

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：特別推進研究

研究期間：2004-2008

課題番号：16002007

研究課題名（和文） 生理活性発現分子機構に基づく生物活性物質の創製

研究課題名（英文） The Innovative Synthesis of Bioactive Molecules based on the Molecular Mechanism of Natural Products Activity

研究代表者

磯部 稔 (ISOBE MINORU)

名古屋大学・大学院生命農学研究科・名誉教授

研究者番号：00023466

研究成果の概要：

合成化学から生物有機化学までを統一概念とする独創的なところである。本研究で展開されるこれらの手法と結果の解析方法を、合理的分子設計にフィードバックすることは、分子科学においてアフィニティが著しく高い点で毒性物質として取り扱われるものの、活性発現の原理を理解すれば、比活性を下げることによって生体系と適当な平衡点を探することも可能となる。従って、ここで展開している分子科学は、創薬の基礎科学として位置づけることができる。合理的・論理的分子設計に基づく創薬の創製科学の基礎として社会に貢献するという意義も深い。また、純粋に生物有機化学としての価値も高い。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2004 年度	69,000,000	20,700,000	89,700,000
2005 年度	37,900,000	11,370,000	49,270,000
2006 年度	34,696,000	10,408,800	45,104,800
2007 年度	34,009,000	10,202,700	44,211,700
2008 年度	24,900,000	7,470,000	32,370,000
総計	200,505,000	60,151,500	260,656,500

研究分野：生物有機化学

科研費の分科・細目：理学・化学・複合領域：農学・製造学食品・生物有機化学

キーワード：生理活性発現分子機構・全合成・タンパク質分子修飾・相互作用

1. 研究開始当初の背景

「有機合成からケミカルバイオロジーまで」
新研究分野の展開

生理活性天然有機化合物について構造決

定・全合成・類縁活性体の化学合成に次いで、
作用発現の分子機構解明という総合的研究
分野が形成された。最近では生物有機化学を
基礎としてこれら生理活性天然有機化合物

の生物機能を、分子レベルで水素原子の位置までを特定してタンパク質分子との相互作用研究が超微量で実行可能となってきた。生理活性天然有機低分子と生体高分子の構造を相互に識別し合う分子間相互作用の基本原則を解明することは急務であり、かつ実現も夢ではなく目的とすることができるようになった。ChemicalBiology という領域名称は生物から化学まで広域にわたっているが、生物現象の多くは化学物質により情報伝達されることでうまく機能しており、その機能分子に重心を置いた生物分子科学と定義できよう。分子情報伝達は、生理活性物質とその標的タンパク質分子との複合体形成を鍵段階として引き起こされる。活性発現の場では、構造認識機構によって分子情報が伝達され、活性発現のカスケード機構が働いており、その分子（あるいは標識物質）を直接・間接に観察する方法論確立を目標とする。すでに研究代表者磯部は、未来開拓研究事業のプロジェクトリーダー（H8-12年度）及び、更に新領域として文科省科研費特別推進研究（H16-20年度）として、分子情報伝達のもとになる生理活性天然有機化合物がタンパク質巨大分子の中で果たす分子構造相互認識機構の役割と原則を解明する手法を確立した。この手法をさらに発展させ、有機合成をあわせて駆使して、活性の著しい天然有機化合物とタンパク質を模範とする分子間相互作用を解明し、究極的にはそこで明らかになった分子情報伝達の原則を創薬化学に利用する道を開拓することを目的とする。

2. 研究の目的

化学合成の目的 具体的には、標的タンパク質を同じくする天然有機化合物について、まず全合成ルートを完成し、それを改良しつつ、各種誘導体の合成ルートを確立す

る。全合成研究については、ナトリウムチャンネルを共通標的タンパク質とするきわめて構造の複雑なフグ毒テトロドトキシンの第2不斉全合成、シガトキシンの全合成を目的また化学合成を主たる手段として、抗マラリア作用物質マリングマイドや嘔吐毒セレウリドの構造と機能についても目的とした。

合成類縁体を用いた標的タンパク質への作用解析 すでに全合成を完成し標的タンパク質との相互作用研究を進めたものは、(1) タンパク質脱リン酸酵素とその阻害剤トーマイシン・オカダ酸、(2) 発光タンパク質とその発光基質、などである。さらに(3) 昆虫休眠覚醒に関与する時間読みタンパク質(TIME-EA4)と調節ペプチド(PIN)の、タンパク質-基質小分子についての相互作用を、アナログを用いたタンパク質分子修飾法で解明することを目的とした。

標的タンパク質への作用解析手法の開発 解析手法の開発自身をも本研究の目的とした。すなわち、天然物類縁体・誘導体・標識体などを合成し、これらを標的タンパク質に作用させ、その本来の活性を測定確認した上で、活性発現時に標的タンパク質を酸化修飾しその修飾位置を特定する手法を開発する。さらにタンパク質の三次元構造上で、修飾位置から活性物質の結合位置・活性中心を決定することを目的とした。場合によっては、この結果をもとにフィードバックしてより有効な分子設計・合成・生物活性・タンパク質結合・タンパク質修飾を繰り返すことにより、天然よりも高機能な分子を創製する。

3. 研究の方法

研究代表者は、合成と解析を総合的に進めた。研究分担者等はそれぞれの専門分野に置

いて、合成・生物活性・タンパク質機能・部位特異的修飾などから協力した。

(1) 磯部・西川・濱島 は、フグ毒で有名な麻痺性食中毒原因物質テトロドトキシン (TTX) の世界初の不斉全合成を達成している (*J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 8798) が、本研究ではさらに各種類縁体・デオキシ TTX の合成、第 2 段の不斉全合成を完成 (*Angew. Chem. Int. Ed.* 2004, 43, 4782; *Chem. Asian J.* 2006, 1-2, 125) した。

シガトキシンの作用については、オカダ酸と交叉抗体作用があるという Hokama らとの共同研究 (*J. Clin. Lab. Analy.* 1992, 6, 54) がきっかけの一つとなり、シガトキシンの側鎖を含む ABC フラグメントがチャネルタンパク質に TTX と拮抗的に作用することを見つけた (*J. Clin. Lab. Analy.* 2006, 20, 126)。

(2) 磯部・濱島は、シガトキシン CTX (シガテラ毒の本体であり、作用様式は異なるものの TTX と同じナトリウムチャネルタンパクを標的タンパク質とする) の全合成について本プロジェクトの中核に位置づけて努力を重ね、2008.9 にその全合成を達成した (*Angew. Chem. Int. Ed.* 2009, 48, 2941)。

(3) 磯部・安立は、セレウリド (*B. Cereus* 菌の生産する 36 員環状デブシペプチドで、嘔吐毒性を持ち乳製品を汚染する) の合成を改良し、異方性効果金属 Eu イオンを用い NMR による解析法および X-線結晶解析を総合した手法を開発した。類似イオノフォア・バリノマイシンとも比較しその 3 次元構造と生物機能の差を解明した。下痢性食中毒物質セレウリドの合成と機能を解明した (*Chem. Asian J.* 2009, *in press*)。

(4) 磯部・Sydnes・高井は、下痢性貝毒オカダ酸 OKA の 2 型タンパク質脱リン酸酵素阻害剤と 1 型酵素阻害剤トートマイシン TTM について、タンパク質との相互作用解析のために設計した多数の TTM 光親和性標識体・蛍光標識体・4 炭素原子を 100%¹³C で標識した化合物・第 2 世代光親和性標識体など 20 種類以上の類縁体を合成した (*Tetrahedron* 2007, 63, 2593)。実際にタンパク質脱リン酸酵素 PP1g との相互作用解析を行い、さらに天然 TTMDA よりも阻害活性が 50%程度強い類縁体を創製した。

下痢性貝毒でありタンパク質脱リン酸酵素 2 型阻害剤であるオカダ酸および同 1 型選択的阻害剤トートマイシンの水溶液中の屈曲型コンフォメーションについてはすでに NMR 法で決定している。さらに蛍光自己消光法でも確認した (*Chem. Lett.* 2004, 33, 452)。このコンフォマーはタンパク質中では有効ではないと考え、TTM の 4 炭素原子を 100% ¹³C で標識し多化合物で詳細を研究した (*Chem. Asia J.* 2007, 2, 377)。タンパク中に於ける分子形状について質量分析を用いて研究を進めた (*Bioorg. Med. Chem.* 2008, 16, 1747)。

(5) 磯部・久世・谷は、発光タンパク質シンプレクチンの基質として、天然型デヒドロセレンテラジンと異なる分子対応を示す分子を設計し、セレンテラジンの類縁体を多数合成した。これらの類縁体の発光能・発光阻害機能・発光基質分子上に発生する立体化学についての動的不斉という概念を導入して、その発光機構を解明することに成功した。

トビイカ発光タンパク質シンプレクチンとその発光素子間相互作用について詳

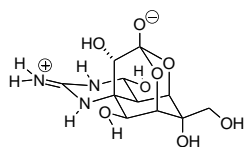
細な分子機構を解明し、特に天然より発光能の強い素子を創製した (*Proc. Jpn. Acad., Ser. B.* 2008, 84, 386)。

(6) 磯部・甲斐・谷は、昆虫卵休眠覚醒における時間読みタンパク質とその調節ペプチドの測時機構の研究 (*J. Insect Physiology* 2006, 52, 461)を推進した。金属・糖タンパク質分子の動的なコンフォメーション変化を、銅イオンのリガンド変化を読みとる方法 (位置選択的な酸化修飾と Nano-LC-ESI-Q-TOF-MS、MS/MS法によって修飾アミノ酸の位置を決定して、半定量的にその変化を追跡する方法 (*J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 9268)をもとに改良した。測時機構がタンパク質分子のコンフォーマーに対応しているという作業仮説をたて、これまでにその妥当性を示す結果を得ている (*Chem BioChem.* 2006, 7, 1590)。

(7) 磯部・Sunthornchachawaj は、抗マalaria 活性物質マリंगाマイドの立体構造決定 (*Chem. Asian J.* 2007, 2, 114)と全合成 (*Tetrahedron* 2007, 63, 3217)を完成した。

4. 研究成果

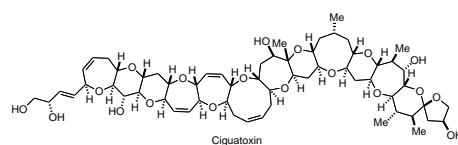
(1) フグ毒テトロドトキシン (TTX) の全合成 フグ毒で有名な麻痺性食中毒原因物質テトロドトキシン (TTX) の全合成は、すでに世界初の不斉全合成を達成している (*J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 8798) が、本研究では各種類縁体・デオキシ TTX の合成、第2段の不斉全合成を完成 (*Angew. Chem. Int. Ed.* 2004, 43, 4782; *Chem. Asian J.* 2006, 1-2, 125) した。



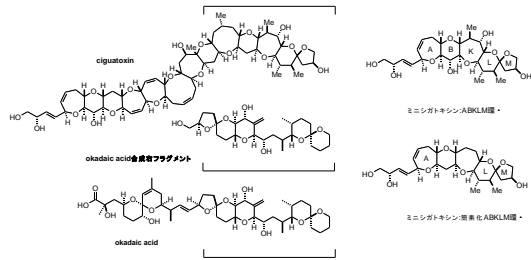
ふぐ毒テトロドトキシンの構造

(2) シガトキシン (CTX) の全合成と作用

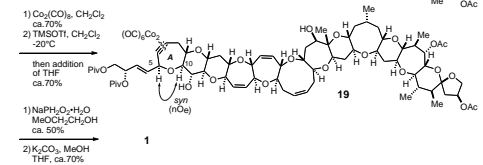
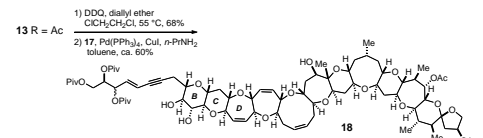
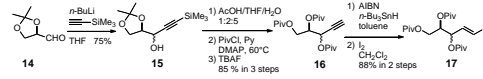
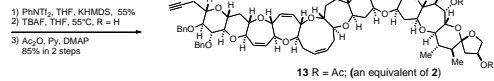
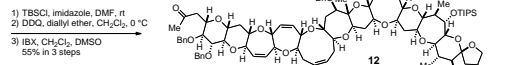
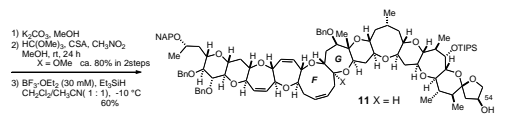
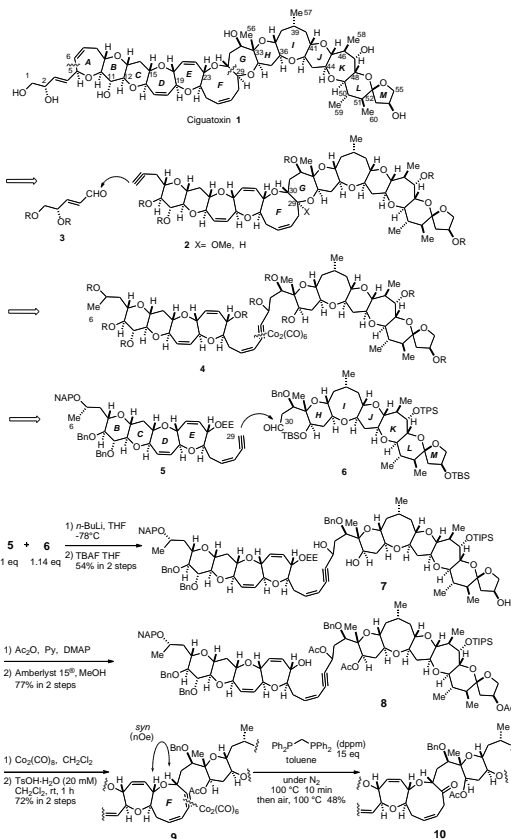
シガトキシン CTX はシガテラ毒の本体であり、作用様式は異なるものの TTX と同じナトリウムチャンネルタンパクを標的タンパク質とする。CTX の全合成については、本プロジェクトの中核に位置づけて努力を重ね、2008.9 にその全合成を達成した (*Angew. Chem. Int. Ed.* 2009, 48, published on-line, Mar 17, 2009)。



シガトキシンの作用については、オカダ酸と交叉抗体作用があるという Hokama らとの共同研究 (*J. Clin. Lab. Analy.* 1992, 6, 54) がきっかけの一つとなり、シガトキシンの側鎖を含む ABC フラグメントがチャンネルタンパク質に TTX と拮抗的に作用することを見つけた (*J. Clin. Lab. Analy.* 2006, 20, 126)。Hawaii 大学の Hokama 教授との共同研究によって、シガトキシン右端部が抗体認識に重要であるという事、シガトキシン C4 の側鎖をふくむ左端 AB 環部分が、ナトリウムチャンネルとの相互作用に重要である事がわかった。そこで生物有機化学的研究を推進するために、新たに下図のミニシガトキシンを分子設計し合成を完成した。さらに、¹³C 化合物などチャンネルタンパク質を部位特異的に酸化するプローブをもつミニシガトキシン類を活用した生物有機化学的な研究を進めたい。

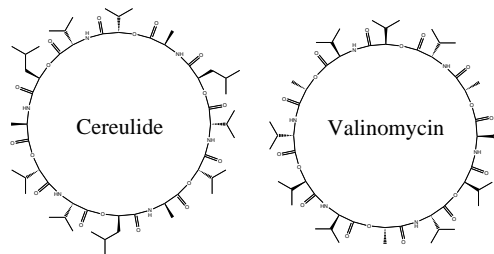


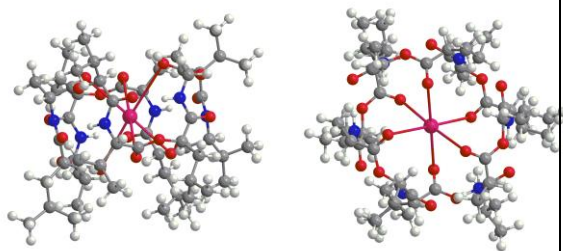
シガトキシキン抗体はオカダ酸右端部と免疫交叉活性を示す。ミニシガトキシキンの設計



(3) セレウリドの化学合成と 3 次元構造・生物機能

セレウリドは、*B. Cereus* 菌の生産する 36 員環状デプシペプチドで、嘔吐毒性を持ち乳製品を汚染する。天然型合成を改良し類縁体の合成を行った。異方性効果の強い Eu イオンを用いた NMR 解析および X-線結晶解析を用いて、バリノマイシンとも比較しその 3 次元構造と生物機能を解明した。





セレウリドとバリノマイシンはきわめて似た構造をもちともにK⁺イオノフォア活性を示す。

セレウリドと似た構造をデプシペプチドであるバリノマイシンは、抗生物質として作用する。質量分析を用いて、天然にはバリノマイシンアナログが多く含まれていることも明らかにしてきた。いずれもイオノフォア活性を持つのに一方は嘔吐毒（セレウリド）でもう一方は抗生物質である。この違いは何に起因するのかをNMRを用いて解析した。

セレウリドは嘔吐毒であるが、バリノマイシンには嘔吐毒性は全く見られない。その3次元構造はNMRと計算機化学によるコンフォメーションから、きわめて類似した高次構造であることが推定されていた (Suwan, S.; Isobe, M.; Ohtani, I.; Agata, N.; Mori, M.; Ohta, M. *J. Chem. Soc. Perkin Transactions 1* (Org. Chem.) 1995, #7, 765)。本研究中に行ったそれらのX線結晶解析から、計算機化学による高次構造が正しいことが証明された。セレウリドはバリノマイシンの高位同族体であるが、それがミトコンドリア膜に作用する決定的な差異となるかを検討した。

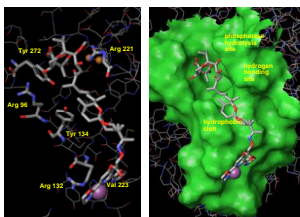
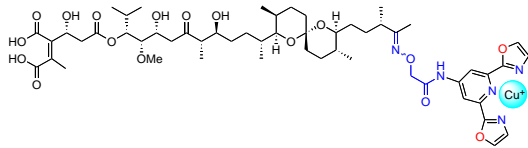
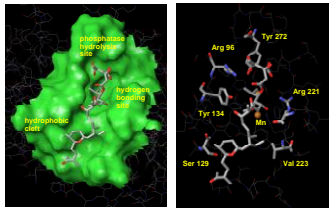
その結果、セレウリドとバリノマイシンはほぼ同一の高次構造をとっていることがわかるが、類似の置換基を優先して配列して比較すると、両者は鏡像体の関

係にあることがわかる。さらに詳細な比較をするために、異方性効果の強いユーロピウム Eu を用いてNMRを測定し、その濃度変化から観測される化学シフト差を求めた。この方法で化学シフト変化の大きいシグナルのプロトンは Eu に接近していることを示す。低濃度では上図のように Eu は中央の穴の中に位置し、構成オキシ酸の不斉炭素原子の化学シフトに選択的变化をもたらした。高濃度では優先配位する位置が異なることがわかる。

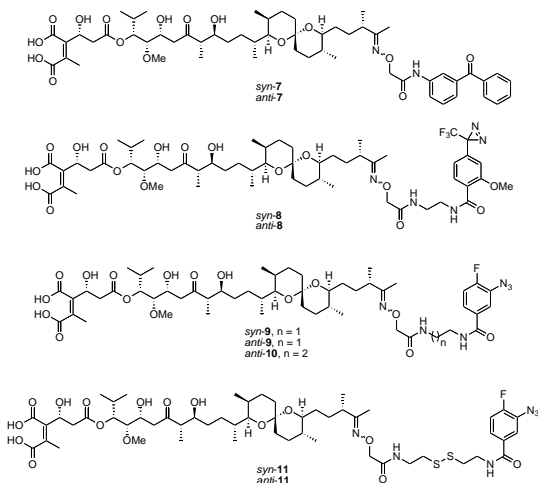
また、本来のカリウムイオンをNMRによって取り込む濃度を求めたところ、上図のようにセレウリドの方がより低濃度でカリウムイオンを取り込むことからイオノフォア活性がそれだけ強いということがかかった。以上をまとめると「毒か薬か」という疑問には、高次構造の絶対立体配置が鏡像対関係にあること、イオノフォア活性はセレウリドの方が低濃度で示されたこと、などがその理由であると結論した。

(4) タンパク質脱リン酸酵素阻害

下痢性貝毒でありタンパク質脱リン酸酵素2型阻害剤であるオカダ酸および同1型選択的阻害剤トートマイシンの水溶液中の屈曲型コンフォメーションについてはすでにNMR法で決定している。さらに蛍光自己消光法でも確認した (*Chem. Lett.* 2004, 33, 452)。このコンフォマーはタンパク質中では有効ではないと考え、TTMの4炭素原子を100% ¹³Cで標識し多化合物で詳細を研究した (*Chem. Asia J.* 2007, 2, 377)。タンパク中に於ける分子形状について質量分析を用いて研究を進めた (*Bioorg. Med. Chem.* 2008, 16, 1747)。

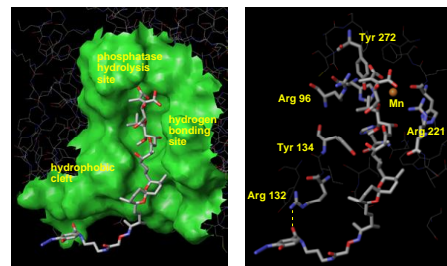


オカダ酸 OKA は下痢性貝毒であるが、その後 2 型のタンパク質脱リン酸酵素阻害剤と同定された。一方、トートマイシン TTM は 1 型阻害剤である。タンパク質との相互作用のために設計した多数の TTM 光親和性標識体・蛍光標識体・4 炭素原子を 100%¹³C で標識した化合物・第 2 世代光親和性標識体など 20 種類以上の類縁体を合成した (*Tetrahedron* 2007, 63, 2593)。実際にタンパク質脱リン酸酵素 PP1 との相互作用解析を行った。



各種光親和性標識体を結合したトートマイシンジカルボン酸

タンパク質脱リン酸酵素とその阻害では、トートマイシンアナログに Pybox プロープを取り付けて、酸化修飾によりフッ素 (PP1g) を修飾する。その酸化修飾部位をイオントラップ型質量分析装置、nanoLC-ESI-Q-TOF-MS、MS/MS 質量分析で特定した。オカダ酸・カリキュリン、ミクロシスチンの 3 者との 1 型タンパク質脱リン酸酵素複合体の X 線結晶構造は報告されているが、トートマイシンだけが結晶しない。Calycurin と 1 型タンパク質脱リン酸酵素複合体の結晶構造を参考に同じ部位にはまり込んでいると仮定した計算機化学による推定構造が上図 (左) である。



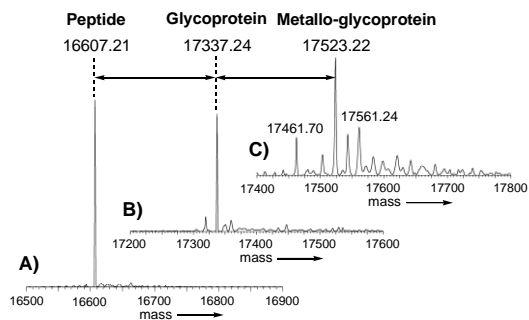
標識体の結合部分と相互作用するタンパク質脱リン酸酵素

タンパク質分子中では、活性型のトートマイシンジカルボン酸の水溶液中での安定なコンフォメーションではフィットしないことから別の形をしていると考えられる。すでに光親和性トートマイシン誘導体を数種合成しているので、これらを用いてイオントラップ質量分析および MS/MS によるタンパク質分子中の分子形状をした。

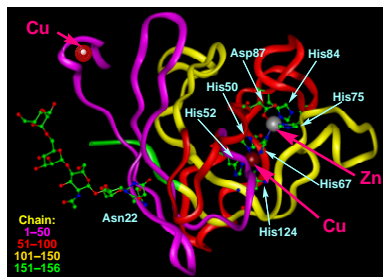
脱リン酸酵素阻害活性についても、ホタルルシフェリンフオスフェートを基質として、生成するベキルシフェリン量の減衰を観測する方法を発表しているが、それをさらに高感度化することと、従来

Chem. Soc. 2001, 123, 9268) をもとに改良した。測時機構がタンパク質分子のコンフォーマーに対応しているという作業仮説をたて、これまでにその妥当性を示す結果を得ている (*Chem BioChem.* 2006, 7, 1590)。

カイコ休眠覚醒における時間読みタンパク質 TIME-EA4 と調節ペプチド PIN に関する研究では、タンパク質コア部分が CuZn 型 SOD(Superoxide Dismutase) とほぼ完全に一致することに対して、相同性の低い 1-40, 90-104 は、3次元構造では一面を形成し、その中央部分から調節ペプチドの結合に必要な糖鎖を伸ばし、さらに第2の Cu イオンを持つことがわかった (一部 *ChemBioChem* にて報告)。



時計タンパク質が金属を取り込んだ質量分析 (左) : 大腸菌で発現した時間読みタンパク (糖鎖を持たない) は、銅イオン 2 個と亜鉛イオン 1 個をふくむが、測時機能は示さない。



時計タンパク質の時間読み始めの 3D 構造 (計算機による)

この第2の銅イオンのリガンドとなるヒス

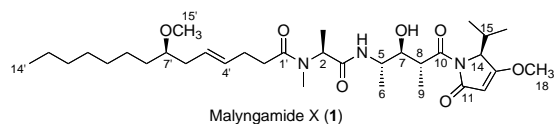
チジン等を、ピンポイント酸化修飾法で探索したところ、被酸化ヒスチジンは時間経過に伴っていくつかに分散することがわかった。測時機能は、糖鎖と PIN ペプチドとの強い相互作用によるタンパク質分子のフォールディングが必要であり、逆時計回りに 12 日単位のところで固定される。低温刺激により PIN ペプチドが抜け落ちると、アポタンパク質はより構造の安定なコンフォメーションに移行して、最後の安定型コンフォーマーが遺伝子発現を刺激するものと推定した。このため、時間経過により酸化修飾を受けるヒスチジンの位置が変化していくことが説明でき、コンフォメーションが一通りでなく、変化を続けることが時間読みの本質に関連することがわかった。

TIME-PIN の結合に糖鎖が不可欠であることを証明した後、各種休眠品種のカイコ卵から時間読みタンパク質を精製しその糖鎖構造を比較検討した。その結果、糖鎖は 5 糖および 4 糖で、4 糖に直線型・枝葉型の 2 種類、すなわち全部で 3 種類の糖鎖構造があることがわかった。時間読み機構から、この多様性は休眠間発達の時間に影響するため、孵化プログラムに影響を及ぼすものと推定できる。

(7) 抗マラリア活性物質マリंगाマイドの合成と機能

抗マラリア活性物質マリंगाマイド X の立体構造 (*Chem. Asian J.* 2007, 2, 114) と全合成 (*Tetrahedron* 2007, 63, 3217) を完成した。NMR 測定によりキラル溶質を用いることによって、遠隔位にある不斉炭素原子の絶対立体配置を決定し、両鏡像体を合成することを含めて、マリंगाマイド X は従来型とは逆の 7' R であり初

めでの例であることを証明した。



まとめ

合成化学から生物有機化学までを統一概念とする独創的なところである。本研究で展開されるこれらの手法と結果の解析方法を、合理的分子設計にフィードバックすることは、分子科学においてアフィニティが著しく高い点で毒性物質として取り扱われるものの、活性発現の原理を理解すれば、比活性を下げることで生体系と適当な平衡点を探すことも可能となる。従って、ここで展開している分子科学は、創薬の基礎科学として位置づけることができる。合理的・論理的分子設計に基づく創薬の創製科学の基礎として社会に貢献するという意義も深い。また、純粋に生物有機化学としての価値も高い。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 75 件)

1. Syntheses of N-Acylisoxazolidine Derivatives, related to a partial structure found in Zetekitoxin AB, a golden frog poison. Nishikawa, T.; Urabe, D.; Isobe, M. *Heterocycles*, 2009, 79, 379-385.
2. Differentiation of Coelenteramide Sulfates from Phosphates by means of Hydrogen/Deuterium Exchange with Ion Trap Mass Spectrometry. Doi, I.; Kuse, M.; Nakashima, Y.; Tani, N.; Isobe, M. *JMSS* 2009, 57, 89-95.
3. Total Synthesis of Ciguatoxin. Hama-jima, A.; Isobe, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2009, 48, 2941-2945.
4. Higher Structure of Cereulide, an emetic toxin from *Bacillus cereus*, with special comparison with Valinomycin, an antibiotic from *Streptomyces fulvissimus*. Makarasen, A.; Yoza, K.; Isobe, M. *Chem. Asian J.* 2009, *in press*.
5. Novel Stereocontrolled Synthesis of Highly-functionalized Cyclobutanes by Epoxide Opening through a Carbanion Intermediate in Heteroconjugate Addition. Adachi, M.; Yamauchi, E.; Komada, T.; Isobe, M. *Synlett.* 2009, 1157-1161.
6. Molecular Heterogeneity of TIME-EA4, a Timer Protein in Silkworm Diapause Eggs. Suthasinee Pitchayawasin-Thapphasaraphong, Naoki Tani, Minoru Isobe, Hidenori Kai, Takuya Kurahashi, Junko Kato, Saikwan Trisunan, *Biochem. Biosciences and Biotechnology. In press.*
7. Synthesis of four Lysine-linked cereulide analogs showing K⁺ ionophoric activity as lead compounds for emetic toxin-detection by immunoassays. Makarasen, A.; Nishikawa, T.; Isobe, M. *Synthesis*, *in press*.
8. ¹H NMR Aided Elucidation of Products Derived from Photodegradation of Ethyl 3-azido-4,6-difluorobenzoate

- in 2,2,2-Trifluoroethanol. Sydnese, M. O.; Kuse, M.; Doi, I.; Isobe, M. *Tetrahedron*, 2009, *65*, 3863-3870.
9. Selective protein modification by the hydroperoxide intermediate in a photoprotein, aequorin. Issei Doi, Masaki Kuse, Toshio Nishikawa and Minoru Isobe, *Bioorg. Med. Chem.*, *17*, 3399-3404.
 10. Makarasen, A.; Kuse, M.; Nishikawa, T.; Isobe, M. Substituent effect of imino-*O*-arenesulfonates, a coupling partner in Suzuki-Miyaura Reaction for substitution of the Pyrazine Ring: A Study for the Synthesis of Coelenterazine Analogs. *Bulletin of Chemical Society of Japan*. *In press*.
 11. Protein Phosphatase Inhibitory Activity of Tautomycin Photoaffinity Probes Evaluated at Femto-molar Level. Magne O. Sydnes, Masaki Kuse, Masakuni Kurono, Aya Shimomura, Hiroshi Ohinata, Akira Takai and Minoru Isobe, *Bioorg. Med. Chem.* 2008, *16*, 1747-1755.
 12. Synthesis of N-Hydroxyenamide, a potential precursor of chartelline. Kajii, S.; Nishikawa, T.; Isobe, M. *Tetrahedron Lett.*, 2008, *49*, 594-597.
 13. One-Pot Reductive Monoalkylation of Nitro Aryls with Hydrogen over Pd/C. Sydnese, M. O.; Isobe, M. *Tetrahedron Lett.*, 2008, *7*, 1199-1202.
 14. Reductive monoalkylation of nitro aryls in one-pot. Sydnese, M. O.; Kuse, M.; Isobe, M. *Tetrahedron*, 2008, *64*, 6406-6414. 63.
 15. Synthetic Studies and biosynthetic considerations on marine alkaroid chartelline. Nishikawa, T.; Kajii, S.; Isobe, M. *Chem. Communic.* 2008, 3121-3123.
 16. Cysteine 390 is the binding site of symplectin, a photoprotein of Okinawan luminous squid, *Symplectoteuthis oualaniensis*. Isobe, M.; Kuse, M.; Tani, N.; Fujii, T.; Matsuda, T. *Proc. Jpn. Acad., Ser. B*. 2008, *84*, 386-392.
 17. Regioselectivity of Larock indol synthesis using functionalized alkynes. Sugino, K.; Yoshimura, H.; Nishikawa, T.; Isobe, M. *Biosci. Biotech. Biochem.* 2008, *72*, 2092-2102.
 18. Malyngamide X: The First (7*R*)-Lyngbic Acid that Connects to a New Tripeptide Backbone from the Thai Sea Hare *Bursatella leachii*. Suntornchashweij, S.; Suwanborirux, K.; Koga, K.; Isobe, M. *Chem. Asian J.* 2007, *2*, 114-122.
 19. Synthesis of [18, 19, 21, 22-¹³C₄]-Labeled Tautomycin as an NMR probe of protein phosphatase inhibitor. Isobe, M.; Kurono, M.; Tsuboi, K.; Takai, A. *Chem. Asia J.* 2007, *2*, 377-385.
 20. Geldanamycin derivatives and neuroprotective Effect on Cultured P19-derived neurons. Sarin Tadtong, S.; Meksuriyen, D.; Tanasupawat, S.; Isobe, M.; Suwanborirux, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007, *17*, 2939-2943.

21. Total synthesis of malyngamide X and its 7' S-*epi*-Isomer. Suntornchashwej, S.; Suwanborirux, K.; Isobe, M. *Tetrahedron* 2007, 63, 3217-3226.
22. Synthesis of the second generation photoaffinity probes of tautomycin. Sydnese, M. O.; Isobe, M. *Tetrahedron* 2007, 63, 2593-2603.
23. Synthesis of Symmetric HIJ-ring model of Ciguatoxin. Nonomiya, A.; Hamajima, A.; Isobe, M. *Tetrahedron* 2007, 63, 5886-5894.
24. Determination of Solvent-Trapped Products Obtained by Photolysis of Aryl Azides in 2,2,2-Trifluoroethanol. Sydnese, M. O.; Doi, I.; Ohishi, A.; Kuse, M.; Isobe, M. *Chem. Asian J.*, 2007, 3, 102-112.
25. Convergent Synthesis of the Right-Hand Segment of Ciguatoxin. Hamajima, A.; Isobe, M. *Org. Lett.* 2006, 8(#6), 1205-1208.
26. Synthesis of β -analogues of C-mannosyltryptophan, a novel C-glycosylamino acid found in proteins. Nishikawa, T.; Koide, Y.; Kanakubo, A.; Yoshimura, H.; Isobe, M. *Org. Biol. Chem.* 2006, 4, 1268-1277.
27. Synthesis of Urea-Tethered Neoglycoconjugates and Pseudooligosaccharides in Water. Ichikawa, Y.; Matsukawa, Y.; Isobe, M. *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128(#12), 3934-3938.
28. Novel Functional Group Transformation from Acetylene Cobalt Complex to Ketone via Ligand Exchange. Hamajima, A.; Nakata, H.; Goto, M.; Isobe, M. *Chem. Lett.* 2006, 35(#4), 464-465.
29. An Efficient Total Synthesis of Optically Active Tetrodotoxin from Levoglucosenone. Urabe, D.; Nishikawa, T.; Isobe, M. *Chem. Asian J.* 2006, 1-2, 125-135.
30. The Molecular Mechanism of the Termination of Insect Diapause, Part 1: A Timer Protein, TIME-EA4, in the Diapause Eggs of the Silkworm *Bombyx mori* is a Metallo-Glycoprotein. Isobe, M.; Kai, H.; Kurahashi, T.; Suwan, S.; Pitchayawasin-T. S.; Franz, T.; Tani, N.; Higashi, K.; Nishida, H. *Chem BioChem.* 2006, 7, 1590-1598.
31. Biological Activity of the Functional Epitope of Ciguatoxin Fragment AB on the Neuroblastoma Sodium Channel in Tissue Culture. Hokama, Y.; Chun, K. E.; Campora, C. E.; Higa, N.; Suma, C.; Hamajima, A.; Isobe, M. *J. Clinical Laboratory Analysis* 2006, 20, 126-132.
32. One-pot transformation of trichloroacetamide into readily deprotectable carbamates. Nishikawa, T.; Urabe, D.; Tomita, M.; Tsujimoto, T.; Iwabuchi, T.; Isobe, M. *Org. Lett.* 2006, 8, 3263-3265.
33. Antifungal Azaphilones from the Fungus *Chaetomium cupreum* CC3003. Kanokmedhakul, S.; Kanokmedhakul, K.; Nasomjai, P.; Louangsysouphanh, S.; Soyong, K.; Isobe, M.; Kongsaree,

- P. ; Prabhpai, S. ; Suksamrarn, A. *J. Nat. Prod.* 2006, *69*, 891-895.
34. Time-measurement-regulating peptide PIN may alter a timer conformation of Time Interval Measuring Enzyme (TIME). Ti, Xiaonan; Tani N. ; Isobe, M. ; Kai, H. *J. Insect Physiology* 2006, *52*, 461-467.
35. Syntheses of Naturally Occurring Terphenyls and Its Related Compounds. Sawayama, Y. ; Tsujimoto, T. ; Sugino, K. ; Nishikawa, T. ; Isobe, M. ; Kawagishi, H. *Biosci. Biotech. Biochem.* 2006, *70*(#12), 2998-3003.
36. Molecular Diversity of Valinomycin, a 36-Membered Cyclic Depsipeptide, Which was Detected by Means of HPLC-Q-TOF-MS on Hydrolysate Dipeptides. Pitchayawasini-Thapphasaraphong, S. ; Isobe, M. *ITE Letters on Batteries, New Technologies & Medicine* 2006, *7*, 465-473.
37. Synthesis of Urea-Tethered Disaccharides in Water. Ichikawa, Y. ; Matsukawa, Y. ; Tamura, M. ; Ohara, F. ; Isobe, M. ; Kotsuki H. *Chem. Asian J.* 2006, *1*, 717-723.
38. Synthesis of α -analogues of C-mannosyltryptophan, a novel C-glycosylamino acid found in proteins. Nishikawa, T. ; Koide, Y. ; Kanakubo, A. ; Yoshimura, H. ; Isobe, M. *Org. Biomol. Chem.* 2006, *4*, 1268-1277.
39. Stereocontrolled Route to Vicinal Diamines by [3.3] Sigmatropic Rearrangement of Allyl Cyanate: Asymmetric Synthesis of anti-(2R, 3R)- and syn-(2R, 3S)-2, 3-Diaminobutanoic Acids. Ichikawa, Y. ; Egawa, H. ; Ito, T. ; Isobe, M. ; Nakano, K. ; Kotsuki, H. *Org. Lett.* 2006, *8*(#25), 5737-5740.
40. Tetrabromohydroquinone and riboflavin are possibly responsible for green luminescence in the luminous acorn worm, *Ptychodera flava*. Kanakubo, A. ; Koga, K. ; Isobe, M. ; Yoza, K. *Luminescence* 2005, *20*, 397-400.
41. Regioselective hydrosilylation of terminal acetylenes via acetylene-Co₂(CO)₄dppm complex; effects of the ligands in acetylenedicobalt complex. Tojo, S. ; Isobe, M. *Tetrahedron Lett.* 2005, *46*, 381-384.
42. Stereocontrolled Synthesis of the Oxabicyclo[2.2.1]heptane Segment of Solanoecepin A. Tojo, S. ; Isobe, M. *Synthesis* 2005, *No. 8*, 1237-1244.
43. Stereocontrolled syntheses of α -C-mannosyltryptophan and its analogues. Nishikawa, T. ; Koide, Y. ; Kajii, S. ; Wada, K. ; Ishikawa, M. ; Isobe, M. *Org. Biomol. Chem.* 2005, *3*, 687-700.
44. Synthesis of Silylallene Glycosides and Diene Diglycosides by C-Glycosidation of D-Glucal with 1,4-Bis(trimethylsilyl)-2-butyne. Saeeng, R. ; Isobe, M. *Org. Lett.* 2005, *7*(#8), 1585-1588.
45. Isolation of brominated quinones

- showing chemiluminescence activity from luminous acorn worm, *Ptychodera flava*. Kanakubo, A.; Isobe, M. *Bioorg. Med. Chem.* 2005, 13, 2741-2747.
46. Novel Synthetic Route of Coelenterazines-2-synthesis of Various Dehydrocoelenterazine Analogs. Kondo, N.; Kuse, M.; Mutarapat, T.; Thasana, N.; Isobe, M. *Heterocycles* 2005, 65(#4), 843-856.
47. Synthesis of azide-fluoro-dehydrocoelenterazine analog as a photoaffinity-labeling Probe and Photolysis of azide-fluoro-coelenterazine. Kuse, M.; Doi, I.; Kondo, N.; Kageyama, Y.; Isobe, M. *Tetrahedron* 2005, 61, 5754-5762.
48. Allyl Cyanate-to-isocyanate Rearrangement for the Synthesis of Quaternary Stereocenter with Nitrogen Substituent. Ichikawa, Y.; Yamauchi, E.; Isobe, M. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2005, 69(#5), 939-943.
49. Action of aluminum, novel TPC1-type channel inhibitor, against salicylate-induced and cold-shock-induced calcium influx in tobacco BY-2 cells. Lin, C.; Yu Y.; Kadono, T.; Iwata, M.; Umemura, K.; Furuichi, T.; Kuse, M.; Isobe, M.; Yamamoto, Y.; Matsumoto, H.; Yoshizuka, K.; Kawano, T. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005, 332, 823-830.
50. Hectochlorin and Morpholine Derivatives from the Thai Sea Hare, *Bursatella leachii*. Suntornchashwej, S.; Chaichit, N.; Isobe, M.; Suwanborirux, K. *J. Nat. Prod.* 2005, 68, 951-955.
51. Total synthesis of Glycosinnamoylsperimidin D. Nishiyama, T.; Ichikawa, Y.; Isobe, M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2005, 44, 4372-4375.
52. Synthesis of (+)-Conagenin. Matsukawa, Y.; Isobe, M.; Kotsuki, H.; Ichikawa, Y. *J. Org. Chem.* 2005, 70(#13), 5339-5341.
53. Stereoselective Allyl Amine Synthesis through Enantioselective Addition of Diethylzinc and [1,3]-Chirality Transfer: Synthesis of Lentiginosine and Polyoxamic Acid Derivative. Ichikawa, Y.; Ito, T.; Isobe, M. *Eur. J. Chem.* 2005, 11, 1949-1957.
54. Stereocontrolled Synthesis of 8,11-Dideoxytetrodotoxin, An Unnatural Analogue of Puffer Fish Toxin. Nishikawa, T.; Urabe, D.; Yoshida, K.; Iwabuchi, T.; Asai, M.; Isobe, M. *Chem. Euro. J.* 2004, 10, 452-462.
55. Molecular diversity of cereulide detected by means of nano-HPLC-ESI-Q-TOF-MS. Pitchayawasin, S.; Isobe, M.; Kuse, M.; Franz, T.; Agata, N.; Ohta, M. *Int. J. Mass Spectrometry* 2004, 235, 123-129.
56. Novel synthetic route of

- aryl-aminopyrazine. Kuse, M.; Kondo, N.; Ohyabu, Y.; Isobe, M. *Tetrahedron* 2004, *60*, 835-840.
57. Glycocinnasperimicin D Synthetic Studies: Synthesis of Cinnamoyl Glycosides via Iodination-Heck Reaction Sequence Starting from Phenyl Glycosides. Nishiyama, T.; Ichikawa, Y.; Isobe, M. *Synlett* 2004, *1*, 89-92.
58. A novel stereoselective carbon-chain extension reaction at the C-6 position of 1,6-anhydropyranose. Nishikawa, T.; Mishima, Y.; Ohyabu, N.; Isobe, M. *Tetrahedron Lett.* 2004, *45*, 175-178.
59. Stereoselective Synthesis of the Fully Functionalized HIJ-ring Framework of Ciguatoxin. Baba, T.; Takai, S.; Sawada, N.; Isobe, M. *Synlett* 2004, 603-608.
60. Mass Spectrometric Assignment of Smith Degradation Glycopeptides Derived from Ribonuclease B. Pitchayawasin, S.; Isobe, M. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2004, *68*, 1424-1433.
61. Synthesis of Model Compound Containing an Indole Spiro- β -lactam Moiety with Vinylchloride in Chartelline. Nishikawa, T.; Kajii, S.; Isobe, M. *Chem. Lett.* 2004, *33*, 440-441.
62. Synthesis of photoaffinity probes of tautomycin. Kurono, M.; Shimomura, A.; Isobe, M. *Tetrahedron* 2004, *60*, 1773-1780.
63. Differentiation of sulfate and phosphate by H/D exchange mass spectrometry: application to isoflavone. Kanakubo, A.; Isobe, M. *J. Mass Spectromet.* 2004, *39*, 1260-1267.
64. α -C-Mannosyltryptophan is not recognized by conventional mannose-binding lectins. Nishikawa, T.; Kajii, S.; Sato, C.; Yasukawa, Z.; Kitajima, K.; Isobe, M. *Bioorg. Med. Chem.* 2004, *12*, 2343-2348.
65. Structure of pentasaccharide of glycopeptide from TIME-EA4, N-glycoprotein in Silkworm Diapause Eggs. Pitchayawasin, S.; Isobe, M.; Tani, N.; Kai, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004, *14*, 2527-2531.
66. Synthesis and Physical Nature of Fluorescent Photoaffinity Probe for the Bioorganic Studies on Tautomycin, a Protein Phosphatase Type 1 Selective Inhibitor. Kurono, M.; Isobe, M. *Chem. Lett.* 2004, *33*, 452-453.
67. Stereospecific synthesis of urea-tethered neoglycoconjugates starting from glucopyranosyl carbamates. Ichikawa, Y.; Nishiyama T.; Isobe, M. *Tetrahedron* 2004, *60*, 2621-2627.
68. Aluminum as a specific inhibitor of plant *TPC1* Ca²⁺ channels. Kawano, T.; Kadono, T.; Fumoto, K.; Lapeyrie, F.; Kuse, M.; Isobe, M.; Furuichi, T.; Muto, S. *Biochem. Biophysic. Res. Communi.* 2004, *324*, 40-45.
69. Synthesis, Characterization, and

- Reaction of Crystalline Fisher's Glycopyranosyl Isocyanate. Ichikawa, Y.; Matsukawa, Y.; Nishiyama, T.; Isobe, M. *Eur. J. Org. Chem.* 2004, 586-591.
70. An Efficient Total Synthesis of Optically Active Tetrodotoxin. Nishikawa, T.; Urabe, D.; Isobe, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2004, 43, 4782-4785.
71. Urea Glycoside Synthesis in Water. Ichikawa, Y.; Matsukawa, Y.; Isobe, M. *Synlett* 2004, 1019-1022.
72. Novel Synthesis of Bromoindolenine with Spiro- β -lactam in Chartelline. Nishikawa, T.; Kajii, S.; Isobe, M. *Synlett* 2004, 2025-2027.
73. Demarcation of diapause development by cold and its relation to time-interval activation of TIME-ATPase in eggs of the silkworm, *Bombyx mori*. Ti, X.; Tuzuki, N.; Tani, N.; Morigami, E.; Isobe, M.; Kai, H. *J. Insect Physiol.* 2004, 50, 1053-1064.
74. Total synthesis of (+)-Blasticidin S. Ichikawa, Y.; Hirata, K.; Ohbayashi, M.; Isobe, M. *Chem. A Eur. J.* 2004, 10, 3241-3251.
75. A novel deprotection of trichloroacetamide. Urabe, D.; Sugino, K.; Nishikawa, T.; Isobe, M. *Tetrahedron Lett.* 2004, 45, 9405-9407.

[学会発表] (計 16 件)

公式国際会議等への招聘抜粋 (27 件より抜

粋)

1. M. ISOBE, PACCON2008 (Pure and Applied Chemistry 2008, Plenary Lecture, (Organizer; Noojaree Prasitpan), Sofitel Hotel, Bangkok, Thailand, 2008, 1/30-2/1.2.
3. M. ISOBE, IUPAC ICOS-17, Invited Paper, *Synthetic Studies on Ciguatoxin*, Dejong, Korea, 2008, June, 22-27.
4. M. Isobe, 3rd International Conference on Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia, Plenary Lecture, "Total Synthesis of Natural Products and Chemical Biology", (Organizer, Yao, Zhu-Jun) Liu Ying Hotel, Hangzhou, China, October 19-23, 2008.
5. M. ISOBE, Stanford-Roche Lecture, Stanford University, (Host, Prof. Justin DuBois) April 23, 2008.
6. M. Isobe, A. Hamajima, A. Nonoyama and T. Fujii. US-Japan Seminar (JSPS-NSF), "Marine Natural Products---Total Synthesis toward Chemical Biology", Invited Paper, (Organizer, Chris Ireland), Park City, Uta, USA, 2007, July 1-6.
7. M. Isobe, 2nd International Conference on Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia, Invited Paper, "The Total Synthesis of Natural Products inspiring Chemical Biology", Grand Hotel, Busan, Korea. Sep[2-6, 2007.
8. Minoru Isobe, 6th "Bioorganic Studies on Novel Molecular Mechanism of Bioactivity Expression by Natural

- Products through the Target Proteins---Case Studies on Photoproteins--- “ Princess Congress VI (PC-6), Invited Lecture, Shangri-La Hotel, Bangkok, Thailand, 2007, November 25-29.
9. M. ISOBE, IUPAC International Conference of Organic Chemistry (ICOS-16), Invited Lecture, Synthetic studies toward ciguatoxin. Merida, Mexico, June 11-16, 2006. http://www.relaq.mx/RLQ/IUPAC_ICOS-16.html
 10. M. ISOBE, Balticum Organicum Syntheticum (BOS06); Invited Paper, Tallinn, Estonia. June 25-29, 2006.
 11. M. ISOBE, The 9th Eurasia Conference on Chemical Sciences (EuAsC2S-9); Plenary Lecture, “Innovations in Chemical Biology on the Bridge of Eurasia” September 9-13, 2006, in Antalya, Turkey.
 12. M. ISOBE, Post Symposium of the 1st International Conference on Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia, “Chemical Biological Chemistry of Natural Products on the basis of Organic Synthesis”, Keynote Lecture, Oct. 21-23, 2006, Hsinchu, Taiwan.
 13. ISOBE, Minoru, UC Irvine-Pfiser Symposium, Plenary Lecture, December 9, 2005. (UCLA)
 14. ISOBE, Minoru, Synthetic studies toward ciguatoxin. Invited Lecture at Pacificchem 2005, *Chemicalr Synthesis of Polycyclic Ethers Symposium* Invited Paper #246. Honolulu, Hawaii, December 16, 2005.
 15. ISOBE, Minoru, Light-emitting protein and time-interval-measuring proteins give the functions by complex formation with natural prodeucts. Invited Lecture, Pacificchem 2005, *Interface of Chemistry and Biology Symposium* Invited Paper #1574. Honolulu, Hawaii, December 19, 2005.
 16. M. ISOBE, IUPAC ISBOC-7 (7th International Symposium of Bioorganic Chemistry) Sheffield, U.K. June 27-July 3 2004.
- 〔図書〕 (計 13 件)
- 著書・総説 (英文・邦文)
1. 磯部 稔・西川俊夫, 多国間学術拠点形成事業「アジアの最先端有機化学」*Yakugaku Zasshi* 2009, *129*, 401-406.
 2. Elegant Total Synthesis of Natural Product, Chapter 8-Medium size Ether Ring, Isobe, M.; Pattarawarapan, M.; Phakhodee, W.; Charoonniyomporn, S.; Hama jima, A. *Weily VCH, in press*, 2009.
 3. C-Glycosylation, Nishikawa, T.; Adachi, M.; Isobe, M. *Glycoscience*, (Ed. Fraser-Reid, B., Tatsuta, K., Thiem J.) Chapter 3.8, p755-811, Springer-Verlag Berlin Heiderberg, 2008.
 4. Interactions between TIME and PIN could play a role in the system that controls the duration of diapause development and synchronization with

- seasonal cycles in the silkworm *Bombyx mori*. Kai, H.; Tani, N.; Isobe, M. *Entomol. Res.* 2008, 38, 179-187.
5. 北川 勲・磯部 稔 「天然物化学・生物有機化学 I -天然物化学-」朝倉化学大系13 (朝倉書店) 2008. 5. 30
 6. 北川 勲・磯部 稔 「天然物化学・生物有機化学 II -生物有機化学-」朝倉化学大系14 (朝倉書店) 2008. 6. 30
 7. 磯部 稔・大藪 紀雄・西川 俊夫:「フグ毒テトロドキシンの最初の不斉全合成」 有機合成化学協会誌 2007 65(#5) pp492-501.
 8. Stereoselective C-Alkynylation, Allenylation, and Prop-2-ynylation Leading to Sugar Glycosides. Saeeng, R.; Isobe, M. *Chem. Lett. Highlight Review* 2006, 35(#6), 552-557.
 9. 磯部 稔:「天然物全合成にかけた夢---結果に一喜一憂し、そして感動する----」 “化学者たちの感動の瞬間----興奮に満ちた51の発見物語” 有機合成化学協会編 2006 P152-156 化学同人.
 10. 磯部 稔・高井 繁幸・馬場 貴之・濱嶋 祥就:「天然物合成研究と新反応開発・シガトキシンを例として---」現代化学増刊43 “最新有機合成化学---ヘテロ原子・遷移金属化合物を用いる合成” 奈良坂 紘一・岩澤 伸治編 2005 pp181-189 東京化学同人.
 11. 磯部 稔・黒野 昌邦:「天然物全合成と医薬化学---タンパク質脱リン酸酵素阻害剤を例として---」 化学と工業 2004 #8 pp610-617 化学工業社.
 12. 甲斐 英則・谷 直樹・磯部 稔:「インターバルタイマータンパク質TIME、ねじまきPIN付き」 時間生物学 2004 10(#1) pp28-34 .
 13. 磯部 稔・西川 俊夫:連載天然物化学とその周辺「フグ毒テトロドキシンの不斉全合成」 化学と工業 2004 57(#1) pp1183-1186 化学工業社.
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
磯部 稔 (ISOBE MINORU)
名古屋大学・大学院生命農学研究科・名誉教授
研究者番号: 00023466
 - (2) 研究分担者
市川 善康 (ICHIKAWA YOSHIYASU)
高知大学・理学部・教授
研究者番号: 60193439
- 西川 俊夫 (TOSHIO NISHIKAWA)
名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授
研究者番号: 90208158
- 久世 雅樹 (MASAKI KUSE)
名古屋大学・物質科学国際研究センター・助教
研究者番号: 40335013
- 甲斐 英則 (KAI HIDENORI)
鳥取大学・農学部・教授
研究者番号: 60023412
- 安立 昌篤 (ADACHI MASAATSU)
名古屋大学・生命農学研究科・助教
研究者番号: 80432251