

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25620028

研究課題名(和文)立体固定型発色団合成を基盤とするフィトクロムの構造と機能の解明

研究課題名(英文)Elucidation of Phytochrome Functions Based on Syntheses of Sterically Locked Phytochrome Chromophores

研究代表者

宇梶 裕(Ukaji, Yutaka)

金沢大学・物質化学系・教授

研究者番号：80193853

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、“植物の眼”ともいえる光受容色素タンパク質フィトクロムの機能解明を、酸化的官能基化を基盤とする立体固定型フィトクロム発色団の化学合成から集中的に検討した。その結果、DDQを用いるC環型ピロールの酸化において、側鎖位の選択的酸化を実現することができ、これを応用して7員環、および8員環固定型15E-anti立体固定発色団の合成に目処をつけた。一方、CD環ジピロールのNBSによる酸化によりメソ位が選択的に臭素化されることを見出し、この臭素化体に、Grignard試薬を作用させると収率よく炭素鎖を導入できることを見出し、15E固定型フィトクロム発色団の合成を達成することができた。

研究成果の概要(英文)：Phytochromes play critical roles in various light-regulated processes through photoconversion from Pr to Pfr is thought to be a Z-to-E isomerization around the C15-C16 double bond. To elucidate the functions of phytochromes, the sterically locked tetrapyrrole chromophores were synthesized especially via oxidative functionalization of pyrrole compounds. Oxidation of the C-ring moiety with DDQ afforded the corresponding aldehyde, which was applied to the synthesis of the sterically locked seven-membered and 8-membered 15E-anti CD-ring component. Oxidation of the CD-ring component with NBS at the meso-position was achieved to give the corresponding meso-bromo CD-ring compounds. The introduction of carbon skeleton was realized by treatment with Grignard reagents. Finally, the substrate with leaving group at omega-position was converted to a meso-anchored sterically fixed 15E-chromophore.

研究分野：有機合成化学

キーワード：フィトクロム 生体分子 植物機能 光スイッチ 立体固定型 酸化的官能基化 テトラピロール発色団

1. 研究開始当初の背景

“植物の眼”フィトクロムは、陸上植物ではフィトクロモビルン(PΦB), シアノバクテリアではフィコシアノビルン(PCB), 他のバクテリアではビリベルジン(BV)の3種類のテトラピロール(ビルン)化合物を発色団として有し、生理学的に不活性な Pr 型と活性な Pfr 型との間で相互変換し、植物の発芽や生長, 分化等の様々な調節機能を有している。しかし, 発色団が天然に極微量しか存在せず, 不安定で単離・精製も極めて困難なため, その立体構造と機能に関する研究は事実上不可能であった。特に, フィトクロムの光異性化は, 15位の Z→E 異性化が機能発現の鍵と考えられているが, 現在でも諸説が提示されるなど, 立体配置・配座を含めた立体化学, 光異性化の機構, シグナル伝達機構は未解明であった。

2. 研究の目的

本研究では, 有機合成化学の立場から立体固定型フィトクロム発色団誘導体を合成し, フィトクロムの光異性化の機能解明を目的とした。

3. 研究の方法

すでに, A~D 環ピロール部位の合成とテトラピロールへのカップリング法を開発し, フィトクロム発色団を合成することが可能なレベルに達していた。また, 再構成実験においても 15E-anti 体が光無しでの発芽に有効であるという画期的事実も明らかとなった。本研究では, 立体固定型フィトクロム発色団合成による異性化機構の解明に重点を置きながら, 以下の検討を行った。

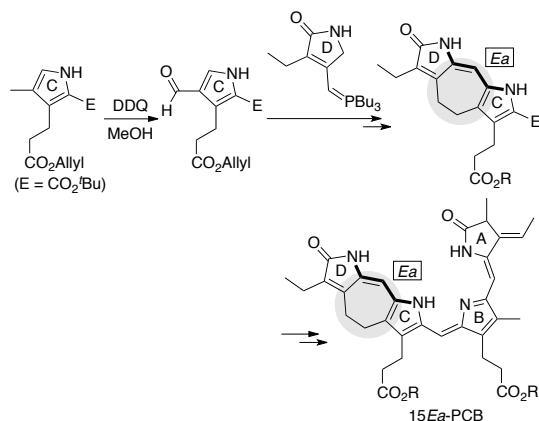
- ・酸化官能基化を基盤とする CD 環立体固定型フィトクロム発色団の合成
- ・Pr→Pfr 光異性化機構を目指す酸化官能基化を基盤とするメソ位立体固定型発色団合成

4. 研究成果

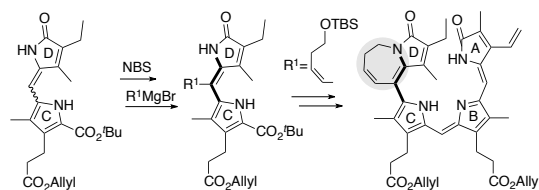
1) モノピロール類の位置選択的な酸化的官能基化法の開発を目的に, *o*-クロラニルによる酸化を検討したところ, ピロール環自身が酸化され, ピロリノン体が選択的に得られることを見いだした。一方, DDQ を用いる C 環型ピロールの酸化において, 側鎖 α 位の選択的酸化を実現することができた。また, 中間体であるアザフルベンに体する求核剤を変化させると, 3つの酸化段階を制御するこ

とができた。すなわち, 酢酸存在下ではアセトキシ体が, メタノール存在下ではカルボニル体が, 1,3-ジオール存在下ではエステル体が, それぞれ選択的に得られることを見いだした。

2) 得られた生成物を活用して, 15E-anti 固定型発色団合成においてこれまで用いていた直線型合成ルートに代え, 合成的により効率の高い収束型合成ルートを開拓することにより, 生物活性試験供与に充分耐えうるだけの合成の効率化について, 検討を行った。その結果, 従来は D 環上に C 環部位を導入して環化していたルートを大幅に短縮し, 上述の DDQ 酸化により得られる C 環アルデヒドを活用し, 7員環固定型 15E-anti 立体固定発色団の合成に目処をつけることもできた。一方, その C 環アルデヒドの一炭素増炭したアルデヒドへの簡便な変換法も開発し, 8員環固定型 15E-anti 立体固定 CD 環の合成も行うことができた。



3) CD 環ジピロールの NBS による酸化によりメソ位が選択的に臭素化されることを見出した。次に, この臭素化体を炭素置換体に変換できれば, メソ位固定型発色団の合成が可能と考え, 炭素鎖導入について検討したところ, ビニル型 Grignard 試薬を用いると収率よく炭素鎖を導入できることを見出した。そこで, この知見を元に ω 位に脱離基を有するビニル型 Grignard 試薬を反応させ, さらに環化反応を試みたところ, 15E 固定型 CD 環を得ることができた。最後に AB 環部位とのカップリングにより, 15E 固定型フィトクロム発色団の合成を達成することができた。



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 4 件)

- ① Y. Watanabe, T. Sakai, H. Maeda, M. Segi, T. Soeta, Y. Ukaji, Magnesium-Alkoxide Directed Photoaddition of Tetrahydrofurans to γ, γ -Disubstituted Allylic Alcohols. (査読有) *Heterocycles* **2016**, *93*, accepted.
- ② R. Sakata, T. Soeta, Y. Ukaji, One-Carbon Homologation of Pyrrole Carboxaldehyde via Wittig Reaction and Mild Hydrolysis of Vinyl Ether – Toward the Synthesis of a Sterically Locked Phytochrome Chromophore. (査読有) *Heterocycles* **2015**, *91*, 593–603. DOI: 10.3987/COM-14-13157
- ③ Y. Tanaka, R. Iwamoto, R. Sakata, T. Soeta, K. Endo, S. Fujinami, K. Inomata, Y. Ukaji. Regioselective Introduction of Substituents to the *meso*-Position of Pyrromethenone Derivative – Application to the Synthesis of Sterically Fixed Phytochrome Chromophore Anchored to the C15 *meso*-Position. (査読有) *Heterocycles* **2015**, *90*, 883–892. DOI: 10.3987/COM-14-S(K)97
- ④ Y. Hirose, N. C. Rockwell, K. Nishiyama, R. Narikawa, Y. Ukaji, K. Inomata, J. C. Lagarias, M. Ikeuchi, Green/red Cyanobacteriochromes Regulate Complementary Chromatic Acclimation via a Protochromic Photocycle. (査読有) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, 4974–4979. DOI: 10.1002/asia.201201180

[学会発表] (計 12 件)

- ① N. Ohashi, T. Soeta, Y. Ukaji, Development of Sterically Fixed Phytochrome Chromophores Anchored to *meso*-Position, The First International Symposium on Center of Excellence for Innovative Material Sciences Based on Supramolecules, 2016 年 3 月 10 日 (Kanazawa)
- ② K. Kitakaku, T. Soeta, Y. Ukaji, Novel Synthesis of D-Ring of Sterically Locked 15*Ea*-Phytochrome Chromophores, The First International Symposium on Center of Excellence for Innovative Material Sciences Based on Supramolecules, 2016 年 3 月 10 日 (Kanazawa)
- ③ N. Ohashi, K. Kitakaku, T. Soeta, Y. Ukaji, Synthetic Studies on Sterically Locked Phytochrome Chromophores toward Elucidation of Phytochrome Functions, The 13th International Kyoto Conference on New Aspect of Organic Chemistry (IKCOC13), 2015 年 11 月 12 日 (Kyoto)
- ④ 宇梶 裕, 立体固定型フィトクロム発色団の合成-フィトクロムの光機能解明を目指して, 慶応義塾大学理工学部特別講演会, 2015. 3. 25 (横浜)
- ⑤ 宇梶 裕, 酸化的官能基化を基盤とする立体固定型フィトクロム発色団の合成,

石原産業中央研究所特別講演会, 2015. 2. 6 (草津)

- ⑥ Y. Ukaji, Synthesis of Sterically Locked Phytochrome Chromophores via Selective Oxidation of Pyrrole Compounds, IUPAC 10th International Conference on Novel Materials and their Synthesis (NMS-X), 2014, 10, 12 (Zhangzhou, China)
- ⑦ 坂田 亮・岩本亮司・陳 礼翼・猪股勝彦・宇梶 裕, ピロール化合物の酸化的官能基化を基盤とする立体固定型フィトクロム発色団の合成研究, 有機合成化学北陸セミナー, 2014 年 10 月 3 日 (福井)
- ⑧ 坂田 亮・岩本 亮司・陳 礼翼・猪股勝彦・宇梶 裕, ロール化合物の酸化的官能基化を基盤とする立体固定型フィトクロム発色団の合成研究, 第 44 回 複素環化学討論会, 2014 年 9 月 11 日 (札幌)
- ⑨ 坂田 亮・高橋香奈・岩本亮司・陳 礼翼・猪股勝彦・宇梶 裕, 立体固定型フィトクロム発色団の合成研究, 有機合成化学北陸セミナー, 2013 年 10 月 4 日 (金沢)
- ⑩ 高橋香奈・岩本亮司・坂田 亮・添田貴宏・猪股勝彦・宇梶 裕, グリコール存在下 DDQ を用いた 4-メチルピロール-2-カルボン酸エステルの酸化反応, 有機合成化学北陸セミナー, 2013 年 10 月 4 日 (金沢)
- ⑪ 坂田 亮・岩本亮司・陳 礼翼・猪股勝彦・宇梶 裕, ピロール化合物の酸化反応を利用した立体固定型フィトクロム発色団の合成, 有機合成化学セミナー, 2013 年 9 月 18 日 (倉敷)
- ⑫ Y. Ukaji, Oxidative Functionalization of Pyrroles toward Synthesis of Sterically Locked Phytochromobilin Derivatives, 15th Asian Chemical Congress 2013 (15 ACC), 2013, 8, 23 (Singapore)

[図書] (計 5 件)

- ① 「金属水素化物による還元法」山田 徹, 宇梶 裕, 『有機合成実験法ハンドブック』 **2015**, 25.3 (丸善).
- ② T. Soeta, Y. Ukaji, “Methods and Applications of Cycloaddition Reactions in Organic Syntheses.” ed. by N. Nishiwaki, John Wiley & Sons, Inc., **2014**, Chap. 11.
- ③ Y. Ukaji, Addition reaction / Cycloaddition involving oxidation (no C-C bond formed). “Comprehensive Chirality.” ed. by H. Yamamoto, E. Carreira, Elsevier, Oxford, **2012**, 6.22.
- ④ Y. Ukaji, T. Soeta, Acetogenin (polyripiopionate) Derived Auxiliaries/Tartaric Acid, “Comprehensive Chirality.” ed. by H. Yamamoto, E. Carreira, Elsevier, Oxford, **2012**, 4.06.
- ⑤ 宇梶 裕, 「1,3-双極子付加環化反応」, 「Reformatsky 反応」, 「Simmons-Smith 反

応」, 『トップドラックから学ぶ創薬化学』(東京化学同人) **2012**.

[その他]

ホームページ等

http://ridb.kanazawa-u.ac.jp/public/detail.php?id=3069&page=1&org2_cd=340400

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宇梶 裕 (UKAJI YUTAKA)
金沢大学・物質化学系・教授
研究者番号: 8019353

(2) 連携研究者

添田 貴宏 (SOETA TAKAHIRO)
金沢大学・物質化学系・准教授
研究者番号: 10506819