

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

海洋天然藥物開發研究—海洋天然藥物開發研究 (總計畫)

Exploration of Marine Natural Products in the Drug Development (General)

計畫編號：NSC 89-2323-B-002-012

執行期限：89年8月1日至90年7月31日

主持人：周宏農 國立臺灣大學 漁業科學研究所

計畫參與人員：戴昌鳳 國立臺灣大學 海洋研究所

王瑋龍 國立彰化師範大學 生物系

一、中文摘要

原計畫申請所擬需求人力因八項子計畫刪成三項，故僅能就大型海藻、軟珊瑚與微細藻三群生物對象推動藥物活性天然物的篩選、純化與化學結構鑑定，而活性篩選則配合國家衛生研究院的高速藥物篩檢系統，局限於人類鼻咽癌細胞(HONE-1)與胃癌細胞(NUGC-3)的細胞毒性測試。已完成有分屬 29 種共 44 件軟珊瑚樣品，分屬 56 種共 96 件大型海藻樣品與分屬 35 種共 103 株微細藻的細胞毒性分析，另包含 8 株紅藻之絲狀體培養的細胞萃出物。海洋天然物資料庫已建構有 10391 個化學物質結構圖的繪製與其生物來源、活性與參考文獻資料的輸入。計從大型海藻已獲有二十五個化合物，軟珊瑚樣品中獲有三十二個化合物。

關鍵詞：海洋天然物、微細藻、軟珊瑚、大型藻

Abstract

Due to limited fundings to the original proposals, sub-projects of this study have been adjusted to focus on the bioactive compounds in soft corals, seaweeds and microalgae. The target organism and compound were selected according to the NHRI high-throughput drug screenings on the basis of HONE-1 and NUGC-3 (human cancer cell lines) cytotoxicity.

Forty-four samples, belonging to 29 soft corals species and 96 samples of 56 seaweed species have been screened. Similar

screenings were also performed on 103 microalgal strains, of which the cultures were established from single cell isolates of 35 different species, in addition to the tissue cultures filaments of 8 different red algal strains. Searchable data bases of marine natural products were still under construction, with 10391 chemical structure drawings and various key-ins of information on organism origins, activities and bibliographies done. There have been twenty-five compounds from seaweed and thirty-two compounds isolated and identified in this research.

Keywords: Marine Natural Products, seaweeds, soft corals, micro algae

二、緣由與目的

浩瀚海洋中蘊藏著極為龐大的生物群，其種類包括動、植物在內不下 20 萬種之多。自 1960 年代以來，科學家已在海洋動、植物體內發現超過 6000 種以上新的有機化合物結構，同時也發現其生合成與化學結構與陸生生物有很大的不同，從而理解到海洋生物是未來新藥開發最具潛力的資源，而有『海洋醫藥 (drug from the sea)』之說，而自 80 年代以來，各先進國家，如美、日、法、英、挪威等，已相繼投入了大量人力、物力，建立研究機構，制定發展計畫，致力於海洋天然物資源之開發。從 90 年代的文獻考察可知，從海洋生物所獲具有抗癌、抗腫瘤、抗菌、抗病毒、抗凝血、降血壓等藥物活性之化合物多達千種以上，而至少有六項海洋藥物已於美國國家癌症研究所的贊助下正進行臨床治療的評估工作，而有更多研究正與私人大藥

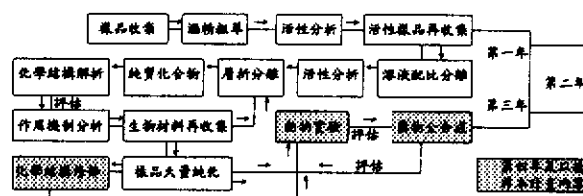
廠合作中。

本省四周環海，又位熱帶、亞熱帶地區，接受南、北向洋流的季節性衝擊，因環境中之生物競爭而造就出大歧異度的海洋生物相，其天然物之本質也包涵了多樣性與多變性，這可由過去文獻中在加勒比海、澳洲與日本的琉球諸多研究發現而窺一般。海洋天然物來源包括海藻、海棉、軟珊瑚、軟體動物、水螅腔腸動物、自營或共生之微藻與細菌、真菌類等微生物。

本研究計畫在跨部會之「製藥與生物技術國家型計畫」中，以國家衛生研究院生物技術與藥物研究組之自動化高速藥物篩選、藥物作用機制探討、藥物動力及動物疾病模型等核心設施，配合國內其他海洋天然物習有專長，並有所成就之大學，根據功能所需組織團隊於海洋天然藥物成份物質的開發研究。惜部份在提供微生物材料鑑定與培養機制之研究計畫書，未能在第一年的子計畫申請中獲得通過，頓使原規劃較大規模之團隊縮小至僅三個在微細藻（臺灣大學周宏農教授）、大型海藻（中山大學杜昌益教授）、軟珊瑚（中山大學許志宏教授）三項生物資源的開發。並建立相關之資料庫，以及為能採集到足夠量與多樣種類之大型海藻與軟珊瑚等，另尋求彰化師範大學生物系王瑋龍副教授與臺灣大學海洋所戴昌鳳教授在收集生物材料與種類鑑定上充分支援，而將其採樣經費納入於總計畫中來執行。所獲得生物之粗萃取、部份分離之液與純品化合物，在篩選活性種類與活性導向分離的過程中，隨時配合國家衛生研究院生物技術與藥物研究組已建立之自動化細胞毒性快速篩檢系統，針對衛生研究院所選定之細胞株種類包括 NUGC-3, HONE-1 等，挑選具這些細胞株毒性的萃出成份，分析其活性物質之化學結構，藉以建立活性化學物質庫，以為後續人工合成、化學修飾與進一步活性和與臨床實驗之模式樣品。

本研究所採取的策略與方法，主要由總計畫中協調召集子計畫主持人與協助海洋生物採集與鑑定的教授，商議年度所需珊瑚與藻種數量，即配合季節之存在而進

行採集，包括少量(250 克)以供篩選與大量(1~3 公斤)以供樣品提純之所需。並於期中召集兩次會議，針對篩選結果，檢討採樣方法與採樣數量。所採集大型海藻、軟珊瑚與微細藻經種屬鑑定，其中微細藻株尚經單株的分離培養、尋找最適培養基與溫度與照光等生長條件。所獲得珊瑚或藻類細胞再經由上述國衛院之細胞成長抑制活性的引導，進行溶液分離、層析製備、質譜、核磁共振光譜等解析與化學分析或晶體結構解析。為避免重複文獻中已執行過之生物樣品與所含活性化學品的提純，另收集現有文獻中已知海洋天然物的資料，經由人力鍵入、彙整成可蒐尋之生物、化學與活性之資料庫，以便於研究期中或未來持續工作中得以參考。第一年至第二年前半主要進行大量不同生物的活性篩選，一方面進行微藻的培養。在第二年起及第三年將依活性生物種類，進行純質分離與分析。整體工作流程包括：



經過細胞毒性篩選，從 KT-97 活性藻種中獲有 8 個 halogenated monoterpenes，從綠藻 KT-89 獲有兩個 alkaloids 生物鹼 CR-013k, CR-040k 及 1 個單環雙倍帖 CR-053，其與 CR-040k 在 50 $\mu\text{g/ml}$ 濃度下具有細胞活性，紅藻 KT-23 已分離出十四個 indole 化合物。

44 件軟珊瑚樣品中的 154 個萃出分液中有 41 個具強細胞毒性，在 32 個已完成分離與結構鑑定之化合物中有十個新化合物，其中兩個具新骨架。

而從已建有 149 株微細藻株的培養：包括 87 株分屬 8 屬 29 種以上渦鞭毛藻種，37 株分屬 7 屬 8 種以上藍綠藻與 1 株定鞭藻及 25 株分屬 11 種不同之紅藻絲狀體，獲得正丁醇，氯仿及正己烷的萃取分液分別送測細胞活性。在送測的 113 株藻樣，共 589 件分析中，267 件樣品中的 43 件對 HONE-1 有大於 90% 毒性，在 NUGC-3 則為 47/322。另外從 132 個藻株分液獲有 5 件具有磷酸水解酵素的抑制活性(>90%)。所得的結果確認了底棲渦鞭毛藻中的 *Amphidinium* 和 *Prorocentrum* 的氯仿與正丁醇的萃出具有絕對多數之細胞毒性，部份能產毒的浮游種 *Alexandrium minutum* 與底棲的 *Prorocentrum lima* 的正己烷層亦具備癌細胞毒性，此與造成水產品中毒的毒素成份無關。

本計畫相對於製藥與生物技術國家型計畫天然與合成化學藥物組陸生植物的研究群晚了八個月開始，並受經費與國內研究人力上的限制，僅能側重於藻類與軟珊瑚，海洋微生物與微細藻領域僅保留微細藻一項子計畫。在海洋生物的採集上，由於較大型生物的個體往往受到共棲或共生微生物的干擾，或季節、環境生長上的差異而有活性成份含量與組成上的差異，以致於有不同的活性分析結果。這在期中所召集三次採樣協調檢討會議中，邀請採樣鑑定的兩位教授與子計畫主持人有所討論，並盡量排除可避免之因子。會議中決定仍維持第二年度工作的生物多樣性的活性篩選，等第二年工作中期會議檢討是否需要集中某些少數種類，來對其化學組成

做全方位的提純或仍持續做不同種類間地毯似的篩選。然而這在不同生物組群間亦存在不同需求，軟珊瑚可獲生物樣品有限，但成份含量較豐，而藻類族群與種株間差異大，但成份量少，生物來源較不容易，特別是微細藻須經細胞單離、培養、生長條件測試以致於大量培養，方有足夠之生物樣品以供化合物學提純。

在研究人力上，由於具有執行研究工作能力之博士後或碩士後人力難覓或難以長期留用，研究生工作進度緩慢是本計畫工作執行中遭遇的最大困擾。另項困難存在於生物樣品的獲得，在臺灣，由於生物資源量豐富區域與方便採集之處都位於國家公園生物保育區內，從事採集、鑑定支援之人力亦都屬資源保育工作，對於可能破壞生態的大量採集均有所顧忌，似乎在未來應有所另類規劃，朝境外海區的採樣或走向培養模式來獲取足夠深入臨床實驗之材料。

由於每樣生物樣品（大型藻與軟珊瑚為主）的採集量足以因應更多的篩檢於抗癌抗病毒活性的篩選，但目前粗萃液或純直之測試僅止於 NUGC-3 與 HONE-1 細胞株的活性測試，可能遺漏其他可能藥物開發之活性成份，建議若能在其他活性分析上能持續發展擴大或舉辦研習會傳授不同領域之活性篩檢模式，方便化學提純研究單位能夠在提純過程中能夠同步篩檢，應是一項有效應用現有資源的發展策略。

本計畫原編有出國參加在日本琉球舉辦的第十屆國際海洋天然物學術研討會之旅費，後因該會議主辦單位的邀請與支付費用，故經費並未使用，由學校校務基金收回統籌運用。會議在琉球的 Nago 市濱海 Bankoku-Shinryokan 國際會議廳（前七大工業國高峰會議地點）舉辦，參加的學者共有來自 29 國計 260 位以上，含有 26 篇邀請演講、26 篇口頭報告及 107 篇海報論文。會議主題分為提純與構造解析、化學合成、化學生態、生合成與生物生產、作用機制與藥物開發等主題，臺灣參加的共有九位學者，發表六篇報告。計畫主持人為國內唯一受邀演講主題為：渦鞭毛藻藻

毒相關研究在認證標準品與醫藥上的開發。另由博士班應屆畢業生提報臺灣原甲藻毒素的研究於海報展。本計畫的子計畫主持人與參與工作人員也都參加本次會議。會議自六月二十四日起至二十九日。

四、計畫成果自評

在計畫成果自評部份，由於過半子計畫都未獲通過，在海洋微生物與微細藻方面的採樣、鑑定與培養人力嚴重缺乏，而兩位從事天然物提純專業之教授，因退休與在同一國家型計畫中從事高等植物之天然物研究工作而被取消，使得原計畫書中所擬完成化合物數量與實際所能完成之間有一段距離。但在核准的金額與人力規模上，從整體進度與國衛院總計畫辦公室之監督評核下，所達成工作份量與符合原計畫減縮人力後之進度。所獲新結構化合物在學術上適合在學術期刊發表或申請專利，所發現的成果披露出海洋天然物在臺灣這環境中，確實具備活性物質之多樣性，而且存在許多尚未開發之學術資源以及在藥物開發上之無窮的訊息與材料。微細藻活性物質的研究上，更是展現出渦鞭毛藻的多種活性物質存在，包括老鼠與豐年蝦的毒性，以及其在食物鏈與生態環境中扮演的角色。從2000年八月一日開始至今的成果，可說是豐碩，惟在人力上若能有更多的配合，當有更多活性物質的被提純及結構鑑定。微細藻的資源，有賴於培養與保種技術，在本計畫的支援下，藻種庫內涵的不斷擴張以及培養技術的改進，具備無限開發的潛力，也保障活性物質在外來藥物開發時，材料的不絕供應。

五、參考文獻

1. Faulkner, D. J. 2001, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 18: 1.
2. Faulkner, D. J. 2000, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 17: 1.
3. Faulkner, D. J. 2000, Highlight of Marine Natural Products Chemistry (1972-1999), 17:

- 7.
4. Faulkner, D. J. 1999, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 16(2): 155.
5. Faulkner, D. J. 1998, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 16(2): 113.
6. Faulkner, D. J. 1997, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 14(3): 259.
7. Faulkner, D. J. 1996, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 13(2): 75.
8. Faulkner, D. J. 1995, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 12: 223.
9. Faulkner, D. J. 1994, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 11: 355.
10. Faulkner, D. J. 1993, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 10: 497.
11. Faulkner, D. J. 1992, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 9: 323.
12. Faulkner, D. J. 1991, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 8: 97.
13. Faulkner, D. J. 1990, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 7: 269.
14. Faulkner, D. J. 1988, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 5: 613.
15. Faulkner, D. J. 1988, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 5: 613.
16. Faulkner, D. J. 1986, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 3: 1.
17. Faulkner, D. J. 1984, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 1: 551.
18. Faulkner, D. J. 1984, Marine Natural Products, Natural Product Reports, 1: 251.
19. Faulkner, D. J. 1977, Interesting Aspects of Marine Natural Products Chemistry, Tetrahedron Reports, 33: 1421.

參加第十屆國際海洋天然物學術研討會心得感言

周宏農

國立臺灣大學 漁業科學研究所

在本計畫中原來編有出國參加在日本琉球舉辦的第十屆國際海洋天然物學術研討會之旅費，後因該會議主辦單位的邀請與支付費用，故經費並未使用，由學校校務基金收回統籌運用。會議在琉球的 Nago 市濱海 Bankoku-Shinryokan 國際會議廳(前 G 8 八大工業國高峰會議地點)舉辦，參加的學者共有來自 29 國計 260 位以上，含有 26 篇邀請演講、26 篇口頭報告及 107 篇海報論文。會議主題分為提純與構造解析、化學合成、化學生態、生合成與生物生產、作用機制與藥物開發等主題，臺灣參加的共有九位學者，發表六篇報告。計畫主持人為國內唯一受邀演講主題為：渦鞭毛藻藻毒相關研究在認證標準品與醫藥上的開發，內容主要闡述在臺灣渦鞭毛藻毒素研究的內容及在 APEC 計畫下所參與認證毒素標準品開發計畫，指出海洋渦鞭毛藻毒素及生物活性物質的研究可導引至具未來商品價值的毒素標準品與藥物製劑的開發。另由計畫後期加入研究之博士後研究員盧重光博士提報在主持人所指導的「臺灣原甲藻毒素的研究」於海報展中發表。

本計畫的各子計畫主持人與參與工作人員也都不約而同的參加本次會議。會議自六月二十四日起至二十九日。本次內容揭露了在美國、日本、法國、義大利的一些海洋天然物成份已進入 Phase II 或 Phase III 臨床藥物研究階段，而在可能成為藥物之成份方面也增添許多全合成與辦合成的開發研究。其中印象最深刻的內容包括：一些海綿或海鞘生物為了獲得足夠樣品於臨床研究，不得不走上動物養殖、細胞培養與基因轉殖等方向開發，一些例如印度、韓國、臺灣、中國大陸等也都有過去只有在已開發國中才有的研究成果，顯示海洋天然物研究的年輕世代已經在新的一些臨海國家蓬勃發展起來，而且已有非常驚人的成果。臺灣目前在這計畫中才算是真正的被重視得以組成團隊，但整體人數與經費仍是非常有限。

本次會議由日本琉球大學理學院化學系 Prof. Tatsuo Higa 擔任會議主席，在日本琉球大學、琉球 Nago 市政府、日本國家觀光組織、日本化學學會、日本藥學學會、日本水產學會、日本海洋生物技術學會、日本生物科學、生物技術與農業化學協會以及四十多家公民營產業的贊助，使得與會者在有限的註冊費支付下得以享受物價高昂環境下的熱忱招待。以下隨附會議議程與受邀演講者名單，以及主持人受邀演講內容摘要。

受邀演講者 (Invited Speakers)

The following scientists have accepted to give an invited lecture.

Raymond J. Andersen	University of British Columbia, Canada
Roberto Berlinck	Universidade de Sao Paulo, Brazil
Bruce F. Bowden	James Cook University, Australia
Hong-Nong Chou	National Taiwan University, Taiwan
M. Iqbal Choudhary	University of Karachi, Pakistan
Guido Cimino	CNR, Naples, Italy
Phillip Crews	University of California, Santa Cruz, USA
D. John Faulkner	Scripps Institution of Oceanography, USA
Paul Helquist	University of Notre Dame, USA
Charles W. Jefford	University of Geneva, Switzerland
Yoel Kashman	Tel-Aviv University, Israel
Motomasa Kobayashi	Osaka University, Japan
Yves Langlois	CNRS, Orsay, France
Shigeki Matsunaga	University of Tokyo, Japan
Akio Murai	Hokkaido University, Japan
Hiroshi Nagai	Suntory Institute for Bioorganic Research, Japan
Peter T. Northcote	Victoria University of Wellington, New Zealand
Ian Paterson	University of Cambridge, UK
Valerie J. Paul	University of Guam, USA
Josef R. Pawlik	University of North Carolina, Wilmington, USA
George R. Pettit	Arizona State University, Tempe, USA
Shirley A. Pomponi	Harbor Branch Oceanographic Institution, USA
Peter Proksch	Heinrich-Heine University, Dusseldorf, Germany
Ricardo Riguera	Universidad de Santiago, Spain
Yuzuru Shimizu	University of Rhode Island, USA

Final Scientific Program

Sunday, June 24, 2001		
15:00 - 19:00	Registration	Bankoku-Shinryokan
19:00 - 21:00	Mixer	Busena Resort Poolside
Monday, June 25		
08:30 - 9:00	Opening ceremony	
Isolation and Structure Elucidation I		
	Chair: Prof. William Fenical and Prof. Ryuichi Higuchi	
09:00 - 09:40	IL1	Prof. Raymond J. Andersen
		Anti-mitotic and Anti-angiogenic Marine Natural Products
09:40 - 10:10	IL2	Dr. Shigeki Matsunaga
		Novel Bioactive Peptides from Sponges of the Genus <i>Theonella</i>
10:10 - 10:30	OR1	Mr. C. K. Narkowicz
		New Brominated Alkaloids from a Tasmanian Collection of the Marine Bryozoan <i>Amathia convoluta</i>
10:30 - 11:00	Coffee Break	
	Chair: Prof. Nobuhiro Fusetani and Dr. Adrian J. Blackman	
11:00 - 11:30	IL3	Prof. Peter Proksch
		Bioactive Natural Products from Tropical Marine Invertebrates and Associated Fungi
11:30 - 11:50	OR2	Dr. N. Alam
		New Diacetylenes and a Pyridinium Alkaloid from the Stony Coral <i>Montipora</i> sp.
11:50 - 12:10	OR3	Dr. Colin E. Skene
		Metabolites from Southern Australian Marine Invertebrates and Microbes
12:10 - 12:40	IL4	Prof. Valentin A. Stonik
		New Polar Marine Natural Products.
12:40 - 14:00	Lunch	
	Chair: Prof. Takenori Kusumi and Dr. John W. Blunt	
14:00 - 14:30	IL5	Prof. Ricardo Riguera
		New Advances in the Assignment of Absolute Configuration by NMR: Use of a Single Derivative and Application to Polyfunctional Compounds
14:30 - 14:50	OR4	Prof. Tadeusz F. Molinski

	Absolute Stereostructure of Lobocyclamides, Modified Peptides from a Marine Cyanobacterium	
14:50 - 15:10	OR5	Prof. Jun'ichi Kobayashi
	Stereochemistry of Amphidinolides C and H	
15:10 - 15:30	OR6	Dr. Patrizia Ciminiello
	Toxins from Adriatic Mussels: a Global Overview	
15:30 - 16:00	IL6	Prof. M. Iqbal Choudhary
	Chemical Investigations of Marine Organisms of the Northern Arabian Sea	
16:00 - 19:00	Poster I	
Tuesday, June 26		
Synthesis I		
	Chair:	Prof. Yasuji Yamada and Prof. Bradley S. Davidson
08:30 - 09:00	IL7	Prof. Yves Langlois
	Recent Advances in Bioactive Marine Natural Products Synthesis	
09:00 - 09:20	OR7	Prof. Masako Nakagawa
	Synthetic Studies to Manzamine A, Manzamine B, and Nakadomarin A	
09:20 - 09:40	OR8	Dr. Naoki Toyooka
	Enantioselective Total Synthesis of the Marine Alkaloids Clavepictines A and B, Pictamine, and Lepadin B	
09:40 - 10:00	OR9	Prof. Daniel Romo
	Synthetic and Biomechanistic Investigations of the Immunosuppressive Marine Alkaloids, Pateamine A and Palau'amine	
10:00 - 10:30	IL8	Prof. Akio Murai
	Recent Developments in Marine Toxins Synthesis	
10:30 - 11:00	Coffee Break	
	Chair:	Prof. Minoru Isobe and Prof. Daniel Romo
11:00 - 11:30	IL9	Dr. Ian Paterson
	Synthesis of Highly Cytotoxic Marine Macrolides: an Aldol-based Approach to the Spongistatin/Altohyrtin Family	
11:30 - 11:50	OR10	Prof. Bradley S. Davidson
	Synthetic Approaches to the Microtubule-stabilizing Agent Laulimalide	
11:50 - 12:10	OR11	Prof. Masaaki Miyashita
	Synthetic Studies of Scytophycin C, an Algal Natural Product Having Potent Antitumor Activity, by Use of New Acyclic Stereocontrol	
12:10 - 12:30	OR12	Prof. Jordan K. Zjawiony
	Allylic Oxidation of Sarcophine and its Derivatives	

12:30 - 14:00	Lunch	
14:00 -	Excursion I	
18:30 - 20:30	Governor/Mayor Reception	Yugaf Inn Okinawa
Wednesday, June 27		
Chemical Ecology		
	Chair:	Prof. Roy K. Okuda and Prof. Tadahiko Kajiwara
08:30 - 09:00	IL10	Prof. Valerie J. Paul
	Naturally Occurring Mixtures of Secondary Metabolites as Defenses against Diverse Consumers and Competitors	
09:00 - 09:20	OR13	Prof. Tom Turk
	Structural Properties and Biological Activities of Alkylpyridinium Polymers from a Marine Sponge <i>Reniera sarai</i>	
09:20 - 09:40	OR14	Ms. Mina Yasumoto
	Kairomone-like Substances Causative of Morphological Changes of Micro Green Algae from Crustacean <i>Daphnia</i> sp.	
09:40 - 10:10	IL11	Prof. Joseph R. Pawlik
	Of Soap and Stench: Which Secondary Metabolites Protect Caribbean Sponges from Predation?	
	Of Soap and Stench: Which Secondary Metabolites Protect Caribbean Sponges from Predation?	
10:10 - 10:30	OR15	Prof. Paul J. Scheuer
	An Appendix to an Old Tale	
10:30 - 11:00	Coffee Break	
	Chair:	Prof. Bill Baker and Prof. Jun'ichi Kobayashi
11:00 - 11:30	IL12	Prof. Bruce F. Bowden
	Inhibitors of Key Kynurenine Pathway Enzymes	
Biosynthesis and Bioproduction		
11:30 - 11:50	OR16	Prof. H. Laatsch
	Screening in New Marine Habitats: Bacterial Metabolites from the North Sea	
11:50 - 12:30	IL13	Prof. D. John Faulkner
	Do Symbionts Produce the Bioactive Compounds found in Marine Invertebrates?	
12:30 - 14:00	Lunch	
	Chair:	Prof. E. Fattorusso and Prof. Daisuke Uemura
14:00 - 14:30	IL14	Dr. Shirley A. Pomponi

	Application of DNA Microarray Technology for Gene Discovery and Expression Analysis in a Marine Sponge	
14:30 - 15:00	IL15	Prof. Guido Cimino
	Recent Biosynthetic Studies of Opisthobranch Molluscs	
15:00 - 15:20	OR17	Prof. William Fenical
	Marinospora, a Major New Marine Actinomycete Taxon for Drug Discovery	
15:20 - 15:40	OR18	Dr. Colin Barrow
	Marine Natural Products as Nutraceuticals and Functional Foods	
15:40 - 16:10	IL16	Yuzuru Shimizu
	Dinoflagellate Polyketides: from Brevetoxins to Zooxanthellatoxins - a Tribute to Professor H. Nakamura	
16:10 - 19:10	Poster II	
Thursday, June 28		
Synthesis II		
	Chair:	Prof. Ian Paterson and Prof. Masaaki Miyashita
08:30 - 09:00	IL17	Prof. Paul Helquist
	Chemical and Biological Studies of Cytotoxic Macrolides of Marine Origin	
09:00 - 09:20	OR19	Prof. Minoru Isobe
	Strategy and Synthesis of (-)-Tetrodotoxin Analogs	
09:20 - 09:40	OR20	Dr. Tohru Oishi
	Synthetic Study of Ciguatoxin CTX3C	
09:40 - 10:00	OR21	Prof. Kazuo Tachibana
	Studies toward Total Synthesis of Ciguatoxins	
10:00 - 10:30	IL18	Prof. Charles W. Jefford
	The Use of Five-membered Heterocycles for Assembling Some Marine Natural Products	
10:30 - 11:00	Coffee Break	
	Chair:	Prof. Paul Helquist and Dr. Jongheon Shin
11:00 - 11:20	OR22	Dr. Fumito Yokokawa
	Total Synthesis of the Antiviral Marine Natural Product (-)-Hennoxazole A	
11:20 - 11:40	OR23	Dr. Carmen Cuevas
	Definition of a Commercial Synthetic Route to ET-743	
Isolation and Structure Elucidation II		
11:40 - 12:00	OR24	Prof. Heonjoong Kang

	Isolation of an Iron Complex from a Marine Ascidian, <i>Didemnum</i> sp.	
12:00 - 12:30	IL19	Prof. Roberto G. S. Berlinck
	New Alkaloids from Brazilian Marine Invertebrates	
12:30 - 14:00	Lunch	
	Chair:	Prof. Murray H. S. Munro and Prof. Chang-Yih Duh
14:00 - 14:40	IL20	Prof. Yoel Kashman
	On the Biogenesis of Marine Isoprenoids	
14:40 - 15:10	IL21	Dr. Peter T. Northcote
	The Variability of Cytotoxic Metabolites Production in Populations of the New Zealand Sponge <i>Mycale</i> sp.	
15:10 - 15:40	IL22	Prof. Abimael D. Rodriguez
	Novel Terpenes with Antimycobacterial Activity Isolated from the West Indian Gorgonian Octocorals <i>Pseudopterogorgia bipinnata</i> (Verrill) and <i>Pseudopterogorgia elisabethae</i> (Bayer)	
15:40 - 16:10	IL23	Prof. Hong-Nong Chou
	Studies of Dinoflagellate Toxins toward Certified Reference Material and Pharmaceutical Development	
16:10 - 16:40	Coffee Break	
16:40 - 17:30	Business Meeting	
19:00 - 21:00	BBQ Dinner	
Friday, June 29		
Mode of Action and Drug Development		
	Chair:	Prof. Chris Ireland and Dr. David Newman
08:30 - 09:10	IL24	George R. Pettit
	From a Marine Bryozoan to the Clinic: the Bryostatins	
09:10 - 09:30	OR25	Dr. Jose Jimeno
	Marine Derived Anticancer Drugs: a Journey from the Organisms to Clinical Trials	
09:30 - 10:00	IL25	Prof. Motomasa Kobayashi
	Bioassay-guided Search for Bioactive Spongean Products	
10:00 - 10:30	IL26	Dr. Hiroshi Nagai
	Protein Toxins from Stinging Cnidarians	
10:30 - 10:50	OR26	Dr. Charles F. B. Holmes
	Elucidation of Molecular Mechanisms Underlying Regulation of Human Protein Phosphatase-1 (PP-1) by Marine Toxins and Determination of the Crystal Structure of Okadaic Acid Complexed to PP-1.	
10:50	Closing Remarks	

STUDIES OF DINOFLAGELLATE TOXINS TOWARDS CERTIFIED REFERENCE MATERIAL AND PHARMACETICAL DEVELOPMENT

Hong-Nong Chou¹, Chung-Kung Lu¹, Yasukatsu Oshima² and Michael A. Quilliam³

¹*Institute of Fisheries Science, National Taiwan University, Taipei 10617, Taiwan*

²*Graduate School of Agriculture Science, Tohoku University, Sendai 981-8555, Japan*

³*Institute for Marine Biosciences, National Research Council, Halifax, NS, B3H 3Z1, Canada*

Marine dinoflagellates have been known to produce different toxins that may cause seafood poisonings of various types, such as PSP, NSP, DSP and ciguatera, through the contamination by filter-feeding or food-chain transmission of the toxic algae or toxins. To ensure the safe consumptions of seafood and safeguarding the public health, certified toxin standards and reference materials are under developing for quality assurance of the analytical methods that will enable the governmental agencies to implement the regulatory monitoring of shellfish products. From *Alexandrium minutum*, solutions of gonyautoxin mixture and saxitoxin were packed as domestic standards for establishing mouse bioassay and HPLC-FLD analysis. These samples were also quantitatively calibrated in different laboratories according to their sample standards. It showed the different results of performance due to the different criteria of standardization in different laboratories. All these demonstrated inter-laboratory calibrations with the support of certified standards and reference materials are needed. Cultures of different strains of *A. minutum* were selected for toxin production. While in search of dinoflagellate toxins that may be utilized for toxin standard production, various species of both planktonic and benthic dinoflagellate were isolated from local waters of Taiwan and maintained as unialgal cultures in the laboratory. Toxic species and fractions were identified by the mouse and brine shrimp larvae toxicity assay, in addition to the cytotoxicity assay using both HONE-1 and NUGC cell lines. We reported here some initial separation and identification of procontrolide and okadaic acid derivatives from *Prorocentrum* species, especially a new macrocyclic lactone, spiro-prorocentrimine, with a crystalline configuration.