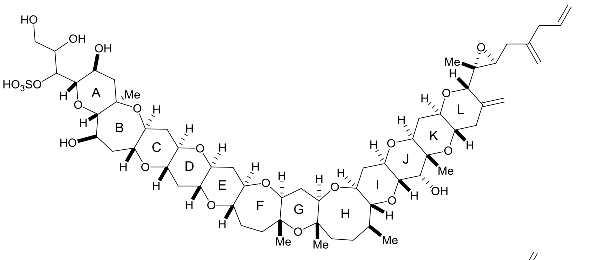
NATURAL PRODUCTS CHEMISTRY

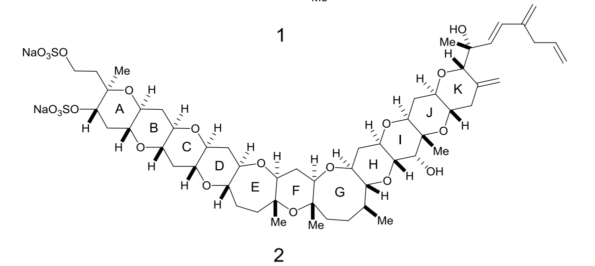
Annual Research Highlights

(1) "Gambieroxide, a novel epoxy polyether compound from the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* GTP2 strain "

Ciguatera fish poisoning is one of seafood poisonings which mainly occurs in tropical and subtropical coral reef areas in the world. Typical symptoms of ciguatera fish poisoning are gastrointestinal, neurologic and/or neuropsychiatric disorders for days to years. The causative agents are ciguatoxin (CTX) and its congeners, which act on voltage sensitive sodium channels as agonists. CTXs from the Pacific Ocean are originally produced by the benthic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* and accumulated in fish through marine food webs. Besides the ciguatoxins responsible for ciguatera fish poisoning, the dinoflagellate produces several bioactive ladder-frame polyether compounds such as gambierol showing CTX-like symptoms against mice, gambieric acids having potent antifungal activities, and maitotoxin enhancing calcium ion influx across cell membrane. During our search for the CTX-producing strains, a novel epoxy ladder-frame polyether compound named gambieroxide (Fig. 1, **1**) was isolated from the dinoflagellate *G. toxicus*. Gambieroxide had a ladder-frame polyether structure resembling yessotoxin (YTX, **2**) strikingly, one of the lipophilic toxins in shellfish produced by entirely a different dinoflagellate group *Protoceratium reticulatum*.



1



2

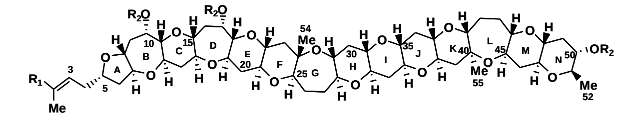
Fig. 1 Structures of gambieroxide (**1**) from *Gambierdiscus toxicus* and yessotoxin (**2**) from *Protoceratium reticulatum*.

1.(1)-1) *Tetrahedron*, **69**, 10299-10303 (2013)

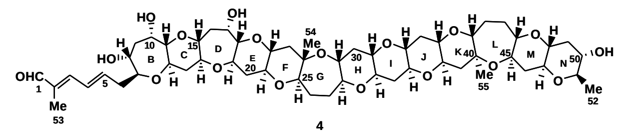
(2) "Gymnocin-A carboxylic acid and gymnocin-A2, new cytotoxic polyethers from the red tide dinoflagellate, *Karenia mikimotoi*"

Red tides due to blooms of phytoplankton result in massive fish kills in the fields. Dinoflagellate *Karenia mikimotoi* is one of the most notorious red tide species, causing devastating damage to aquaculture and marine ecosystems worldwide, and the mechanism of its toxic effect on fish remains unknown. Using a cytotoxicity assay instead of the elusive ichthyotoxicity assay led to isolate ladder-frame polyethers, termed gymnocins. The structures of gymnocin-A (**1**) and gymnocin-B (**2**) were determined by the complementary use of NMR and FAB tandem mass spectrometry with collision-induced dissociation experiments. Their structures were characterized by saturated contiguous ether rings and a 2-methylbut-2-enal side chain. Gymnocin-A possesses 14 contiguous ether rings in the molecule, while gymnocin-B is constructed with 15 contiguous ether rings. In our continued efforts to clarify other congeners, the structures of gymnocin-A carboxylic acid (**3**) and a new analog, gymnocin-A2 (**4**) were elucidated.

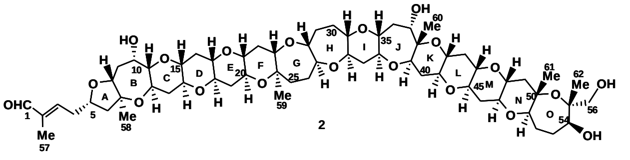
The aldehyde in the side chain and ring A are nonessential, but a terminal electrophilic conjugated system and hydroxyl groups on the ether rings are essential for cytotoxicity of gymnocins. Although known gymnocins may have shown relatively weak activity compared with other cytotoxic marine natural products, *K. mikimotoi* produces much more potent congeners.



1 R_1 = CHO, R_2 = H
3 R_1 = COOH, R_2 = H
5 R_1 = CH_2OH, R_2 = H
6 R_1 = CHO, R_2 = $COCH_3$



4



2

Fig. 2 Structures of gymnocins.

1.(1)-2) *Heterocycles*, **87**, 2037-2046 (2013)

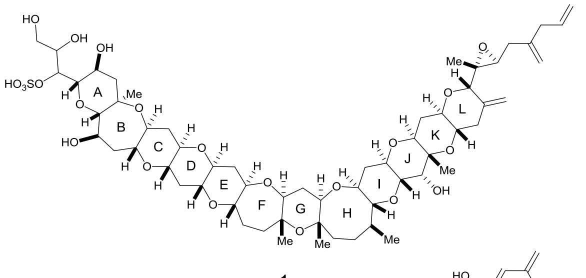
天然物化学研究室

研究ハイライト

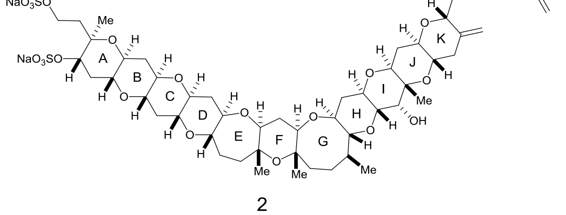
(1)魚類食中毒原因渦鞭毛藻が生産するエポキシドポリエーテル化合物の単離と構造

熱帯亜熱帯のサンゴ礁域で発生する魚類食中毒シガテラは、本来無毒な魚が毒化し、毒化した魚を食べたヒトが中毒して発生する。その毒化機構は、有毒プランクトンが生産する原因毒シガトキシンが、食物連鎖を介して、藻食魚、肉食魚へと移行蓄積していく。原因種は、底性渦鞭毛藻 *Gambierdiscus toxicus* と同定され、シガトキシンの他に、K チャネルに作用する梯子状ポリエーテル化合物ガンビエロールと黒カビ *Aspergillus niger* に対してアンフォテリシン B の 2000 倍の抗カビ活性を有するガンビエル酸を生産している。

ガンビエロキシド（１）は仏領ポリネシアで採取された *Gambierdiscus toxicus*　GTP-2 株より単離された分子内にエポキシドを有するポリエーテル化合物である。分子内に 12 個のエーテル環と硫酸基を有し、C 環から L 環までの構造は、渦鞭毛藻 *Protoceratium reticulatum* が生産するマウス有毒成分イエッソトキシン（２）と共通である。イエッソトキシンは、二枚貝に蓄積し、腹腔内投与で、マウスに神経性の症状を与える有毒成分である。異なる種に属する渦鞭毛藻が基本骨格の共通した二次代謝産物を生産することから、生合成遺伝子は、渦鞭毛藻の種間で保存されていることが示唆された。



1



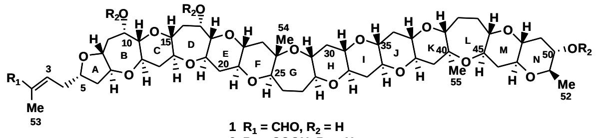
2

図 1　ガンビエロキシド（１）とイエッソトキシン（２）の構造

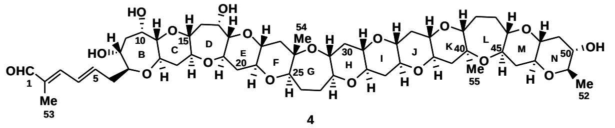
1.(1)-1) *Tetrahedron*, **69**, 10299-10303 (2013)

(2) 赤潮渦鞭毛藻が生産する細胞毒ポリエーテル化合物ジムノシン類の構造決定

渦鞭毛藻の異常増殖により発生する赤潮は、健康被害や魚類の大量斃死をもたらし、公衆衛生上また、産業上大きな問題である。西日本で赤潮による被害が報告されている渦鞭毛藻 Karenia mikimotoi は、マウスリンパ腫細胞に対して細胞毒性を有する梯子状ポリエーテル化合物ジムノシンを生産している。ジムノシンーA(**1**)は、14 個のエーテル環が梯子状に縮環し、ジムノシンーB (**2**)は 15 個のエーテル環が縮環し、2-メチル 2-ブテナール側鎖を特徴とし、NMR スペクトルと FAB MS/MS 実験によりその構造が決定されていた。ジムノシンーA カルボン酸(**3**)は、側鎖アルデヒドがカルボン酸に酸化された類縁体であった。ジムノシン-A2 (**4**)は、5 員環エーテルが開裂し、側鎖の二重結合が増えた構造をしていた。ジムノシン-A2 に細胞毒性が検出されたことから、ジムノシン類の細胞毒性に末端の 5 員環エーテルは、必須でないことが明らかとなった。しかしながら、アルデヒド基がアルコールに還元された **5**、エーテル環上のヒドロキシ基をアセチル化した **6** の細胞毒性が非常に弱いことから、末端の共役カルボニルと分子内のヒドロキシ基はジムノシン類の細胞毒性発現に必須の構造であった。



1 R_1 = CHO, R_2 = H
3 R_1 = COOH, R_2 = H
5 R_1 = CH_2OH, R_2 = H
6 R_1 = CHO, R_2 = $COCH_3$



4

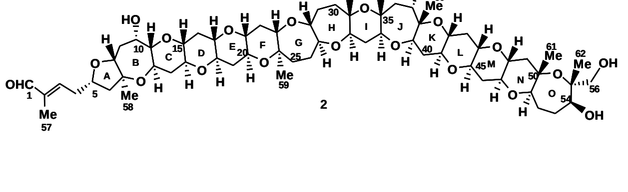


図 2　細胞毒性ポリエーテル化合物ジムノシン類の構造

1.(1)-2) *Heterocycles*, **87**, 2037-2046 (2013)

1. 原著論文

(1) Refereed Journals

1) R. Watanabe, H. Uchida, T. Suzuki, R. Matsushima, M. Nagae, Y. Toyohara, M. Satake, Y. Oshima, A. Inoue, T. Yasumoto, “Gambieroxide, a novel epoxy polyether compound from the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* GTP2 strain ”, *Tetrahedron*, **69**, 10299-10303 (2013).

2) Y. Tanaka, M. Satake, M. Yotsu-Yamashita, Y. Oshima, "Gymnocin-A carboxylic acid and gymnocin-A2, new cytotoxic polyethers from the red tide dinoflagellate, *Karenia mikimotoi*”, *Heterocycles*, **87**, 2037-2046 (2013).