

Annual Research Highlights

(1) “Brevisulcenal-G, -H, and -I, polycyclic ether marine toxins from the dinoflagellate *Karenia brevisulcata*”

In 1998, a wide-spread dinoflagellate bloom occurred in Wellington Harbour, New Zealand that caused mortality of many species from diatoms to fish. It also caused human illness with more than 500 harbor bystanders reporting respiratory distress with a dry cough, severe sore throat, skin and eye irritations, severe headaches, and facial sun-burn sensations. A new dinoflagellate, *Karenia brevisulcata* was identified as the causative species. Dinoflagellates within the *Karenia* genus are well known to cause red-tide events and have been shown to produce marine ladder-frame polyethers with unsaturated aldehyde side-chains such as brevetoxins, and gymnocins. Cell culture extracts of *K. brevisulcata* showed mouse lethality, cytotoxicity, and ichthyotoxicity.

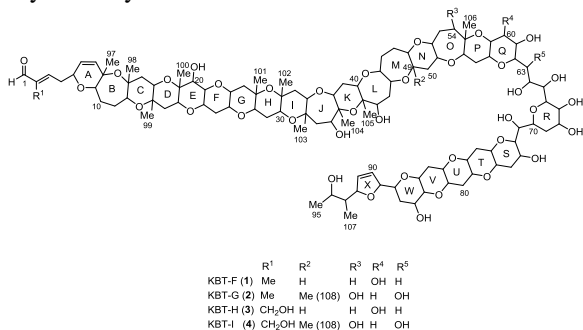


Fig. 1 Structures of brevisulcenal -F (KBT-F, 1), -G (KBT-G, 2), -H (KBT-H, 3), and -I (KBT-I, 4)

A major toxin, brevisulcenal-F (KBT-F, 1) is a giant planar polycyclic ether compound comprising 24 ether rings, including a dihydrofuran. KBT-F contains 17 contiguous ether rings A-Q, which are the longest of known polycyclic ethers. In this study the structures of three new KBT analogues, brevisulcenals-G (KBT-G, 2), -H (KBT-H, 3), and -I (KBT-I, 4) were elucidated by spectroscopic methods.

Cytotoxicity of KBTs against mouse leukemia P388 cells were determined to be 0.14-2.7 nM. This shows that the oxidized olefinic (hydroxymethylene) terminus of 3 and 4 slightly enhanced their cytotoxicity relative to that of 1 and 2. The branched primary alcohols of 3 and 4 were deduced to be generated by oxidation of olefinic methyls in the side chains of 1 and 2, respectively. Such oxidation of branched methyls is very rare among secondary metabolites from dinoflagellates. The greater cytotoxicity of 3 and 4 than that of 1 and 2 indicates that this oxidation of the olefinic methyls enhances their toxicity.

1.(1)-1) *Heterocycles*, **96**, 2096-2105 (2018)

(2) “Convergent synthesis of the WXYZ ring of maitotoxin and the HIJK ring of brevisulcenal-F”

A convergent method to construct the 6/7/6/6-tetracyclic ether system possessing contiguous angular methyl groups was developed. The key steps of the synthesis involve coupling of a lithium acetylide and an aldehyde, cyclodehydration of a hydroxy ketone to form a dihydropyran, ring expansion of a six-membered ring ketone into a seven-membered one, and methylation of a mixed-thioacetal. The NMR spectra of 1b and 1c were compared with those of KBT-F. The differences in the chemical shifts between KBT-F, 1b and 1c are shown in Figure 3: (a) ¹H NMR (600 MHz, C₅D₅N), (b) ¹³C NMR (150 MHz, C₅D₅N). For both diastereomers, ¹H NMR chemical shifts at both termini deviated because the structures are different from the natural product. However, for other parts, chemical shifts of 1b are identical with those of KBT-F, while those of 1c at C33 and C38 deviate by 1.03 and 0.68 ppm, respectively. Analogously, ¹³C NMR chemical shifts at both termini deviate for both diastereomers, and chemical shifts of 1b for other parts are identical with those of KBT-F. Therefore, the structure of the HIJK ring system of KBT-F has been confirmed.

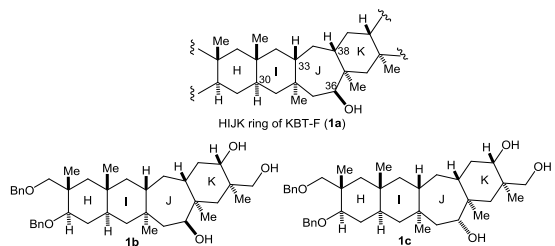


Figure 2. Partial structure of the HIJK ring of KBT-F (1a) and 6/7/6/6-tetracyclic ether (1b, 1c).

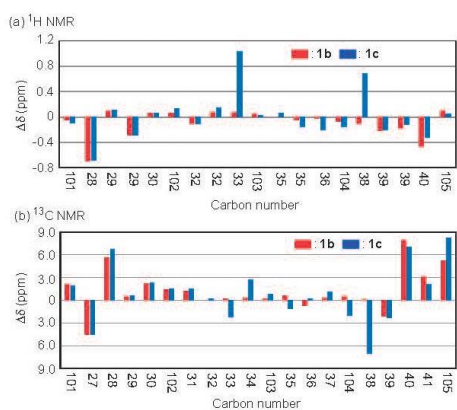


Figure 3. Differences in chemical shifts between KBT-F and the synthetic fragments. (a) ¹H NMR (600 MHz, C₅D₅N), (b) ¹³C NMR (150 MHz, C₅D₅N)

2.(1)-2) *Chem. Lett.*, **47**, 265-268 (2018)

研究ハイライト

(1)大規模赤潮被害を引き起こした、梯子状ポリエーテル赤潮毒類縁体プレビスルセナール類縁体の構造

1998年初頭、ニュージーランド南島のウェリントン湾で大規模な赤潮が発生し、湾内で海洋生物が大量死した。同時に、エアロゾルが原因と推定されるヒトの健康被害も500症例以上報告された。原因種は新種の渦鞭毛藻 *Karenia brevisulcata* と同定され、その抽出液は細胞毒性、マウス致死毒性、溶血作用、魚毒性を示した。LC/MSによる分析の結果、2種の梯子状ポリエーテル化合物が検出された。赤潮毒の全容解明に向け、その単離構造決定に着手した。

K. brevisulcata の抽出液をクロロホルム/水で二相分配したところ、脂溶性画分には主に分子量2,000を超す梯子状ポリエーテル化合物プレビスルセナール(KBT)が含まれていた。KBTは、マウス致死毒性およびマウス白血病細胞P388に対する毒性をもつ。

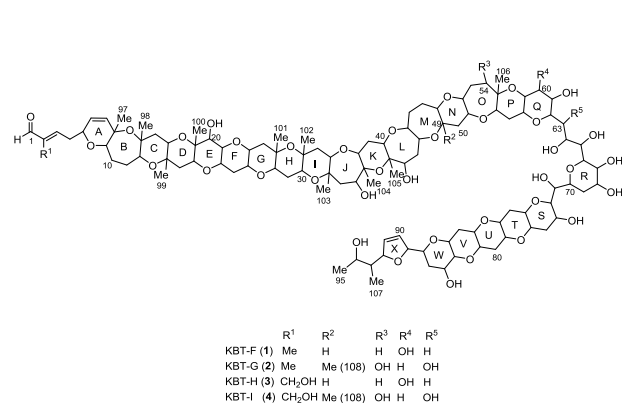


図1 梯子状ポリエーテル赤潮毒, *brevissulcena*-F (KBT-F, 1), -G (KBT-G, 2), -H (KBT-H, 3), and -I (KBT-I, 4) の構造

渦鞭毛藻の抽出液より、カラムクロマトグラフィーにより、KBT-G(2)、KBT-H(3)、KBT-I(4)の3成分の類縁体を単離し、NMRスペクトルとTOF/TOFの解析により、これら類縁体の構造決定に成功した(図1)。KBT-HとKBT-Iは、それぞれ、KBT-FとKBT-Gのアルデヒド側鎖のメチル基が1級ヒドロキシ基へと酸化された構造を有していた。プレビスルセナール類は、マウス白血病細胞P388に強力な細胞毒性を示した。メチル基が酸化された類縁体の細胞毒性が、酸化されていないプレビスルセナールのものより強力であることから、分子末端の酸化度がプレビスルセナールの毒性に大きく影響することが明らかとなった。

1.(1)-1) *Heterocycles*, **96**, 2096-2105 (2018)

(2)マイトキシシ WXYZY 環とプレビスルセナール HIJK 環の収束的合成

プレビスルセナール-F (KBT-F) のHIJK環部に相当する6/7/6/6の4環性ポリ環状エーテルをリチウムアセチリドとアルデヒドとのカップリング、ジヒドロピラン環形成と6員環ケトンから7員環への環拡張反応を鍵反応として合成した(図2)。7員環上にヒドロキシ基を立体選択的に導入し、(1b)(1c)を得た。(1b)(1c)のNMRスペクトルをKBT-FのNMRスペクトルと比較したところ、(1b)の¹H、¹³Cケミカルシフトは、KBT-Fのものと同じ一致を示した。一方、(1b)の¹H、¹³Cケミカルシフトは、36位周辺と、33位、38位シグナルが大きく異なっていた。この結果から、KBT-Fの33位ヒドロキシ基は、βであることが確認され、提唱されていた立体化学が正しいことが証明された。

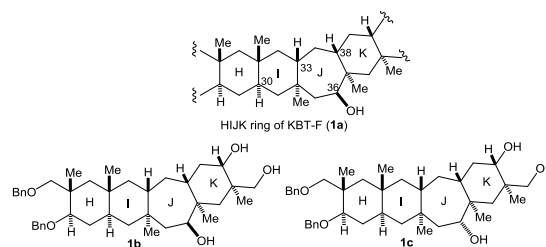


図2 プレビスルセナール-FのHIJK環部分構造(1a)と6/7/6/6エーテルの構造(1b, 1c)

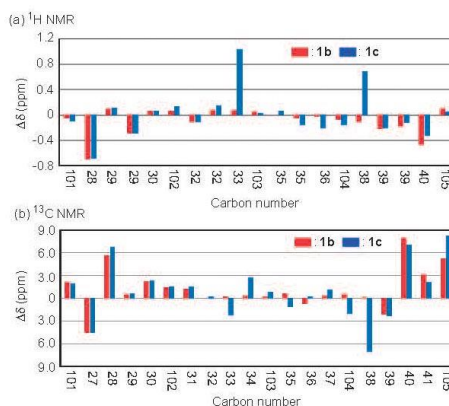


図3 プレビスルセナール-FのHIJK環部分と6/7/6/6エーテルのNMRケミカルシフトの比較(a) ¹H NMR (600 MHz, C₅D₅N), (b) ¹³C NMR (150 MHz, C₅D₅N)

2.(1)-2) *Chem. Lett.*, **47**, 265-268 (2018)

1. 原著論文

(1) Refereed Journals

- 1) M. Satake, R. Irie, Y. Hamamoto, K. Tachibana, P. T. Holland, D. T. Harwood, F. Shi, V. Beuzenberg, Y. Itoh, F. Hayashi, H. Zhang, “Brevisulcena-G, -H, and -I, Polycyclic Ether Marine Toxins from the Dinoflagellate *Karenia brevisulcata*” *Heterocycles*, **96** (12) 2096-2105 (2018).
- 2) N. Osato, H. Onoue, Y. Toma, K. Torikai, M. Ebine, M. Satake, T. Oishi, “Convergent synthesis of the WXYZ ring of maitotoxin and the HIJK ring of brevisulcena-F” *Chem. Lett.*, **47**, 265-268 (2018).