, M. Hirama, T. Tumuraya, Y. Tomioka, and M. Mizugaki Designed Hapten Aimed at Anti-ciguatoxin Monoclonal Antibody: Synthesis, Immunization and Discrimination of the C2 Configuration. *Synthesis, Special Issue*, 1431-1436 (1999).
30. A. Ishiwata, S. Sakamoto, T. Noda, and M. Hirama Synthetic Study of Pinnatoxin A: Intramolecular Diels-Alder Approach to the AG-ring. *Synlett*, 692-694 (1999).
31. A. Nitta, A. Ishiwata, T. Noda, and M. Hirama Synthetic Study of Pinnatoxin A: Intramolecular Alkylation Approach to the G-ring. *Synlett*, 695-696 (1999).
32. I. Sato, T. Kikuchi, and M. Hirama Synthetic Study of C-1027 Chromophore: Enantioselective Synthesis of β -Tyrosine Moiety and Effective Aryl Ether Formation. *Chemistry Lett.*, 511-512 (1999).
33. T. Oishi, M. Maruyama, M. Shoji, K. Maeda, N. Kumahara, S. Tanaka, and M. Hirama Enantioselective Synthesis of the Medium Ring Ethers, Tetrahydrooxepin, Oxocane and Hexahydrooxonin, of Ciguatoxin. Extensive Ring-Expansion and Chemoenzymatic Desymmetrization Strategy. *Tetrahedron*, 55, 7471-7498 (1999).
34. K. Maeda, T. Oishi, H. Oguri, and M. Hirama Convergent Synthesis of the ABCDE Ring Framework of Ciguatoxin. *Chem. Commun.*, 1063-1064 (1999).
35. M.J. Lear and M. Hirama Convenient Route to Derivatives of the 2-Deoxysugar Subunits of the Kedarcidin Chromophore: L-Mycarose and L-Kedarsamine. *Tetrahedron Lett.*, 40, 4897-4900 (1999).
36. H. Uehara, T. Oishi, K. Yoshikawa, K. Mochida, and M. Hirama The Absolute Configuration and Total Synthesis of Korormicin. *Tetrahedron Lett.*, 40, 8641-8644 (1999).
37. I. Sato, Y. Akahori, T. Sasaki, T. Kikuchi, and M. Hirama Synthetic Study of C-1027 Chromophore. Highly Stereoselective Glycosylation. *Chemistry Lett.*, 867-868 (1999).
38. H. Oguri, S. Sasaki, T. Oishi, and M. Hirama Expedient Tandem-Metathesis Route to the AB-ring Fragment of Ciguatoxin. *Tetrahedron Lett.*, 40, 5405-5408 (1999).
39. S. Koseki, Y. Fujimura, and M. Hirama Benzannulation Effect on Enediyne Cycloaromatization: An ab Initio Molecular Orbital Study. *J. Phys. Chem.*, 103, 7672-7605 (1999).
40. F. Yoshimura, S. Kawata, and M. Hirama Synthetic Study of Kedarcidin Chromophore: Atropselective Construction of the Ansamacrolide. *Tetrahedron Lett.*, 40, 8281-8285 (1999).
41. T. Oishi, Y. Nagumo, M. Shoji, J.-Y. Le Brazidec, H. Uehara, and M. Hirama Convergent Synthesis of the IJKLM Ring Fragment of Ciguatoxin CTX3C. *Chem. Commun.*, 2035-2036 (1999).
42. H. Oguri, S. Tanaka, T. Oishi, and M. Hirama A Very Short Route to the Functionalized A-ring Moiety of Ciguatoxin. *Tetrahedron Lett.*, 41, 975-978 (2000).
43. M. Hirama, K. Akiyama, T. Tanaka, T. Noda, K. Iida, I. Sato, R. Hanaishi, S. Fukuda-Ishisaka, M. Ishiguro, T. Otani, and J. E. Leet Paramagnetic Enediyne Antitumor Antibiotic C-1027: Spin Identification and Characterization of Radical Species. *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 720-721 (2000).
44. T. Sotokawa, T. Noda, Sun Pi, and M. Hirama A Three-Step Synthesis of Halomon. *Angew. Chem. Internat. Ed. Engl.*, 39, 3430-3432 (2000).
45. S.M. Moharram, G. Hirai, K. Koyama, H. Oguri, and M. Hirama Enantio-Face Control by Molecular Sieves in the Asymmetric Diels-Alder Reaction. *Tetrahedron Lett.*, 41, 6669-6673

- (2000).
46. M. Maruyama, K. Maeda, T. Oishi, H. Oguri, and M. Hirama Convergent Strategy for Synthesizing Polycyclic Ether Marine Toxins: Synthesis of the ABCDE Ring Fragment of Ciguatoxin CTX3C. *Heterocycles*, 54, 93-99 (2001).
 47. S. Khan, N. Kato, and M. Hirama Stereoselective Synthesis of Functionalized (Z)-Keto-enyne and its Epoxide. *Synlett*, 1494-1496 (2000).
 48. H. Imai, T. Oishi, T. Kikuchi, and M. Hirama Concise Synthesis of 3-O-(2-O- α -D-Glycopyranosyl)-6-O-acyl- α -D-glucopyranosyl)- 1,2-di-O-acyl-sn-Glycerols. *Tetrahedron*, 56, 8451-8459 (2000).
 49. K. Ando, T. Oishi, M. Hirama, H. Ohno, and T. Ibuka Z-Selective Horner-Wadsworth-Emmons Reaction of Ethyl (Diarylphosphono)acetates Using Sodium Iodide and DBU. *J. Org. Chem.*, 65, 4745-4749 (2000).
 50. S. Toujima, K. Kuwano, Y. Zhang, N. Fujimoto, M. Hirama, T. Oishi, S. Fukuda, Y. Nagumo, H. Imai, T. Kikuchi, S. Arai Binding of Glycoglycerolipid Derived from Membranes of *Acholeplasma laidlawii* PG8 and Synthetic Analogues to Lymphoid Cells. *Microbiology*, 146, 2317-2323 (2000).
 51. K. Toyama, S. Iguchi, H. Sakazaki, T. Oishi, and M. Hirama Convenient Route to Both Enantiomerically Pure Forms of trans-4,5-Dihydroxy-2-cyclopenten-1-one: Efficient Synthesis of the Neocarzinostatin Chromophore Core. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 74, 997-1008 (2001).
 52. G.X. Wang, S. Iguchi, and M. Hirama A Very Concise and Stereoselective Synthesis of 3-Substituted cis-Hex-3-ene-1,5-diyne and Corresponding Epoxydiyne. *J. Org. Chem.*, 66, 2146-2148 (2001)
 53. S. Kobayashi, R.S. Reddy, Y. Sugiura, D. Sasaki, N. Miyagaw, and M. Hirama Investigation of the Total Synthesis of N1999-A2: Implication of Stereochemistry. *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 2887-2888 (2001).
 54. T. Oishi, H. Uehara, Y. Nagumo, M. Shoji, J-Y. Le Brazidec, M. Kosaka, and M. Hirama Practical Entry into the HIJKLM Ring Segment of Ciguatoxin CTX3C. *Chem. Commun.*, 381-382 (2001).
 55. M.J. Lear, F. Yoshimura, and Masahiro Hirama A Direct and Efficient α -Selective Glycosylation Protocol for the Kedarcidin Sugar, L-Mycarose: AgPF6 as a Remarkable Activator of 2-Deoxythioglycosides. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 113, 946-949 (2001).
 56. T. Tanaka. S. Fukuda-Ishisaka, M. Hirama, and T. Otani Solution Structures of C-1027 Apoprotein and Its Complex with the Aromatized Chromophore. *J. Mol. Biol.*, 309, 267-283 (2001).
 57. T. Oishi, S. Tanaka, Y. Ogasawara, K. Maeda, H. Oguri, and M. Hirama Highly Stereocontrolled Synthesis of the ABCD Ring Fragment of Ciguatoxin CTX3C. *Synlett*, Special Issue, 952-954 (2001).
 58. Y. Nagumo, H. Oguri, Y. Shindo, S. Sasaki, T. Oishi, M. Hirama, Y. Tomioka, M. Mizugaki, and T. Tsumuraya Concise Synthesis of Ciguatoxin ABC-ring Fragments and Surface Plasmon Resonance Study of the Interaction of Their BSA Conjugates with Monoclonal Antibodies. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 11, 2037-2040 (2001).
 59. T. Sasaki, M. Inoue, and M. Hirama Synthetic Studies toward C-1027 Chromophore: Construction of a Highly Unsaturated Macrocycle. *Tetrahedron Lett.*, 42, 5299-5303 (2001).

60. G. Hirai, H. Oguri, S. M. Moharram, K. Koyama, and M. Hirama Convergent Synthesis of the ABC-ring Moiety of Zoanthenol: Intramolecular Mizoroki-Heck Reaction. *Tetrahedron Lett.*, 42, 5783-5787 (2001).
61. H. Imai, H. Uehara, M. Inoue, H. Oguri, T. Oishi, and M. Hirama Convergent Synthesis of EFGH Ring Fragment of Ciguatoxin CTX3C. *Tetrahedron Lett.*, 42, 6219-6222 (2001).
62. M. Inoue, H. Furuyama, H. Sakazaki, and M. Hirama Stereocontrolled Synthesis of the Northern Part of Potent Proteasome Inhibitor TMC-95A. *Organic Lett.*, 3, 2863-2865 (2001).
63. S. Kobayashi, S. Ashizawa, Y. Takahashi, Y. Sugiura, M. Nagaoka, M.J. Lear, and M. Hirama The First Total Synthesis of N1999-A2: Absolute Stereochemistry and Stereochemical Implications into DNA Cleavage. *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 11294-11295 (2001).
64. M. Hirama, T. Oishi, H. Uehara, M. Inoue, M. Maruyama, H. Oguri, and M. Satake Total Synthesis of Ciguatoxin CTX3C. *Science*, 294, 1904-1907 (2001).
65. M. Maruyama, M. Inoue, T. Oishi, H. Oguri, Y. Ogasawara, Y. Shindo, and M. Hirama Convergent Synthesis of the ABCDE Ring System of Ciguatoxin CTX3C. *Tetrahedron, Symposia in Print*, 58, 1835-1851 (2002).
66. S. Kobayashi, P. Das, G.X. Wang, T. Mita, M.J. Lear, and M. Hirama Diastereoselective Additions of Ethynyl Grignard Reagent to Erythrulose Derivatives. *Chemistry Lett.*, 300-301 (2002).
67. G. Hirai, Y. Koizumi, S.M. Moharram, H. Oguri, and M. Hirama Construction of the Benzylic Quaternary Carbon Center of Zoanthenol by Intramolecular Mizoroki-Heck Reaction of Enone. *Organic Lett.*, 4, 1627-1630 (2002).
68. H. Uehara, T. Oishi, M. Inoue, M. Shoji, Y. Nagumo, M. Kosaka, J.-Y. Le Brazidec, and M. Hirama Convergent Synthesis of The HIJKLM Ring Fragment of Ciguatoxin CTX3C. *Tetrahedron*, 58, 6493-6512 (2002).
69. M. Inoue, G.X. Wang, J. Wang, and M. Hirama Novel Assembly of Cyclic Ethers by Coupling α -Chlorosulfides and Alcohols. *Organic Lett.*, 4, 3439-3442 (2002)
70. S. Nozaki, Y. Tomioka, T. Hishinuma, M. Inoue, Y. Nagumo, L.R. Tsuruta, K. Hayashi, T. Matsumoto, Y. Kato, S. Ishiwata, K. Itoh, T. Suzuki, M. Hirama, and M. Mizugaki Design, Production, and Characterization of Recombinant Neocarzinostatin Apoprotein in *Escherichia coli*. *J. Biochem.* 131, 729-738 (2002).
71. T. Usuki, M. Inoue, K. Akiyama, and M. Hirama Spin-trapping Study of DNA Cleavage Induced by Eneidyne C-1027 Chromophore. *Chemistry Lett.*, 1148-1149 (2002)
72. M. Inoue, H. Uehara, M. Maruyama, and M. Hirama Practical Total Synthesis of Ciguatoxin CTX3C by Improved Protective Group Strategy. *Organic Lett.*, 4, 4551-4554 (2002)
73. P. Das, T. Mita, M.J. Lear, and M. Hirama Synthesis of ^{13}C -labelled, Bicyclic Mimetics of Natural Eneidyne. *Chem. Commun.*, 2624-2625 (2002)
74. M. Inoue, M. Hirama, M. Satake, K. Sugiyama, and T. Yasumoto Inhibition of Brevetoxin Binding to the Voltage-gated Sodium Channel by Gambierol and Gambieric Acid-A. *Toxicon*, in press.

(2) 特許出願

①国内

- 1) 発明者：水柿道直、富岡佳久、菱沼隆則
発明の名称：人工ネオカルチノスタチンアポタンパク質類遺伝子
出願番号：特願 10- 358029
出願日：
- 2) 発明者：平間正博、外川敬之
発明の名称：ポリハロゲン化モノテルペン並びにハロモンの製造方法
出願番号：特願 11- 242331
出願日：
- 3) 発明者：平間正博、外川敬之
発明の名称：ポリハロゲン化モノテルペン並びにハロモンの製造方法
出願番号：特願 11- 242332
出願日：
- 4) 発明者：平間正博、大栗博毅、藤井郁雄、円谷 健
発明の名称：抗シガトキシンモノクローナル抗体
出願番号：特願 2001- 247120
出願日：平成 13 年 8 月 16 日
- 5) 発明者：平間正博
発明の名称：シガトキシン CTX3C の全合成方法
出願番号：特願 2002- 12460
出願日：平成 14 年 1 月 22 日
- 6) 発明者：平間正博、井上将行
発明の名称：シガトキシン CTX3C 合成用の新規化合物
出願番号：特願 2002- 35075
出願日：平成 14 年 2 月 13 日
- 7) 発明者：平間正博、大栗博毅、藤井郁雄、円谷 健
発明の名称：CTX3C の A-E 環部を持つハプテン部を有するタンパク質コンジュゲートで免疫して得られるシガトキシン CTX3C 抗体およびその作製方法
出願番号：特願 2002- 66754
出願日：平成 14 年 3 月 12 日
- 8) 発明者：平間正博、大栗博毅、藤井郁雄、円谷 健
発明の名称：シガトキシン CTX3C を検出するサンドイッチ測定キット類
出願番号：特願 2002- 66755
出願日：平成 14 年 3 月 12 日
- 9) 発明者：平間正博、井上将行

発明の名称：NAP 保護基を用いたシガトキシン CTX3C 類の新規全合成方法及び該合成に有用な新規化合物

(3) 新聞報道等

①新聞報道

1. 'A SYNTHETIC TOUR DE FORCE', C&E.News, Dec.3, 2001,9
2. 'The Art of Total Synthesis', "Perspectives" Science, 2001,294,1842
3. 'Organic chemistry takes on tropical seafood poisoning', The Lancet, 2001, 358,1878
4. 'ORGANIC CHEMISTRY', "Chemistry Highlights 2001" C&E.News, Dec.10, 2001,53
5. 「年2万件の魚中毒発生源の毒素合成」朝日新聞 2002年11月30日
6. 「猛毒シガトキシンの合成に成功」朝日新聞 2002年1月12日
7. 「天然物質一毒から生命のなぞ解明」朝日新聞 2002年2月14日
8. 「魚シガ毒の人工的全合成に成功」科学新聞 2001年12月7日
9. 「魚の毒素を人工合成」日本経済新聞 2001年11月30日
10. 「猛毒シガトキシン合成」読売新聞 2001年12月3日
11. 「魚介類の毒 化学合成に初成功」毎日新聞 2001年11月30日
12. 「画期的な分子構築法により魚毒シガトキシン化学合成に成功」教育学術新聞 2001年12月12日

②受賞

井上學術賞（1998年）平間正博

有機合成化学協会賞（2000年）平間正博

Roche Lectureship（2002年）平間正博

日本薬学会東北支部奨励賞（1998年）富岡佳久

日本脂質栄養学会ランズ賞学術賞（2000年9月）水柿道直

天然物化学談話会奨励賞（2001年）井上将之

有機合成化学協会研究企画賞（2002年）井上将行

天然物化学談話会奨励賞（2002年）大栗博毅

農芸化学奨励賞（2001年）佐竹真幸