

平成28年度科学研究費助成事業（特別推進研究）自己評価書
〔追跡評価用〕

平成28年4月 25日現在

研究代表者 氏名	平間 正博	所属研究機関・ 部局・職 (研究期間終了時)	東北大学・理学(系)研究科 (研究院)・教授
研究課題名	天然物有機合成を基盤とする抗体・受容体・新物質の解析創製と新機能開拓		
課題番号	19001003		
研究組織 (研究期間終了時)	研究代表者 平間 正博（東北大学・理学(系)研究科(研究院)・教授） 研究分担者 藤井 郁雄（大阪府立大学・大学院・理学系研究科・教授） 山岡 薫（広島国際大学・保険医療学部・理学療法学科・教授） 山下 修治（東北大学・大学院・理学研究科・助教）		

【補助金交付額】

年度	直接経費
平成19年度	80,100 千円
平成20年度	125,100 千円
平成21年度	84,700 千円
平成22年度	46,100 千円
総計	336,000 千円

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか

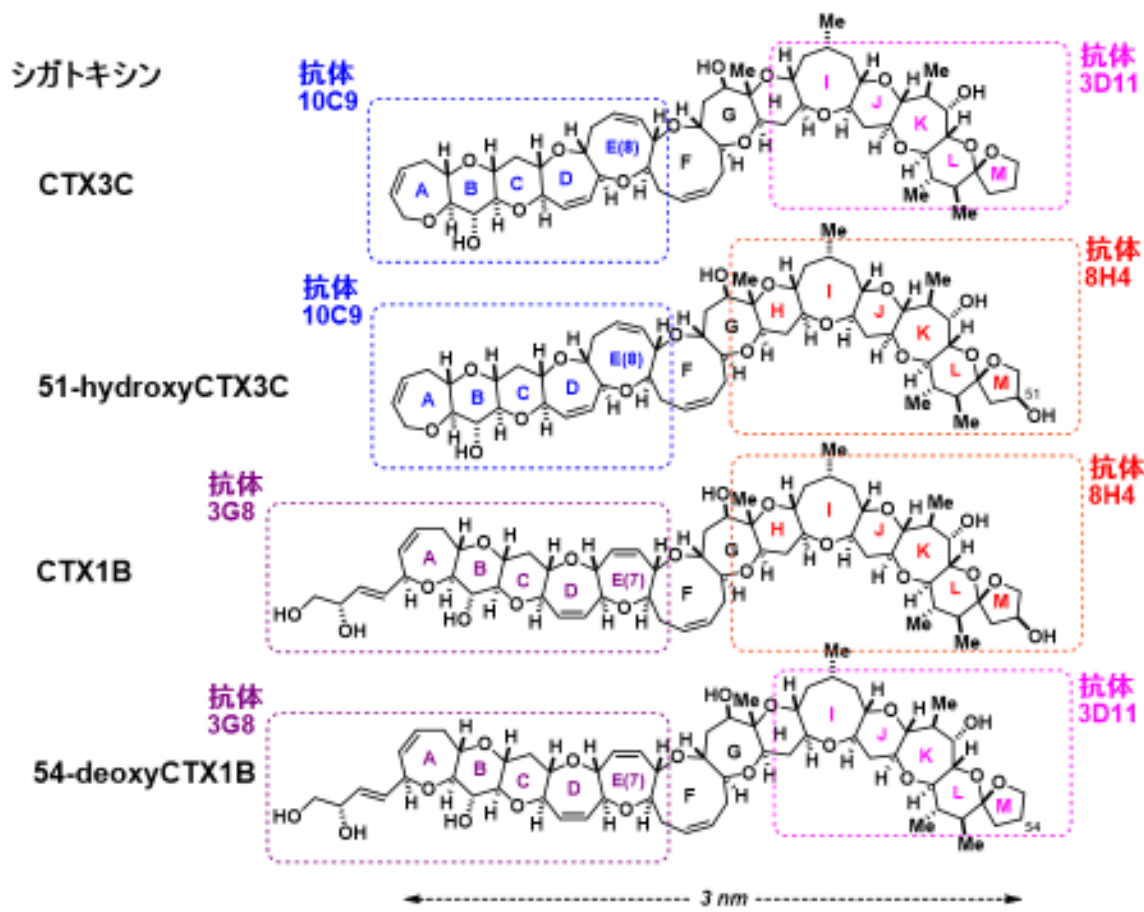
特別推進研究によってなされた研究が、どのように発展しているか、次の(1)~(4)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

(1) 研究の概要

(研究期間終了後における研究の実施状況及び研究の発展過程がわかるような具体的内容を記述してください。)

クロモプロテイン系抗腫瘍性抗生物質等の各種生理活性天然物の全合成に成功しているが、ここではシガトキシン関連研究についてのみ触れる。CTX1Bの全合成については、新規に開発した(Z)-ビニルスルホキシドへのラジカル付加反応を活用して、左側セグメントを228ミリグラム合成することに成功した。実践的な第三世代CTX1B全合成法を確立するため、この左セグメントと右側セグメントとのカップリングを検討した。しかし、右側セグメント・フェニルスルフィドのクロル化が効率よく進行せず、カップリング収率が低迷した。生成した副生成物から、微量の水(湿気)が原因と考えられたので、モデル実験も含めて、さまざまに試薬の精製、フラスコ内雰囲気や化合物の乾燥等を検討した。しかし、十分に改善されなかった。しかし、反応条件を変えて少量ずつ実験を繰り返した結果、最高26%の収率でカップリング生成物が得られた。さらに合成を進め、0.15 mgのCTX1Bが全合成できた。以前全合成した試料と合わせて、1H-NMRはもちろん、13C-NMRも世界で初めて測定することに成功した。更に、太平洋海域で起こる中毒の重要な原因毒の一つである54-deoxyCTX1Bを約0.1 mg全合成することに成功した。1H-NMRの完全帰属も達成した。以上合成したCTX1Bと54-deoxyCTX1Bは、世界中のシガテラ中毒の原因分析に役立つ貴重な標準試料となっている。

また、合成中間体を利用して作成した抗体を用いる免疫学的検定法(ELISA)を、酵素としてALPを用いて改良し、重要なシガトキシン類、CTX3Cを始め、51-hydroxyCTX3C、CTX1B、54-deoxyCTX1B等の検出感度を0.1 pg/mLまで向上させた。更にALP-蛍光法へと改良して、0.01 pg/mLの高感度でCTX類を検出することに成功した。これは、米国食品医薬品局(FAD)の中毒安全基準=10 pg/gの千倍の感度であり、十分に毒魚検定に使える感度である。現在、漁業者や衛生担当局で容易に使用できるようにキット化を企業と検討中である。中毒の予防に貢献する重要な成果に発展している。



1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

(2) 論文発表、国際会議等への招待講演における発表など（研究の発展過程でなされた研究成果の発表状況を記述してください。）論文発表：

Stereoselective 6-exo Radical Cyclization Using cis-Vinyl Sulfoxide: Practical Total Synthesis of CTX3C.

S. Yamashita, Y. Ishihara, H. Morita, J. Uchiyama, K. Takeuchi, M. Inoue, and M. Hirma, *J. Nat. Prod.*, **74**, 357-364 (2011).

A Comparative Study of the Effect of Ciguatoxins on Voltage-dependent Na⁺ and

K⁺ Channels in Cerebellar Neurons. S. Perez, C. Vale, E. Alonso, C. Alfonso, P. Rodriguez, P. Otero, A. Alfonso, P. Vale, M. Hirma, M. R. Vieytes, and L. M. Botana, *Chem. Res. Toxicol.*, **24**, 587-596 (2011).

Total Synthesis of Cortistatins A and J.

S. Yamashita, K. Iso, K. Kitajima, M. Himuro, and M. Hirma, *J. Org. Chem.*, **76**, 2408-2425 (2011) "Featured Article."

A Study on Mechanisms of Toxic Actions of Ciguatoxins: Existence of Functional

Relationship between CTX3C and Charged Residues of Voltage Sensors in Nav1.4 Sodium Channel. K. Yamaoka, M. Inoue, and M. Hirma, *Forensic Toxicol.* **29**, 125-131 (2011).

Stereoselective Synthesis of the Left Wing of Caribbean Ciguatoxin

S. Yamashita, R. Uematsu, and M. Hirma, *Tetrahedron*, **67**, 6616-6626 (2011).

Detailed LC-MS/MS Analysis of Ciguatoxins Revealing Distinct Regional and Species Characteristics in Fish and Causative Alga from the Pacific

K. Yogi, N. Oshiro, Y. Inafuku, M. Hirma, and T. Yasumoto, *Anal. Chem.* **83**, 8886-8891 (2011).

Development of Monoclonal Antibody Against the Left Wing of Ciguatoxin CTX1B: Thiol Strategy and Sandwich ELISA Detection

T. Tsumuraya, K. Takeuchi, S. Yamashita, M. Hirma, and I. Fujii, *Toxicol.*, **60**, 348-357 (2012).

The First Total Synthesis of Gravicycle

K. Ueda, I. Sato, and M. Hirma, *Chemistry Lett.*, **41**, 87-89 (2012).

Copper(II) Catalyzed *O*-Arylation of Tertiary Alcohols with Arylbismuth(III) Reagents: A Convenient System for Aryl Transfer.

S. Harada, D. Hayashi, I. Sato, and M. Hirma, *Synlett*, **23**, 405-408 (2012).

Total Synthesis of Aspercyclides A and B via Intramolecular Oxidative Diaryl Ether Formation.

T. Yoshino, I. Sato, and M. Hirma, *Organic Letters*, **14**, 4290-4292 (2012).

Total Synthesis of Complanadines A and B.

L. Zhao, C. Tsukano, Y. Takemoto, and M. Hirma, *Angew. Chem. Internat. Ed.*, **52**, 1722-1725 (2013).

Stereoselective Synthesis of Zoanthenol ABC-ring by Radical Strategy.

S. Yamashita, N. Suda, Y. Hayashi, and M. Hirma, *Tetrahedron Lett.*, **54**, 1389-1391 (2013).

Remote C-H Bond Functionalization of Androstane C-Ring: C12-Amination.

S. Yamashita, M. Himuro, Y. Hayashi, and M. Hirma, *Tetrahedron Lett.*, **54**, 1307-1308 (2013).

Concise synthesis of the tetracyclic framework of azadiradione: tandem radical cyclization route.

S. Yamashita, A. Naruko, T. Yamada, Y. Hayashi, and M. Hirma, *Chem. Lett.*, **42**, 220-221 (2013).

Solvent Mediated Tuning of the Regioselectivity of Intramolecular Diaryl Ether Formation:

Total Synthesis of (+)-Aspercyclide C. T. Yoshino, S. Yamashita, I. Sato, Y. Hayashi, and M. Hirma, *Chem. Lett.*, **43**, 349-351 (2014).

Differential effects of ciguatoxin and maitotoxin in primary cultures of cortical neurons.

V. Martin, C. Vale, A. Antelo, M. Hirma, S. Yamashita, M. Vieytes, and L. Botana, *Chem. Res. Toxicol.*, **27**, 1387-1400 (2014).

Synthetic Ciguatoxin CTX3C Induces a Rapid Imbalance in Neuronal Excitability.

V. Martin, C. Vale, M. Hirma, S. Yamashita, M. Vieytes, J. A. Rubiolo, M. R. Vieytes, and L. M. Botana, *Chem. Res. Toxicol.*, **28**, 1095-1108 (2015).

Chronic Ciguatoxin Treatment Induces Synaptic Scaling Through Voltage Gated Sodium Channels in Cortical Neron.

V. Martin, C. Vale, J. A. Rubiolo, M. Roel, M. Hirma, S. Yamashita, M. R. Vieytes, and L. M. Botana, *Chem. Res. Toxicol.*, **28**, 1109-1119 (2015).

Biomimetic Total Synthesis of Cyanosporaside Aglycons from a Single Eneidyne Precursor through Site-Selective p-Benzyne

Hydrochlorination. K. Yamada, M. J. Lear, T. Yamaguchi, S. Yamashita, I. D. Gridnev, Y. Hayashi, and M. Hirma, *Angew. Chem. Internat. Ed.*, **53**, 13902-13906 (2014).

Practical Route to the Left Wing of CTX1B and Total Syntheses of CTX1B and 54-deoxyCTX1B.

S. Yamashita, K. Takeuchi, T. Koyama, M. Inoue, Y. Hayashi, and M. Hirma, *Chem. Eur. J.*, **21**, 2621-2628 (2014).

Preparation of Anti-Ciguatoxin Monoclonal Antibodies Using Synthetic Haptens: Sandwich ELISA Detection of Ciguatoxins.

T. Tsumuraya, I. Fujii, and M. Hirma, *J. AOAC Internat.*, **97**, 373-379 (2014).

Total Synthesis of Avermectin B_{1a} Revisited. S. Yamashita, D. Hayashi, A. Nakano, and M. Hirma, *J. Antibiot.*, **69**, 31-50 (2016).

国際会議招待講演：

T. Tsumuraya, I. Fujii, and M. Hirma, Preparation of Anti-Ciguatoxin Monoclonal Antibodies and ELISA, THE INTERNATIONAL CHEMICAL CONGRESS OF PACIFIC BASIN SOCIETIES 2015, Hawaii, Dec. 17, 2015.

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）**(3) 研究費の取得状況（研究代表者として取得したもののみ）**

基盤研究（B）、期間：平成２３年度～２５年度、「シガトキシン同族体の網羅的合成とその基礎・応用研究」
研究費：19,890,000円

(4) 特別推進研究の研究成果を背景に生み出された新たな発見・知見

重要なシガトキシン類、CTX3C、51-hydroxyCTX3C、CTX1B、および54-deoxyCTX1Bを、0.01 pg/mLの超高感度で一度に検出できる免疫学的検定法(ELISA)開発することに成功した。これは、米国食品医薬品局（FAD）の中毒安全基準＝10 pg/gの千倍の感度であり、毒魚検定に使える感度である。現在、漁業者や衛生担当局でも容易に使用できるよう、簡便なキットを企業と協力して製作中である。中毒の予防に貢献する重要な成果に発展している。

2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況

特別推進研究の研究成果が他の研究者に活用された状況について、次の(1)、(2)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

(1) 学界への貢献の状況（学術研究へのインパクト及び関連領域のその後の動向、関連領域への関わり等）

国内外で、合成シガトキシン海産物中毒の原因特定に使われているほか、

1) First Toxin Profile of Ciguateric Fish in Madeira Arquipelago (Europe).

P. Otero, S. Perez, A. Alfonso, C. Vale, P. Rodriguez, N. N. Gouveia, N. Gouveia, J. Delgado, P. Vale, M. Hirama, Y. Ishihara, J. Molgo, and Luis M. Botana,
Anal. Chem., **82**, 6032-6039 (2010).

2) Detailed LC-MS/MS Analysis of Ciguatoxins Revealing Distinct Regional and Species Characteristics in Fish and Causative Alga from the Pacific. K. Yogi, N. Oshiro, Y. Inafuku, M. Hirama, and T. Yasumoto,
Anal. Chem. **83**, 8886-8891 (2011).

神経生理学研究すなわち「シガテラ中毒はなぜ起こるか？中毒のメカニズムは？」を明らかにする研究にも使われて、神経生理学の発展に貢献している。最近、以下の関連研究論文が発表されている。

1) A Comparative Study of the Effect of Ciguatoxins on Voltage-dependent Na⁺ and K⁺ Channels in Cerebellar Neurons. S. Perez, C. Vale, E. Alonso, C. Alfonso, P. Rodriguez, P. Otero, A. Alfonso, P. Vale, M. Hirama, M. R. Vieytes, and L. M. Botana,
Chem. Res. Toxicol., **24**, 587-596 (2011).

2) A Study on Mechanisms of Toxic Actions of Ciguatoxins: Existence of Functional Relationship between CTX3C and Charged Residues of Voltage Sensors in Nav1.4 Sodium Channel. K. Yamaoka, M. Inoue, and M. Hirama,
Forensic Toxicol. **29**, 125-131 (2011).

3) Differential effects of ciguatoxin and maitotoxin in primary cultures of cortical neurons. V. Martin, C. Vale, A. Antelo, M. Hirama, S. Yamashita, M. Vieytes, and L. Botana,
Chem. Res. Toxicol., **27**, 1387-1400 (2014).

4) Synthetic Ciguatoxin CTX3C Induces a Rapid Imbalance in Neuronal Excitability. V. Martin, C. Vale, M. Hirama, S. Yamashita, M. Vieytes, J. A. Rubiolo, M. R. Vieytes, and L. M. Botana,
Chem. Res. Toxicol., **28**, 1095-1108 (2015).

5) Chronic Ciguatoxin Treatment Induces Synaptic Scaling Through Voltage Gated Sodium Channels in Cortical Nerons. V. Martin, C. Vale, J. A. Rubiolo, M. Roel, M. Hirama, S. Yamashita, M. R. Vieytes, and L. M. Botana,
Chem. Res. Toxicol. **28**, 1109-1119 (2015).

2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況（続き）

(2) 論文引用状況（上位10報程度を記述してください。）

【研究期間中に発表した論文】

No	論文名・著者名・発行年・ページ数等	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	A Concise Synthesis of the Pentacyclic Framework of Cortistatins. S. Yamashita, K. Iso, and M. Hirama, <i>Organic Lett.</i> , 10 , 3413-3415 (2008).	コルチスタチン骨格の簡便な合成法を開発した。	56
2	Total Synthesis of Cortistatins A and J. S. Yamashita, K. Iso, K. Kitajima, M. Himuro, and M. Hirama, <i>J. Org. Chem.</i> , 76 , 2408-2425 (2011) "Featured Article."	コルチスタチン A および J の全合成を達成した。	36
3	Total Synthesis and Bioactivity of an Unnatural Enantiomer of Merrilactone A: Development of an Enantioselective Desymmetrization Strategy. M. Inoue, N. Lee, S. Kasuya, T. Sato, M. Hirama, M. Moriyama, and Y. Fukuyama, <i>J. Org. Chem.</i> , 72 , 3065-3075 (2007).	非天然型鏡像体のメリラクトンの全合成と生理活性を明らかにした。	36
4	First Toxin Profile of Ciguateric Fish in Madeira Archipelago (Europe). P. Otero, S. Perez, A. Alfonso, C. Vale, P. Rodriguez, N. N. Gouveia, N. Gouveia, J. Delgado, P. Vale, M. Hirama, Y. Ishihara, J. Molgo, and Luis M. Botana, <i>Anal. Chem.</i> , 82 , 6032-6039 (2010).	マデイラ諸島で発生したシガテラ中毒の原因毒を初めて明らかにした。	34
5	Ciguatera Incidence and Fish Toxicity in Okinawa, Japan. N. Oshiro, K. Yogi, S. Asato, T. Sasaki, K. Tamanaha, M. Hirama, T. Yasumoto, and Y. Inafuku, <i>Toxicon</i> , 56 , 656-661 (2010).	沖縄におけるシガテラ中毒の実態と原因毒を明らかにした。	29
6	Efficient and Stereoselective Installation of Isoquinoline: Formal Total Synthesis of Cortistatin A. S. Yamashita, K. Kitajima, K. Iso, and M. Hirama, <i>Tetrahedron Lett.</i> , 50 , 3277-3279 (2009).	立体選択的にイソキノリンを導入する方法を開発し、コルチスタチンの全合成に成功した。	27
7	Concise Total Synthesis of (±)-Lycodine. C. Tsukano, L. Zhao, Y. Takemoto, and M. Hirama, <i>Eur. J. Org. Chem.</i> , 4198-4200 (2010).	リコジンの簡単な合成法を開発した。	26
8	Total Synthesis of the Maduropeptin Chromophore Aglycon. K. Komano, S. Shimamura, M. Inoue, and M. Hirama, <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 129 , 14184-14186 (2007).	マデュロペプチンクロモフォアノの全合成に成功した。	23
9	Total Synthesis of Protected Aglycon of Kedarcidin Chromophore. K. Ogawa, Y. Koyama, I. Ohashi, I. Sato, and M. Hirama, <i>Angew. Chem. Int. Ed. (HIP)</i> , 48 , 1110-1113 (2009).	ケダルシジンの全合成を達成した。	22
10	Stereoselective 6-exo Radical Cyclization Using cis-Vinyl Sulfoxide: Practical Total Synthesis of CTX3C. S. Yamashita, Y. Ishihara, H. Morita, J. Uchiyama, K. Takeuchi, M. Inoue, and M. Hirama, <i>J. Nat. Prod.</i> , 74 , 357-364 (2011).	シガトキシン CTX3C の実用的な全合成法を開発した。	21

【研究期間終了後に発表した論文】

No	論文名	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	Detailed LC-MS/MS Analysis of Ciguatoxins Revealing Distinct Regional and Species Characteristics in Fish and Causative Alga from the Pacific K. Yogi, N. Oshiro, Y. Inafuku, M. Hirama, and T. Yasumoto, <i>Anal. Chem.</i> 83 , 8886-8891 (2011).	太平洋の魚に含まれるシガトキシンを LC-MS/MS 法を用いて解析した。	26
2	Total Synthesis of Compladines A and B. L. Zhao, C. Tsukano, Y. Takemoto, and M. Hirama, <i>Angew. Chem. Internat. Ed.</i> , 52 , 1722-1725 (2013).	コンプラナジン A および B の全合成に成功した。	19
3	Development of Monoclonal Antibody Against the Left Wing of Ciguatoxin CTX1B: Thiol Strategy and Sandwich ELISA Detection T. Tsumuraya, K. Takeuchi, S. Yamashita, M. Hirama, and I. Fujii, <i>Toxicon</i> , 60 , 348-357 (2012).	シガトキシン CTX1B の左半分を認識する抗体の作成法を開発した。	14
4	A Comparative Study of the Effect of Ciguatoxins on Voltage-dependent Na ⁺ and K ⁺ Channels in Cerebellar Neurons. S. Perez, C. Vale, E. Alonso, C. Alfonso, P. Rodriguez, P. Otero, A. Alfonso, P. Vale, M. Hirama, M. R. Vieytes, and L. M. Botana, <i>Chem. Res. Toxicol.</i> , 24 , 587-596 (2011).	ニューロンにおける電位依存性 Na および K チャンネルへのシガトキシンの作用の違いを明らかにした。	12
5	Total Synthesis of Aspercyclides A and B via Intramolecular Oxidative Diaryl Ether Formation. T. Yoshino, I. Sato, and M. Hirama, <i>Organic Letters</i> , 14 , 4290-4292 (2012).	アスペルサイクライドの全合成に成功した。	10
6	Stereoselective Synthesis of the Left Wing of Caribbean Ciguatoxin S. Yamashita, R. Uematsu, and M. Hirama, <i>Tetrahedron</i> , 67 , 6616-6626 (2011).	カリブ海産シガトキシンの左半分の合成法を開発した。	8
7	Stereoselective Synthesis of Zoanthenol ABC-ring by Radical Strategy. S. Yamashita, N. Suda, Y. Hayashi, and M. Hirama, <i>Tetrahedron Lett.</i> , 54 , 1389-1391 (2013).	ゾアンテノールの ABC 環部の新合成法を開発した。	5
8	Biomimetic Total Synthesis of Cyanosporaside Aglycons from a Single Eneidyne Precursor through Site-Selective p-Benzyl Hydrochlorination. K. Yamada, M. J. Lear, T. Yamaguchi, S. Yamashita, I. D. Gridnev, Y. Hayashi, and M. Hirama, <i>Angew. Chem. Internat. Ed.</i> , 53 , 13902-13906 (2014).	シアノスポラサイド類の統一的合成法を開発した。	4
9	Differential effects of ciguatoxin and maitotoxin in primary cultures of cortical neurons. V. Martin, C. Vale, A. Antelo, M. Hirama, S. Yamashita, M. Vieytes, and L. Botana, <i>Chem. Res. Toxicol.</i> , 27 , 1387-1400 (2014).	ニューロンに対するシガトキシンとマイトトキシンとマイトトキシンの作用の違いを明らかにした。	4
10	Preparation of Anti-Ciguatoxin Monoclonal Antibodies Using Synthetic Haptens: Sandwich ELISA Detection of Ciguatoxins. T. Tsumuraya, I. Fujii, and M. Hirama, <i>J. AOAC Internat.</i> , 97 , 373-379 (2014).	合成抗原を用いてシガトキシン抗体を作成する方法を開発した。抗体を用いるサンドイッチ ELISA 法を開発し、シガトキシンの高感度検出を可能にした。	4

3. その他、効果・効用等の評価に関する情報

次の(1)、(2)の項目ごとに、該当する内容について具体的かつ明確に記述してください。

(1) 研究成果の社会への還元状況（社会への還元の程度、内容、実用化の有無は問いません。）

重要なシガトキシン類、CTX3C、51-hydroxyCTX3C、CTX1B、および 54-deoxyCTX1B を、0.01 pg/mL の超高感度で一度に検出できる免疫学的検定法(ELISA)開発することに成功した。これは、米国食品医薬品局（FAD）の中毒安全基準=10 pg/g の千倍の感度であり、毒魚検定に使える感度である。

現在、漁業者や衛生担当局でも容易に使用できるよう、簡便なキットを企業と協力して製作中（実用化中）である。中毒の予防に貢献する重要な成果に発展している。

3. その他、効果・効用等の評価に関する情報（続き）

(2) 研究計画に関与した若手研究者の成長の状況（助教やポスドク等の研究終了後の動向を記述してください。）

研究終了時の助教が、研究終了後、すぐに講師に任用された。