

平成 22 年 6 月 18 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2009

課題番号：19750147

研究課題名 (和文) テトロドトキシン新規誘導体の合成と構造－活性相関の解明

研究課題名 (英文) Synthesis and SAR study of novel tetrodotoxin analogs.

研究代表者

赤井 昭二 (AKAI SHOJI)

神奈川大学・工学部・助教

研究者番号：00322537

研究成果の概要 (和文)：

海産性天然毒の代表的化合物で、神経生理学研究において重要な道具の1つとして用いられているテトロドトキシン(TTX)について、天然からは見出されていない誘導体である4-,8-および9-デオキシテトロドトキシンおよび安定同位体標識体の合成を目指し研究を行ない、9-デオキシテトロドトキシン前駆体の合成まで達成した。また、安定同位体標識化も並行して検討し、¹³C標識化に目途を立てることができた。

研究成果の概要 (英文)：

Tetrodotoxin (TTX), one of the best-known marine toxins, was originally isolated from puffer fish. It is known that TTX selectively combines with elements of the sodium channel, thus inhibiting its function in the cell membrane. Therefore, TTX is utilized as a tool for the analysis of various vital phenomena, which occur via the sodium channel. Therefore, it is considered very important to synthesize larger amounts of TTX and its analogues than those available now. In this work, syntheses of optically active- and partially deoxygenated-TTX from D-glucose and *myo*-inositol in practical amounts, and its stable isotopic labeling are studied. As a result, a crucial key compound for synthesizing the above target compounds is prepared from D-glucose in 24-28 steps. Total synthesis of 8- and 9-deoxyTTX from the key compounds and its stable isotope labeling are now in progress.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,600,000	0	1,600,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	480,000	3,680,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学

キーワード：有機化学、生理活性、合成化学、テトロドトキシン

1. 研究開始当初の背景

テトロドトキシン(TTX)の全合成は、ノーベ

ル化学賞受賞者のWoodwardもあきらめた難物である。低分子ながら高度に官能基化され、

かつ多くの不斉炭素を有する。またTTXが持つ特殊な化学的性質のため、異性化、分解が伴い構造決定も容易ではなかった。このような理由から、天然から得られるTTXそのものを修飾し、研究道具となる誘導体を合成することは困難で、出来たとしても極限られたものとなっていた。代表者の所属する当研究室において、このTTXの全合成法の確立を目指し研究を進め、その結果、その1つでd1-体での全合成に成功し、残る2つのルートでもそれぞれ全合成に見通しを立てた。いずれも所属研究室で新規に確立した分枝鎖構築法を鍵反応の1つとして、シンプルかつ短工程での合成を行っている。

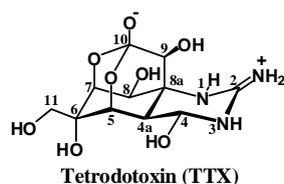


Figure 1

現在までに世界中で我々を含め4つのグループしか全合成に成功しておらず、その中で我々は3つの合成ルートを駆使することにより様々なTTX誘導体が合成でき得る有利な状況にある。天然より単離したTTX誘導体とこれまでに合成された5, 11-および8, 11-ジデオキシTTX、11-デオキシTTX、5, 8, 11-トリデオキシTTX誘導体(天然物でもあることが最近明らかとなっている)により構造-活性相関の研究がなされている。

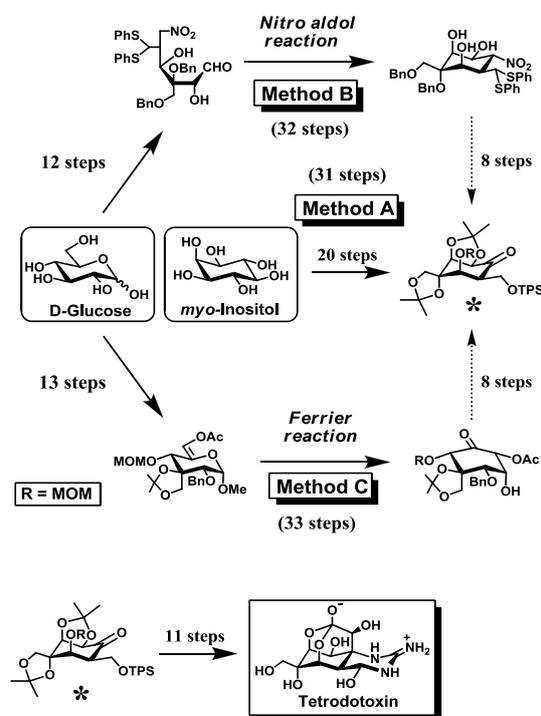


Figure 2

TTXの活性発現には、グアニジノ基、4,6,9,10,11位の水酸基が重要なことは報告されているが、詳細なNaイオンチャンネルとの結合活性は6,11位については明らかとなっているが、それ以外については未だ明らかではない。また、微生物起源とされているTTXが食物連鎖によって濃縮されることは検証されておらず、その生合成経路も明らかとなっていない、謎の多い天然物である。これらの事実を解明して行くことは、生化学、薬理学研究上、不可欠なことで、それゆえ安定標識体を含めた誘導体の合成は意義がある。我々が報告した合成法は、TTXのみならず各種誘導体を標識体(^{13}C , ^{14}C , ^{15}N)をも含めて合成可能で、それゆえ学術的価値が高いと言える。全合成の一報を聞きつけ既に国内の研究者から誘導体や標識体サンプルの合成について問い合わせがあり、神経生理学研究において誘導体の合成が切望されている。そこで今回、特に4,8および9位水酸基の活性発現への寄与を明らかにするため、その位置でのデオキシ誘導体の合成と、 K^{13}CN 、 $^{15}\text{NH}_2$ 、 $^{13}\text{CS}^{15}\text{NH}_2$ を用い ^{13}C 、 ^{15}N の安定同位体標識TTXの合成を行い構造-活性相関の解明を目指した。

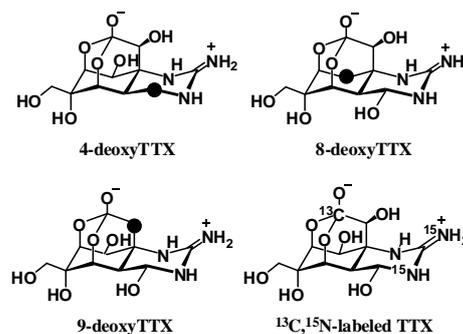


Figure 3

2. 研究の目的

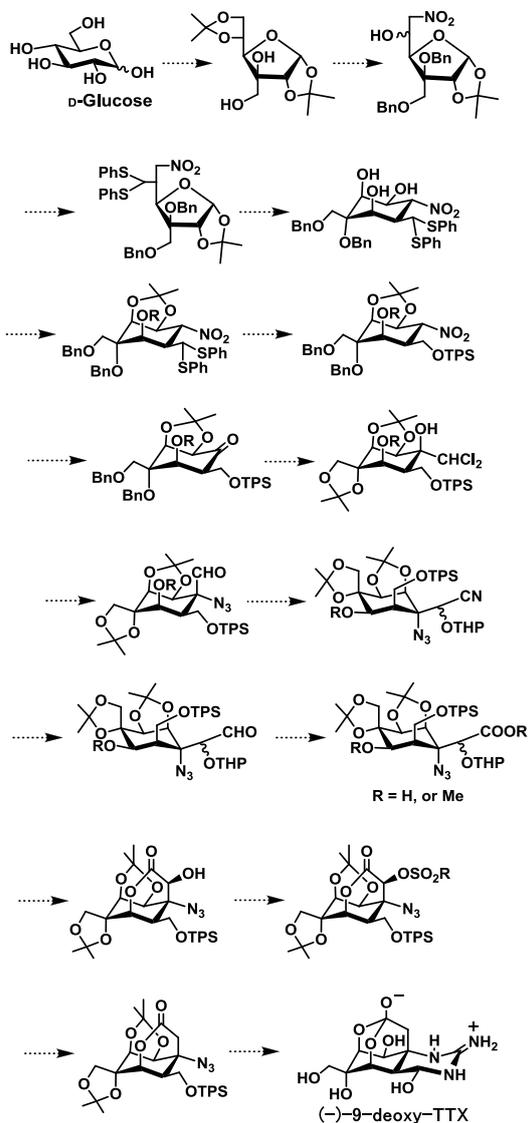
本研究は、神経生理学研究において重要な道具の1つであるテトロドトキシン(フグ毒, TTX)の構造活性相関を詳細に検討することを目的とし、天然からは見出されていないテトロドトキシン誘導体として4-, 8-および9-デオキシテトロドトキシンおよびその関連する誘導体と、食物連鎖と生合成経路の追跡実験(トレーサー実験)に必要な標識体(^{13}C , ^{15}N)の合成を行うことを目指した。研究期間の最終年には一連の誘導体を用い生理活性を調べ、テトロドトキシンの構造-活性相関を明らかにするとともに、標識体を用いてトレーサー実験を行いTTXの食物連鎖の検証を目的とした。また、標識体は、特殊NMRを用いる機能-構造解析にも利用してヒトNaイオンチャンネルの構造解析とその作用機構の解明に役立つもので、最終的に発展すればモルヒネを凌駕する鎮痛剤開発につなげられるものと考えた。

しかしながら、TTXが持つ特異な化学的性質

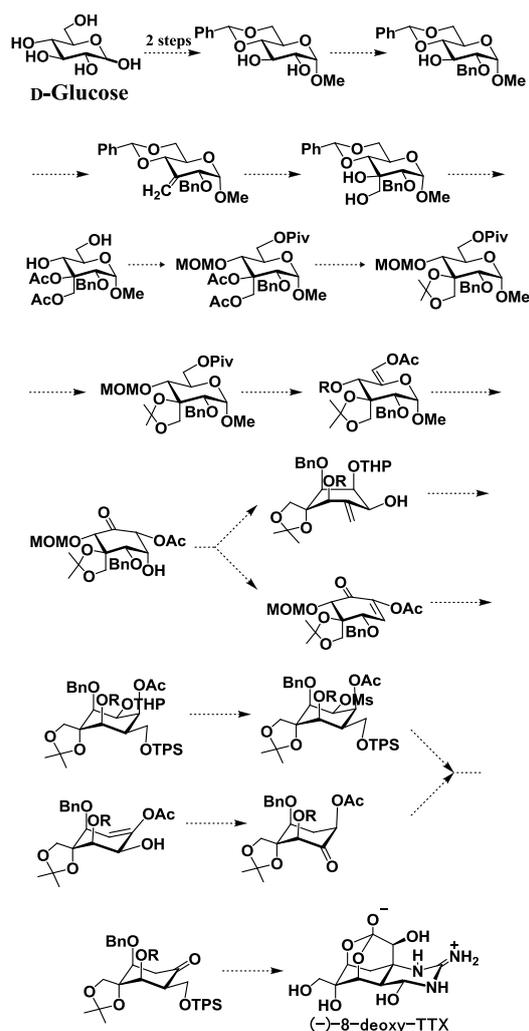
のため、各種誘導体を得るには簡便な全合成法が必須である。前述の通り全世界で現在全合成に成功しているのは4グループだけである。その中で、我々はシンプルな全合成法を確立しており、その優位性を活かせば様々な誘導体合成が可能であり、構造-活性相関の研究のみならず標識体を用いたトレーサー実験、特殊NMRによる機能-構造解析、生合成経路の解明など幅広く独創的な研究を展開できるものと考えた。

3. 研究の方法

(1) 9-デオキシ TTX の合成: D-グルコースを出発原料としニトロ分枝糖のニトロアルドール反応を鍵反応とする以下のルートにより合成を目指した。



(2) 8-デオキシ TTX の合成: D-グルコースを出発原料とし Ferrier (II) 反応を鍵反応とするルートにより合成を目指した。



4. 研究成果

(1) 平成 19, 20 年度の研究成果

8-デオキシ体の合成に重点を置いて検討を進めた。出発原料の D-グルコースから 13 工程を経てエノールアセテート体を得た後鍵反応となる Ferrier 反応により骨格となるシクリトール誘導体を得た。その後、脱離基(メタンスルホニル基)を導入すると自発的にエノン体へと変換され、これを接触水素部分還元によって、8-デオキシ構造を構築した。その後、グアニジンの接合部となる炭素分枝鎖の構築を Peterson オレフィン化により行なったが、分解生成物が多く、目的物は低収率となった。これがエノール化によるものと考え、塩化セリウムを用いる反応へと変更し、収率を 82% まで向上させることに成功した。その後、ヒドロホウ素化-酸化反応によりヒドロキシメチル分枝鎖へと変換、シリル保護の後、ジクロロメチルリチウムで増炭、窒素官能基を導入するため、アジ化ナトリウムを用い処理し、鍵物質アジドアルデヒド体の合成に成功した。

(3) 国内外における研究成果の位置づけと今後の展望

本研究期間内には最終目的であった構造－活性相関の解明には至らなかったが、そのツールとなる新規誘導体の合成に目途を立てており、優位な研究成果が得られたものと判断できる。

現在も新規誘導体と安定同位体標識体の合成を進めており、今後確実に得られるものと考えている。これら新規誘導体は、テトロドキシンの構造－活性相関や生合成経路の解明など、幅広く独創的な研究を進めるための十分な化学道具となるものと期待でき、国内のみならず国外においても評価できる成果と考えられる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計4件)

- ① S. Akai, H. Seki, N. Sugita, T. Kogure, N. Nishizawa, K. Suzuki, Y. Nakamura, Y. Kajihara, J. Yoshimura, K. Sato, “Total Synthesis of (–)-Tetrodotoxin from D-Glucose: A New Route to Multi-Functionalized Cyclitol Employing the Ferrier(II) Reaction toward (–)-Tetrodotoxin.”, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2010**, 83(3), 279-287 [査読有].
- ② H. Suzuki, M. Andoh, Y. Yonezawa, S. Akai, C. Shin, K. Sato, “Total Syntheses of Bistratamides J, E, and H from Two Types of ΔAla-Containing Oligopeptides”, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2008**, 81(4), 495-501. [査読有].
- ③ K. Sato, S. Akai, H. Shoji, N. Sugita, S. Yoshida, Y. Nagai, K. Suzuki, Y. Nakamura, Y. Kajihara, M. Funabashi, J. Yoshimura, “Stereoselective and Efficient Total Synthesis of Optically Active Tetrodotoxin from D-Glucose”, *J. Org. Chem.*, **2008**, 73(4), 1234-1242 [査読有].
- ④ K. Sato, S. Akai, H. Shoji, N. Sugita, S. Yoshida, Y. Nagai, K. Suzuki, Y. Nakamura, Y. Kajihara, M. Funabashi, J. Yoshimura, “Synthesis of (–)-Tetrodotoxin”, *Synfacts*, **2008**, 8, 749[査読有].

[学会発表] (計1件)

- ① 赤井昭二, 田中李佳, 佐藤憲一, “Bu₄NNO₂-Boc₂O/pyridine を用いる N-Phenylcarbamoyl 基の改良脱保護法”, 第58回有機合成化学協会関東支部シンポジウム－新潟(長岡)シンポジウム－(2009年12月).

[図書] (計1件)

- ① Ken-ichi Sato; Shoji Akai. “Stereoselective synthesis of tetrodotoxin from carbohydrates.”

Fukugo Toshitsu no Kagaku to Saishin Oyo Gijutsu, **2009**, 113-128.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

赤井 昭二 (AKAI SHOJI)
神奈川大学・工学部・助教
研究者番号：00322537

(2) 研究協力者

佐藤 憲一 (SATO KEN-ICHI)
神奈川大学・工学部・教授
研究者番号：40114871