

平成 22 年 5 月 24 日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20710173
 研究課題名（和文）ムギネ酸誘導体を用いたイネ科植物の鉄認識メカニズムの解明
 研究課題名（英文）Mechanistic Elucidation of Iron Recognition in Gramineous Plant by using Mugineic Acids Derivatives

研究代表者

難波康祐 (NAMBA KOSUKE)
 北海道大学・大学院理学研究院・講師
 研究者番号：50414123

研究成果の概要(和文):イネ科植物の鉄認識メカニズムの解明のためには、ムギネ酸類への様々な標識基の導入が必要不可欠であった。我々はムギネ酸類・鉄錯体の構造活性相関より標識基導入可能な官能基を明らかにし、種々の標識基を効率良く導入する手法を確立した。標識基導入ムギネ酸類は、鉄錯体を形成しトランスポーターを通過することも明らかとなり、ムギネ酸類の初のプローブ化に成功した。

研究成果の概要(英文): To drive the mechanistic studies of iron recognition in gramineous plant forward, it has been essential to establish efficient methods for mugineic acid derivatives to be utilized as molecular probes. We have recently found that the 2'-hydroxy group can serve as a potential clue for the labeling of mugineic acid analogues. On the basis of this discovery, we have established efficient method for the synthesis of various labeled mugineic acid. All of iron complexes of the synthetic labeled mugineic acid exhibit iron transport abilities through iron transporter. We thus succeed to establish the efficient method for introducing various labels to mugineic acid.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：生物分子科学

科研費の分科・細目：新複合領域・生物分子科学

キーワード：ムギネ酸、ムギネ酸・鉄錯体トランスポーター、HvYS1、ムギネ酸プローブ

1. 研究開始当初の背景

イネ科植物は根からムギネ酸を分泌することによって、アルカリ土壤中で水不溶態となっている3価の鉄イオンをムギネ酸・鉄錯体として植物内に取り込むことが知られている。近年、共同研究者である(財)サントリー

生有研の村田佳子博士は、鉄欠乏オオムギの根からムギネ酸・鉄錯体トランスポーター遺伝子(HvYs1)の単離同定に成功し、本トランスポーターがムギネ酸・鉄錯体のみを輸送し、他のムギネ酸・金属錯体を通さないことを明らかにしたが、その鉄認識メカニズムは一切

不明のままであった。一方、申請者はこれまで安定供給が困難であったムギネ酸類の実用的な合成法の確立を試み、同様のキレート能を有する 2'-デオキシムギネ酸 (DMA) の one-pot 合成を始めとして、ムギネ酸類の効率的な大量合成法の確立に成功し、これを基にムギネ酸の 2' 位水酸基が鉄の取り込みに影響を及ぼさないことを明らかにしていた。

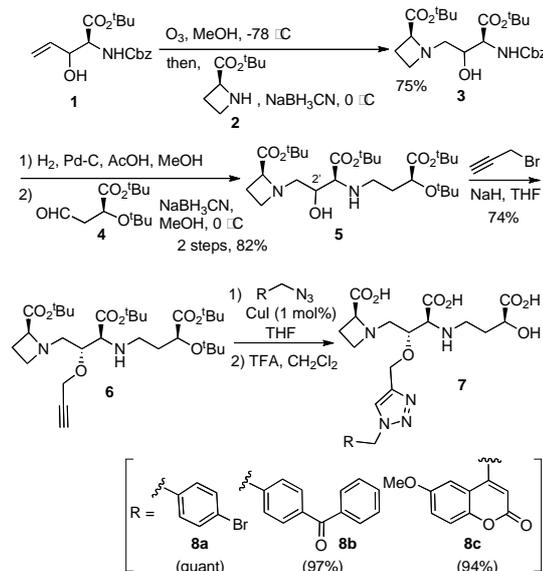
2. 研究の目的

ムギネ酸・鉄錯体トランスポーター-HvYS1 の鉄認識メカニズムの解明を始め、トランスポーターの 3 次元構造、ムギネ酸の植物組織内での代謝経路の解明など、イネ科植物の鉄の取り込みに関する研究のためには、ムギネ酸類のプローブ化が必要不可欠であった。しかしながらムギネ酸類の発見から 30 年来、そのプローブ化には未だ成功していなかった。これは、ムギネ酸類に様々な置換基を導入すると、鉄との錯体形成が困難になり、トランスポーターを通過することが出来ないためであることが知られていた。我々は、先に 2' 位水酸基が鉄の取り込みに影響を及ぼさないことを見出したことから、本 2' 位水酸基に種々の標識基を導入する手法を確立出来れば、ムギネ酸類の初のプローブ化が可能と考えた。

3. 研究の方法

ヒドロキシアシルグリシン誘導体 **1** を出発原料とし、オゾン酸化に続く還元的アミノ化によりカップリング体 **3** を one-pot で得た。ついで水素添加により Cbz 基を除去した後再度 **4** との還元的アミノ化を行い、2' 位水酸基以外の官能基を保護した保護ムギネ酸 **5** を得た。**5** の 2' 位水酸基へのアシル化は隣接する窒素素へのアシル転位が起こる結果となった。そこでアルキル化による官能基の導入を種々試みたところ、アゼチジンカルボン酸上のカルボキシル基とラク톤を形成し、つづく加水分解によって、*tert*-Bu エステルが除去されたカルボン酸を与えるのみであった。そこで、反応性が高く且つ立体的に小さなアルキル化剤として、臭化アシルまたは臭化プロパルギルの存在下 NaH で処理した時のみ 2' 位がアシル化或はプロパルギル化された望む置換体を得る事が出来た。アシル基を介して、メタセシスや Heck 反応によって種々の標識基を導入しようとしたが、ムギネ酸誘導体が強力な金属キレート剤であるために、これらの反応は全く進行しなかった。そこでプロパルギル基を介した、Click 反応を行ったところ、収率良く反応が進行することを見出した。Click 反応のみが円滑に進行する理由は定かではないが、ムギネ酸誘導体 **7** はクリック反応における有効な銅のリガンドとして働いていることがさらなる実験によって

明らかとなっている。最後に全ての *tert*-Bu 基を TFA によって除去し、望む標識基導入ムギネ酸類を得る事に成功した。



4. 研究成果

合成した種々の標識基導入ムギネ酸類の鉄錯体形成実験を行ったところ、全ての標識基導入ムギネ酸類が鉄との錯体を形成することが FTICRMs より明らかとなった。ついでこれらの鉄錯体のトランスポーター通過実験を行った。即ち、HvYS1 を過剰発現させた卵母細胞を用いて、鉄錯体取り込み時における電位差測定実験を行ったところ、全ての標識基導入ムギネ酸・鉄錯体が HvYS1 を介して細胞内に取り込まれることが明らかとなった。さらに蛍光標識基を導入したムギネ酸を用いて同様の鉄の取り込み実験を行ったところ、細胞内で蛍光を発光することが確認された。これより標識基導入ムギネ酸類が HvYS1 を介して細胞内に取り込まれていることを確実に立証することに成功した。以上のことから、ムギネ酸類に種々の標識基を効率的に導入する手法を確立し、ムギネ酸のプローブ化に初めて成功した。

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 10 件、全て査読あり)

1. Toward Mechanistic Elucidation of Iron Acquisition in Barley: Efficient Synthesis of Mugineic Acids and Their Transport Activities
Namba, K.; Murata, Y. *The Chemical Record* **2010**, 140-150.

2. 4-Aminopyridines-Catalyzed Direct and Regioselective Acylation of *N*-Tosylhydrazide
Namba, K.; Shoji, I.; Nishizawa, M.; Tanino, K. *Org. Lett.* **2009**, 11, 4970-4973.
3. Toward Palau'amine; Hg(OTf)₂-Catalyzed Synthesis of Cyclopentane Core
Namba, K.; Kaihara, Y.; Yamamoto, Y.; Imagawa, H.; Tanino, K.; Williams, R. M.; Nishizawa, M. *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 6560-6563.
4. Hg(OTf)₂-Catalyzed Instantaneous Hydration of *b* and *d*-Hydroxy Internal Alkynes with Complete Regioselectivity.
Nishizawa, M.; Takemoto, T.; Sasaki, I.; Nakano, M.; Ho, E.; Namba, K.; Yamamoto, H.; Imagawa, H. *Synlett*, **2009**, 1175-1179.
5. Silaphenylmercuric Triflate-Catalyzed Reactions: The First Solid Supported Mercuric Salt Catalyst.
Yamamoto, H.; Sasaki, I.; Hirai, Y.; Namba, K.; Imagawa, H.; Nishizawa, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 1244-1247.
6. Attempts to Improve the Overall Stereoselectivity of Ireland-Claisen Rearrangement.
Chen, C-L.; Namba, K.; Kishi, Y. *Org. Lett.* **2009**, 11, 409-412.
7. Efficient Glycosylation Using ODS Adsorption Method Based on the Affinity of Long Alkoxybenzyl Glycoside.
Imagawa, H.; Kinoshita, A.; Yamamoto, H.; Namba, K.; Nishizawa, H. *Synlett* **2008**, 1981-1984.
8. Hg(OTf)₂-Catalyzed Cyclization of *N*-Tosylanilinoallylic Alcohols Leading 2-Vinyndolines.
Namba, K.; Nakagawa, Y.; Yamamoto, H.; Imagawa, H.; Nishizawa, M. *Synlett.* **2008**, 1719-1723.
9. Hg(OTf)₂-Catalyzed Aryl Allyl Alcohol Cyclization
Namba, K.; Yamamoto, H.; Sasaki, I.; Mori, K.; Imagawa, H.; Nishizawa, M. *Org. Lett.* **2008**, 10, 1767-1770.
10. A specific transporter for iron (III)-phytosiderophore complex involved iron acquisition by barley roots.
Murata, Y.; Harada, E.; Sugase, K.; Namba, K.; Horikawa, M.; Ma, J.-F.; Yamaji, N.; Ueno, D.; Nomoto, K.; Iwashita, T.; Kusumoto, S. *Pure Appl Chem.* **2008**, 80, 2689-2697.
- [学会発表] (計3件、招待講演のみ)
- 「ムギネ酸類の実用的合成；イネ科植物収機構解明の鍵」
難波康祐 第43回 天然物化学談話会
2008. 7. 10-12, 大阪
 - 「実用的な分子変換法開発に基づく複雑な生物活性天然有機化合物の合成」
難波康祐 若手研究者のための有機化学札幌セミナー
2008. 10. 10, 札幌
 - Hg(OTf)₂触媒を活用したPalau' amineコアの合成
難波康祐 第14回創薬を目指した生物活性研究会および第43回未来開拓研究会合同シンポジウム
2008. 12. 13, 東京
- [産業財産権]
○取得状況 (計1件)
- 名称：ムギネ酸類の効率的製造方法

発明者：難波康祐、村田佳子
権利者：サントリー株式会社
種類：通常出願
番号：特開 4117009
取得年月日：2008.4.25
国内外の別：国内（国外申請中）

〔その他〕
ホームページ等
<http://barato.sci.hokudai.ac.jp/~oc2>