

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 27 日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2015

課題番号：24780107

研究課題名(和文) ジャスモン酸ミミックの開発と活用

研究課題名(英文) Syntheses and applications of jasmonate analogs

研究代表者

高田 晃 (TAKADA, NOBORU)

弘前大学・農学生命科学部・准教授

研究者番号：10332701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)： ジャスモン酸はさまざまな植物の生育に関わる植物ホルモンである。本研究ではジャスモン酸の構造類縁化合物(ジャスモン酸ミミック)の合成とそれを活用した構造活性相関研究によって抽だい阻害剤の開発を試みた。その結果、3-epi-ククルビン酸メチルを抽だい阻害活性物質として見出すことができた。さらに、本物質は葉を枯れさせる活性などの副作用を示さず、環境調和型抽だい阻害剤として期待できる。

研究成果の概要(英文)： Jasmonate is one of plant hormones and is involved in various processes. In this study, we aimed to develop a bolting inhibitor based on structure-activity relationship studies of jasmonates. Methyl 3-iso-cucurbate was found to inhibit the stem elongation (bolting) of Brassica plants. Furthermore, its application did not induce leaf senescence. Therefore, it is a potential bolting inhibitor for winter annual crops.

研究分野：天然物化学

キーワード：ジャスモン酸ミミック 化学合成 構造活性相関

### 1. 研究開始当初の背景

ダイコンなど冬型一年生植物は茎の短い口ゼツタ形で冬を乗り越えた後、花芽の形成とともに茎を急激に伸ばして虫媒花を咲かせる(抽だい)。通常、これらの種子は夏に播かれるが、春早くに播種すると春先の一時的な低温により抽だいすることがある(不時抽だい)。これは農産物の収量低下や品質低下に直結するため、栽培上の大きな問題となり得る。現在までに、多くの抽だいにくい晩抽性品種が開発されているが、易抽性品種は食味が良いため、その人気は今なお高い。よって、易抽性品種の生産性を高めるため、抽だい阻害剤を開発する必要がある。

### 2. 研究の目的

ジャスモン酸は植物の傷害ストレス、花粉成熟、老化など様々な生理活性を示すことが知られており、本研究において抽だい阻害剤の分子基盤として選択した。しかし、この多機能性のため、ジャスモン酸が農薬として積極的に使われた例は少ない。例えば、メチルジャスモン酸は植物の節間伸長を抑制することが知られているが、同時に葉の老化も促進する。ジャスモン酸を抽だい阻害剤として活用するためには、必要な生理機能を維持させつつ、不必要な生理機能を減ずる必要がある。そこで、本研究ではジャスモン酸の様々な構造改変物質(ジャスモン酸ミミックと呼ぶ)を合成し、その構造活性相関を進めることで、副作用を示すことなく、目的とする生理活性(抽だい)のみを示す環境調和型抽だい阻害剤の開発を研究目的とした。

### 3. 研究の方法

#### ジャスモン酸ミミックの合成

ジャスモン酸メチルその化学構造の中には4つの特徴: 1) 1C-3/C-7位側鎖の立体化学(*trans*配置)、2) C-1位のメトキシカルボニル基、3) C-6位のカルボニル基、4) C-9/C-10

位の *cis*-二重結合、を持っている。そこで、ジャスモン酸メチルが抽だい阻害活性を示すために必要不可欠な構造モチーフを決定するために、16種類のジャスモン酸ミミックを合成した。なお、本研究ではすべての化合物はラセミ体であり、合成反応は文献既知の反応を用いた (Figure 1)。

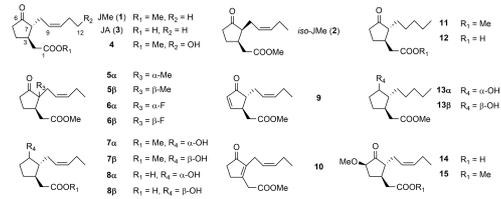


Figure 1. ジャスモン酸ミミックの構造

#### 抽だい阻害活性試験

抽だい阻害活性はチンゲンサイの茎の長さが対象区に比べ、どの程度短くなっているかを指標として算出した。

無菌条件下、長日条件下で発芽・育成させたチンゲンサイ幼植物の下胚軸を剃刀で切断し、検定物質を含む 1/2MS 寒天培地 (pH 5.8、シヨ糖 3%、寒天 0.6%) に移植し、2週間同条件下で育成した。抽だい阻害活性は子葉から茎頂までの距離を対象区と比較して算出した。

#### 老化促進活性試験

老化促進活性はコムギ第1葉のクロロフィル量の保持が対象区と比べ、どの程度低下したかに基づいて算出した。

長日条件下で発芽・育成させたコムギ第1葉を先端から長さ 5 cm で切断し、検定物質を含む緩衝溶液で湿らせたろ紙上に葉面表面が上を向くように並べた。暗条件にて4日間静置した後、コムギ葉断片を含水エタノールで抽出し、吸光度 (665 nm) を計測した。老化促進活性は試験区の吸光度をと対照区の吸光度の比から算出した。

## 散布実験

長日条件下で育成したチンゲンサイにジャスモン酸ミミック(3-*epi*-ククルピン酸メチル)溶液を散布し、その影響を調べた。なお、茎長(最下葉から茎頂までの長さ)を抽だい程度の指標として用い、葉のSPAD値を老化の進行程度の指標として用いた。

## 4. 研究成果

### ジャスモン酸ミミックの構造と抽だい阻害活性

合成したジャスモン酸ミミックの抽だい阻害活性を調べた結果、最も強い抽だい阻害活性を示したのは天然に存在する7-*epi*-ジャスモン酸メチルであった。さらに、構造の特徴である7位立体化学、6位カルボニル基、ならびに9位二重結合を改変するとその活性

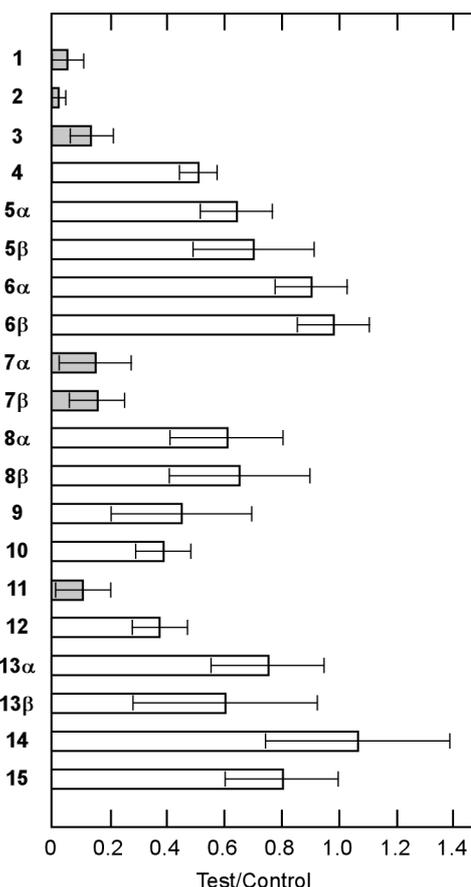


Figure 2. ジャスモン酸ミミックの抽だい阻害活性。Test/Control 値が小さい方が、強い抽だい活性と判断。

は低下するが、その改変箇所が1か所である場合は、活性は7-*epi*-ジャスモン酸メチルに比べ低下するものの、抽だい阻害剤として十分な強度の生理活性は維持できることが分かった (Figure 2)。

### ジャスモン酸ミミックの構造と老化促進害活性

抽だい阻害活性が認められた6種のジャスモン酸ミミックの老化促進活性を調べた結果、最も強い老化促進活性を示したのは天然に存在する7-*epi*-ジャスモン酸メチルであった。その他のジャスモン酸ミミックはいずれも老化促進活性が低下していた。特筆すべきは6位カルボニル基を還元したジャスモン酸ミミック(3-*epi*- および 7-*epi*-ククルピン酸メチル)で、その老化促進活性はその他のジャスモン酸ミミックに比べ、100倍以上活性が低下していた (Figure 3)。老化促進活性は抽だい阻害剤として開発するうえで、除去しなければならない生理活性であるので、極めて望ましい結果であった。

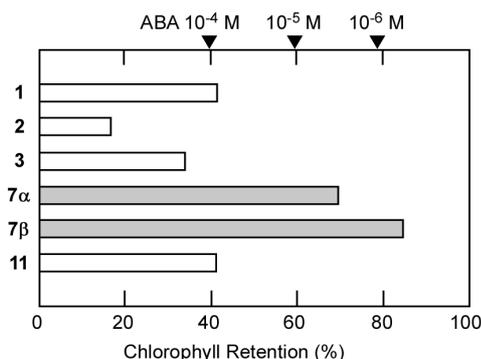
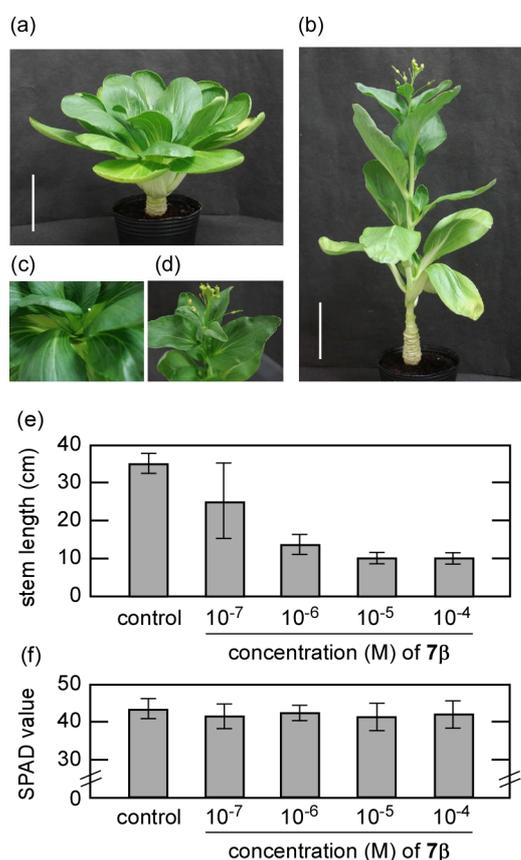


Figure 3. ジャスモン酸ミミックの老化促進活性。棒グラフが長い方が弱い老化促進活性と判断。

### 3-*epi*-ククルピン酸メチルの抽だい抑制効果

ジャスモン酸ミミックの抽だい阻害活性と老化促進活性を合わせて考えると、3-*epi*-ククルピン酸メチル(7β)が、本研究で合成したジャスモン酸ミミックの中で環境調和

型抽だい阻害剤として最も可能性がある候補であった。そこで、長日条件下育成したチンゲンサイ植物体に散布実験を行った。その結果、対照区が完全に抽だいする条件下において、3-*epi*-ククルピン酸メチル散布区は濃度依存的にチンゲンサイの抽だいを抑制した (Figure 4)。さらに、その葉の SPAD 値を測定したところ、いずれの濃度においてもその値に変化はなく、3-*epi*-ククルピン酸メチルにより葉が枯れることはなかった。興味深いことに、3-*epi*-ククルピン酸メチル散布区のチンゲンサイは茎の伸長が抑制されたばかりでなく、花芽の形成も抑制されていた。本物質が花芽の形成制御剤としての可能性を示唆する結果である。今後、その生理機能についても解析していきたい。



**Figure 4.** 3-*epi*-ククルピン酸メチルの散布実験。(a) 3-*epi*-ククルピン酸メチル散布区、(b)対象区、(c) (a)の拡大、(d) (b)の拡大、(e) 各試験区における茎長、(f) 各試験区における SPAD 値。

本研究ではジャスモン酸ミミックとして、すべてラセミ体を用いた。天然物と受容体タンパク質の相互作用を考えると、絶対立体配置も含めたジャスモン酸ミミックを調製し、その構造活性相関研究を進める必要がある。その効率的な合成法については現在進行中である。

## 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 4件)

Tayone, W. C., Tanaka, K., Takada, T., Ophiobolides, polyketides isolated from *Ophiobolus* sp. KTC 2293, *Chiang Mai J. Sci.*, 査読有、43 巻、2016、476-482  
DOI: 10.1021/jo00065a011

Arayama, M., Maeda, H., Tanaka, K., Takada, N., Nehira, T., Hashimoto, M. Achaetolide-II isolated from *Helminthosporium velutinum* TS28, *Tetrahedron*, 査読有、71 巻、2015、7900-7905  
DOI: 10.1016/j.tet.2015.08.013

Takada, N., Wakita, E., Yamazaki, E., Hashimoto, M., Koda, Y. Methyl 3-*iso*-cucurbate, a potential bolting inhibitor to *Brassica rapa*, *Tetrahedron*, 査読有、69 巻、2013、5426-5430  
DOI: 10.1016/j.tet.2013.04.107

Yamazaki, Y., Takada, N., Okuno, T. Isolation and Identification of Causal Constituents of Green Discoloration in Garlic Puree, *Food Sci. Technol. Res.*, 査読有、18 巻、673-678  
DOI: 10.3136/fstr.18.673

〔学会発表〕(計 2件)

高田 晃、イモグサレセンチュウ被害から学ぶ新しい線虫対策への試み、第20回スパイス&ハーブ研究成果セミナー、東京、2013年

Takada, N., Natural Plant Products Controlling Crop Developments, Science Seminar at Davao Oriental State College of Science and Technology, フィリピン、2012年

〔その他〕(計 2件)

平成 27 年度ひらめき ときめきサイエンス～ようこそ大学の研究室へ～KAKENHI「タマネギはどうしてふくらむの? ～フラスコの中でタマネギを育てよう!～」 平成 27 年 9 月 26 日、弘前大学農学生命科学部、対象：高校生 17 名

平成 26 年度ひらめき ときめきサイエンス～ようこそ大学の研究室へ～KAKENHI「フラスコの中でタマネギを育てよう!」 平成 26 年 9 月 20 日、弘前大学農学生命科学部、対象：高校生 18 名

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

高田 晃 (TAKADA Noboru)

弘前大学・農学生命科学部・准教授

研究者番号：10332701