

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月27日現在

機関番号：12101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22580114

研究課題名（和文）花芽誘導活性を有する脂肪酸KODAの光学活性類縁体の化学合成

研究課題名（英文）Synthesis of Optically Active Flower-inducing Fatty Acids, KODA Analogs

研究代表者

戸嶋 浩明 (TOSHIMA Hiroaki)

茨城大学・農学部・教授

研究者番号：50237088

研究成果の概要（和文）：花芽誘導活性を有する脂肪酸 KODA のシクロプロパン環導入型光学活性類縁体（4種類）を新規にデザインし、その化学合成を実現した。確立した合成経路は二つの合成セグメントを別途合成した後、両者を縮合および官能基変換するものであり、関連類縁体の合成が共通の方法論で可能なものである。これらの合成類縁体を用いることによって、KODA の花芽誘導活性の発現機構の解明、KODA とその類縁体をリード化合物とする花芽誘導調節剤の開発研究が進展することが期待される。

研究成果の概要（英文）：Stereoselective synthesis of promising flower-inducing fatty acids, KODA analogs, was designed to obtain the desired stereoisomer *via* coupling between chiral sulfone and aldehyde segments. Coupling of the both segments and subsequent assembly gave the desired analog. This strategy made it possible to synthesize the remaining stereoisomeric analogs. By using synthetic KODA analogs, the study of mechanistic elucidation of flower-inducing activity by KODA and the development of flower-inducing regulator are expected to progress.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：低分子生理活性物質

科研費の分科・細目：農芸化学・生物生産化学・生物有機化学

キーワード：KODA、脂肪酸、シクロプロパン、花芽誘導活性、植物ホルモン様活性、化学合成、光学活性類縁体

1. 研究開始当初の背景

（1）アオウキクサの花芽誘導物質として不飽和脂肪酸の一種である α -リノレン酸の酸化物である KODA が単離・構造決定されていた。KODA によるアオウキクサの

花芽形成は KODA とノルエピネフリンを同時にインキュベーションすることで強く誘導され、ノルエピネフリンの酸化物と KODA の 12,13-二重結合が環化付加した

生成物 FN1 による花芽誘導活性であることが明らかにされた。(Yokoyama et al., *Plant Cell Physiol.* **41**, 110-112, 2000) しかしながら、現在まで FN1 は内生物質としては確認されておらず、試験水溶液中で生成するアーティファクトの可能性は否定できない。その後、KODA は単独でアサガオの花成誘導を促進すること、内生 KODA の存在確認および定量による花成誘導との相関関係があること、カーネーション、トルコギキョウ、キクにおいては初期の花芽への KODA の蓄積 (花芽の発育にともない急速に減少) があることなどが確認された。これらのことから、花芽誘導や花成誘導には KODA が密接に関わっていることが強く示唆され、フロリゲン (花成ホルモン) の候補とも言える化合物である。

(2) FN1 構造的要因を化学的に考えると、KODA の 12,13-二重結合は化学的反応性が高いがゆえに KODA は生理的条件下においても長時間安定に存在しないのではないかという仮説が成り立ち、FN1 に変換されることで 12,13-二重結合の(2)-配置をシス-配置として安定に保持した立体構造が活性発現に必須なのではないかと考えた。実際に KODA 自身は安定性に乏しく保存時の諸条件で分解していくとのことである。非共役のケトジエン構造がその要因であると考えられる。そこで、KODA の構造を FN1 ほど付加構造部分を大きくせずにより KODA そのものに近い構造を持ち、12,13-位をシス-配置として安定化できる類縁体として 12,13-シクロプロパン型の構造 (12,13-CPKODA) を考案して、その合成を計画した。

(3) 応募者はこれまでにシクロプロパン型化合物の化学合成をコロナチン (Toshima et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **61**, 752-753, 1997.) およびセパシアミド A (Toshima et al., *Tetrahedron Lett.*, **40**, 939-942, 1999.) の合成で手がけており、シクロプロパン型化合物の取り扱いに習熟しているためこの構造への着想に至るとともに合成可能であろうと判断した。考案した構造には 4 種類の立体異性体が可能であるが、まずは目的とする骨格が形成できるかどうか、立体異性体混合物であってもこの類縁体で花芽誘導活性があるのかを早く確かめることが必要であった。立体異性体を混合物として含む 2 種類のサンプル A と B を合成し、アサガオの花成誘導試験を行ったところ両サンプルとも KODA

と同等またはそれを上回る活性を示した。この結果を受けて本研究では 4 種類の光学活性類縁体を選択的に作り分けて、それぞれ単一の立体異性体でアサガオの花成誘導活性を明らかにすることを目的とした。

さらに、KODA は β -酸化により代謝を受けることが明らかにされているので、活性の持続性を持たせることを目的として、4 種類のうち最も活性の高い類縁体の β -位を酸素原子で置換した抗 β -酸化型類縁体を合成する。これらの類縁体を用いて今後は花芽誘導活性の発現機構の解明に向けた プローブ化、ならびに化学調節剤の開発を目指す研究への展開の基礎を確立することとした。

2. 研究の目的

(1) 12,13-CPKODA の構造から可能な 4 種類の光学活性類縁体を選択的に合成可能な経路を確立する。アサガオに対する花芽誘導活性試験を実施して最も活性の高い立体配置をもつ類縁体を明らかにする。その結果により、最も活性の高い立体配置をもつ類縁体については、今後の研究の発展に寄与する物質材料の確実な確保を目的として大量合成が可能な経路として確立する。

(2) 最も花芽誘導活性の高い立体配置をもつ類縁体について、カルボン酸の β -位 (3-位) を酸素原子で置換した抗 β -酸化型類縁体を合成し、アサガオにおける花芽誘導活性を明らかにする。抗 β -酸化型類縁体についても活性が認められれば、今後の研究の発展に寄与する物質材料の量的確保を目的とする。

(3) (1) および (2) の進行状況により、それらの合成経路から可能なプローブ化を指向したリンカーおよび官能基導入を予備的に検討する。プローブ化による花芽誘導活性の保持が見込める場合は、一例として蛍光プローブを合成し植物体組織での局在化や移動を調べることで花芽誘導の機構解明を目指す。

3. 研究の方法

(1) 基本計画：先行して行なった立体異性体混合物の合成法で用いた出発化合物を利用し、4 種類の光学活性類縁体 (図 1) を選択的に作りわけけるために、標的分子を 2 分割したセグメントへ逆合成した。セグメントを光学活性体 (**1, ent-1, 2, ent-2**) として作り分け、それらを 4 通りの組み合わせでカップリングすることで 4 種類の光学活性類縁体を選択的に合成するのが基本計

画である。(図2)

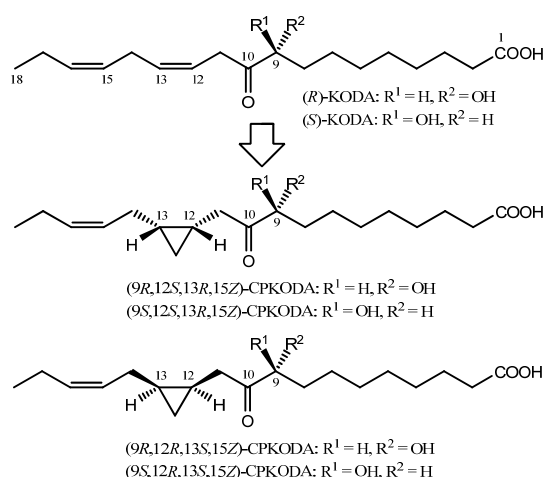


図 1

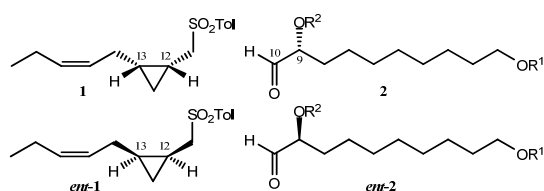


図 2

(2) 光学活性セグメントの合成：スルホンセグメント(**1**と **ent-1**)は同一のシクロプロパン化合物から保護基の掛けかえで合成する。アルデヒドセグメント(**2**と **ent-2**)は末端オレフィンに対する Sharpless 不斉ジヒドロキシル化の際に不斉配位子を選ぶことで両鏡像体を合成する。抗β-酸化型類縁体の合成については **2** または **ent-2** に対応する炭素鎖の短いアルヒドセグメントを必要とし、不斉導入は上述した Sharpless 不斉ジヒドロキシル化で行う計画である。

(図2)

具体的には、**1**と **ent-1** はジエステル(**3**:メソ体)をリパーゼで加水分解することでモノエステル(**4**)を合成し、必要な増炭とカップリングに必要な活性化官能基(スルホン基)導入で **1** を合成し、**4** は保護基の付け替えにより増炭の方向を逆転した後にスルホン基導入を経て **ent-1** へと合成する。**2**と **ent-2** は、9-デセン-1-オールの水酸基保護体(**5**)から、Sharpless 不斉ジヒドロキシル化(AD-mix-βを使用)、2級水酸基保護、酸化を経て **2** を合成する。この2段階目で AD-mix-αを使用することで **ent-2** を合成する。各セグメントの光学純度は可能ならば光学的にほぼ純粋なレベルで合成する。

(3) セグメントのカップリングと官能基修飾：一例として **1**と **2** から1種類の光学活性類縁体(*9R,12S,13R*)-CPKODAの合成計画を説明する。**1**を強塩基処理して得られるスルホニルアニオンと**2**のカップリングにより必要な炭素骨格を有する**6**を得る。**6**は10位と11位に新たに生じた不斉に基づく立体異性体混合物であるが、続いて行う酸化および脱硫反応で単一の立体異性体**7**とする。**7**は1位をカルボン酸へ酸化後、9位水酸基の脱保護を除去することにより(*9R,12S,13R*)-CPKODAの合成が達成される予定である。スルホニルアニオンとアルデヒドの反応は Julia オレフィン化反応の最初の段階であるため、同様な反応例を参考とすることで進行する見込みは高い。合成全体では**2**の保護基 R¹と R²の組み合わせを適切に検討する必要がある、ほぼ中性条件下で脱保護可能なシリル系保護基とメトキシベンジル基で検討する。

(4) 抗β-酸化型類縁体の合成：抗β-酸化型類縁体の合成用アルデヒドセグメントとしてエステル導入済みのものを想定した。経路としては6-ヘプテン-1-オールを最初に *t*-ブチルプロモアセテートとエーテル化してからする不斉導入する経路、または6-ヘプテン-1-オール保護体に Sharpless 不斉ジヒドロキシル化で不斉導入を行ってからエーテル化することおりの経路を検討することとする。カップリング、官能基変換と脱保護は CPKODA とほぼ同等な段階を経て、(*9R,12S,13R*)-3-oxo-CPKODAを合成する計画である。

4. 研究成果

(1) 光学活性スルホン体セグメントの合成(図3):既知の方法によりジエステル(**3**:メソ体)をリパーゼで加水分解することで非対称化し光学活性体**4**を得た。この化合物の保護基を適正に掛けかえることで、光学活性アルコールの両鏡像体へと変換できた。増炭と(2)-二重結合への変換およびスルホン基の導入も問題なく進行した。

(2) 光学活性アルデヒド体セグメントの合成(図4):9-デセン-1-オールの水酸基保護体(**5**)から、Sharpless 不斉ジヒドロキシル化(AD-mix-βを使用)で得たジオールは再結晶化により光学純度を向上できた。アセタール化、一級水酸基をベンゾイル基からシリル基に変換、アセタールの還元開裂により2級水酸基を *p*-メトキシベンジル基で保護し、1級水酸基の酸化を経て **2** を合成できた。本経路で AD-mix-αを使用

することで *ent-2* を合成できた。

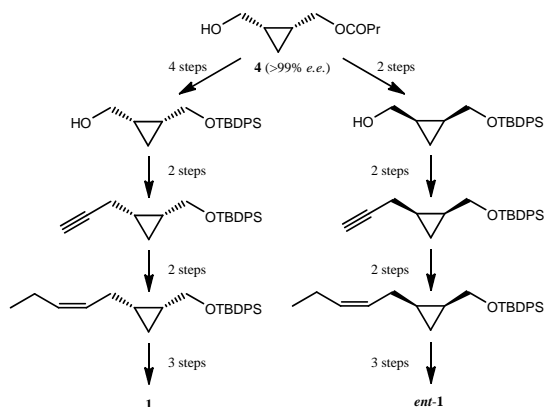


図 3

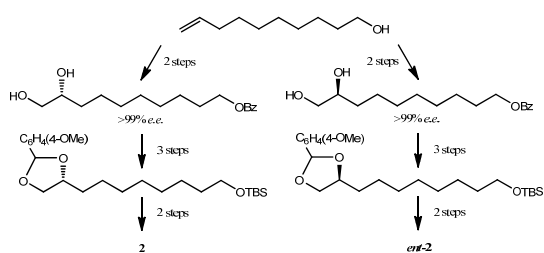


図 4

(3) 4 種類の CPKODA の合成 (図 5) : Julia オレフィン化反応を参考にして、**1** を強塩基 (*n*-BuLi) 処理して得られるスルホニルアニオンと **2** のカップリングで **6** が得られた。**6** は 10 位と 11 位に新たに生じた不斉に基づく立体異性体混合物だったが、2 級水酸基の酸化および還元的脱硫反応でスルホン基を除去することで単一の立体異性体 **7** が得られた。**7** は 1 位をカルボン酸へ酸化後、9 位水酸基の脱保護を除去することで (9*R*,12*S*,13*R*,15*Z*)-CPKODA の合成が達成された。

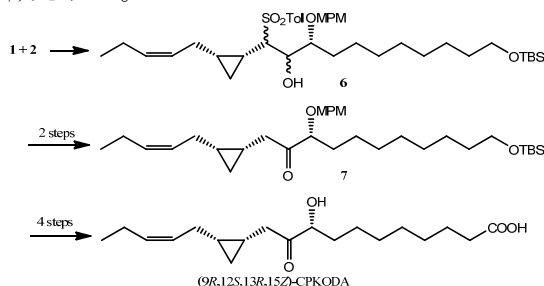


図 5

セグメントの組合せを変え **1**/*ent-2* のカップリングにより (9*S*,12*S*,13*R*,15*Z*)-配置、*ent-1*/**2** のカップリングにより (9*R*,12*R*,13*S*,15*Z*)-配置の CPKODA を合

成できた。(9*S*,12*R*,13*S*,15*Z*)-配置も同様に進めている。4 通りの組合せでカップリングしそれぞれ 1.5~2.0g スケールで 4 種類のカップリング生成物を得た。その後 6 段階の官能基変換で原理的にそれぞれ 100~300 mg 程度ずつの 4 種類の CPKODA の光学活性体を提供することが可能となった。一方でカップリング後の官能基変換の段階数を減らすことが合成全体の効率改善になるため、アルデヒドセグメントに *p*-メトキシベンジルエステルを導入してからカップリングする改良経路も検討しカップリングに成功したため、この経路での CPKODA の改良合成も検討している。

(4) 抗β-酸化型 CPKODA の合成 (図 6) : 抗β-酸化型 3-oxo-CPKODA の合成経路においても、従来はカップリング反応の後にエーテル化を行うことで目的の骨格を合成することができていたが、カップリング反応後の官能基修飾と脱保護を短段階にして合成可能なアルデヒドセグメントを合成した。抗β-酸化型類縁体の合成用アルデヒドセグメントとして **8** を合成した。**9** は **2** の合成と同様に Sharpless 不斉ジヒドロキシル化で不斉を導入した後、**10** とエーテル化した。**1** と **8** のカップリングの後、CPKODA と同様の官能基変換により、(9*R*,12*S*,13*R*,15*Z*)-3-oxo-CPKODA を現在までに微量ながら合成することができた。エステル保護基とエーテル保護基を同時に脱保護する条件を検討し、十分量の合成物を得る検討を行っている。

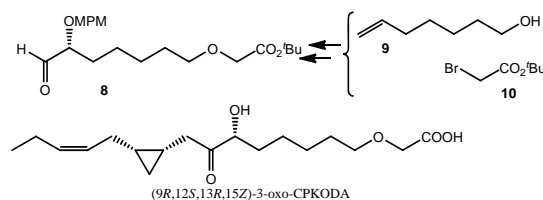


図 6

(5) 本課題で開発した合成経路は、共通の光学活性体スルホンセグメント (**1**/*ent-1*) に対して、適切な光学活性体アルデヒドセグメント (**2**/*ent-2* および **8**) を選びカップリングすることで光学活性 CPKODA (4 立体異性体) および抗β-酸化型 CPKODA 類縁体の供給を可能にしたものである。また、アルデヒドセグメントにカルボン酸エステルを含んでもアルデヒド選択的にカップリングが行える利点を有している。この点を利用してカルボン酸へのリンカーを導入したプローブ化の可能性

を持っている。これらの合成 KODA 類縁体を用いて花芽誘導における KODA の機能解明、花成調節剤への応用に発展が期待される。

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 1 件)

- ① Shin SHIMOMURA, Shuho OYAMA, Kyohei NAKANO, Morifumi HASEGAWA, and Hiroaki TOSHIMA, 『Stereoselective Synthesis of a Promising Flower-Inducing KODA Analog, (9*R*,12*S*,13*R*,15*Z*)-9-Hydroxy-12,13-methylene-10-oxooctadec-15-enoic Acid』, Biosci. Biotechnol. Biochem., 77(6), in press, 2013, 査読有, <http://dx.doi.org/10.1271/bbb.130243>

[学会発表] (計 3 件)

- ① 大山秀芳、中山ともみ、長谷川守文、戸嶋浩明、『抗 β - 酸化型 CP-KODA(30x0-CP-KODA) の合成研究』、日本農芸化学会 2013 年度大会、2013.3.26、東北大学
- ② 下村伸、長谷川守文、横山峰幸、伊福欧二、山村庄亮、戸嶋浩明、『シクロプロパン環導入型 KODA 類縁体の立体異性体選択的合成』、日本農芸化学会 2011 年度大会、2011.3.26、京都女子大学
- ③ 下村伸、長谷川守文、横山峰幸、伊福欧二、山村庄亮、戸嶋浩明、『シクロプロパン環導入型 KODA 類縁体の立体異性体選択的合成法に関する研究』、日本化学会第 4 回関東支部大会、2010. 8. 30、筑波大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

戸嶋 浩明 (TOSHIMA Hiroaki)
茨城大学・農学部・教授
研究者番号：50237088

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし