

短報

バクテリオクロロフィルを起源とするベンゾポルフィリンの生成の検証*

朝比奈 健太^{**a}・野本 信也^{**}

(2012年10月15日受付, 2012年12月12日受理)

Abstract

Benzoporphyrins have been found as minor components of sedimentary porphyrins. It was proposed that benzoporphyrins were derived from bacteriochlorophylls *c* and *d*, which possess 3-methyl-4-*n*-propyl-, or 3-methyl-4-*iso*-butylpyrrole units. We established the diagenetic formation process of benzoporphyrins from these bacteriochlorophylls by heating experiments of model porphyrins (2,7,12,17-tetramethyl-3,8,13,18-tetra-*n*-propylporphyrin and 3,8,13,18-tetra-*iso*butyl-2, 7, 12, 17-tetramethylporphyrin). The heating products were oxidized by chromic acid to give phthalimides, in which the profile of phthalimides clearly indicates the formation of benzopyrrole units during heating experiments. These results imply that bacteriochlorophylls *c* and *d* are potential sources of benzoporphyrins found in petroleum and sedimentary rocks.

Key words: Benzoporphyrin, Bacteriochlorophyll, Phthalimide, Maleimide

1. はじめに

堆積岩や原油中には、多くのポルフィリン分子が存在することが知られている。これら地層試料から見出されているポルフィリン（以下、地層ポルフィリン）は、光合成生物に特有の生体分子であるクロロフィルの続成産物と考えられている（例えば、Treibs, 1936; Barker, 1966）。そのため、地層ポルフィリンは、古環境解析のツールの一つとして用いられている（例えば、Pancost et al., 2002）。代表的な地層ポルフィリンとして、デオキソフィロエリトロエチオポルフィリン（DPEP）が知られているが、それ以外にも多様な構造を有する地層ポルフィリンが数多く存在する。

とくに一部のポルフィリンの構造は、それらの

起源となるクロロフィルの構造を強く反映していると考えられている。

それらの1つに、B環ピロールにベンゼン環が縮環した構造のベンゾポルフィリン（Fig. 1. Kauer et al., 1986）があるが、これまでにベンゼン環が縮環した構造のクロロフィルを持つ光合成生物種の存在は知られていない。これまでに地層ベンゾポルフィリンの生成機構に関する仮説については、いくつか提案されている（野本ら, 2010）。Kauer et al. (1986) は、8位に *n*-プロピル, *iso*-ブチルを持つバクテリオクロロフィル *d* (Fig. 1) が隣接する7位のメチルと閉環、芳香族化によりベンゾポルフィリンを形成する可能性を提案している。また、同様にバクテリオクロロフィル *c* も、B環に芳香環を形成可能な炭素数を備えていることから、

*The first experimental demonstration of thermal transformation of bacteriochlorophylls into benzoporphyrins in sediments

**筑波大学 化学系, 〒 305-8571 茨城県つくば市天王台 1-1-1

Kenta Asahina, Shinya Nomoto: Department of Chemistry, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8571, JAPAN Corresponding author. Kenta Asahina
e-mail: kasahina@mail.sci.hokudai.ac.jp

ベンゾポルフィリンの起源化合物となりうる。そこで本研究では、この仮説を実験的に実証するため、バクテリオクロロフィル *c*, *d* のモデル化合物 (Fig. 2) を用いた加熱実験を行った。

加熱実験に用いる基質は、着目する部位の変化を明確にするために、シンプルな構造である必要がある。また 2.2 に後述する理由により、本実験ではポルフィリンの状態では直接分析することが出来ない。そのため、我々は有機化学的に合成したポルフィリン **1**, **2** をモデル化合物として用いた。

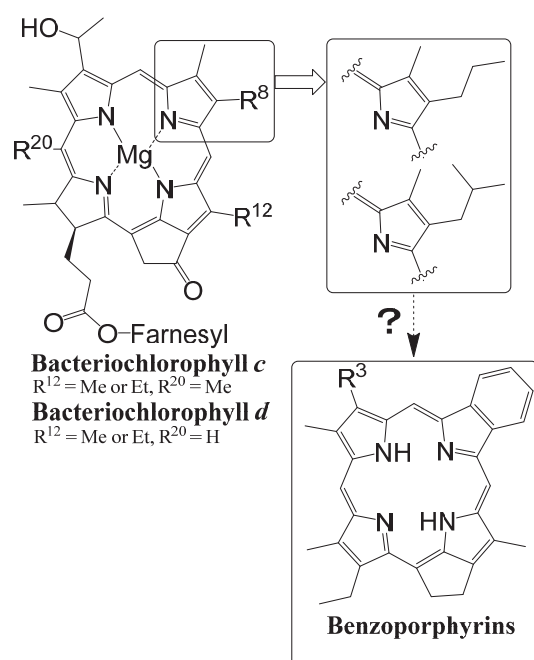


Fig. 1. Structures of bacteriochlorophylls *c*, *d* and benzoporphyrins.

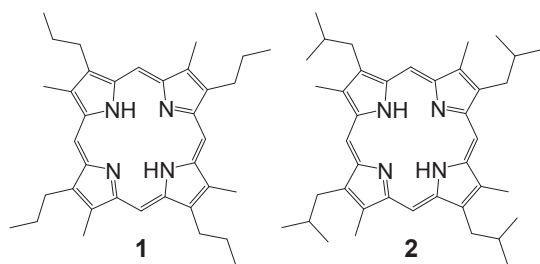


Fig. 2. Structures of model porphyrins used in the heating experiments.

2. 実験手法

2.1. 測定機器

測定機器は、ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC-MS: HEWLETT-PACKARD G1800AGCD System) を使用し、ガスクロマトグラフィーではカラムに FFAP FS-WCOT 化学結合型キャピラリーカラム (0.25 mm I.D. × 60 m, 膜厚 0.25 μm) を用いた。昇温条件は、オープン温度を 50°C で 2 分保持し、50°C から 180°C まで毎分 10°C, 180°C から 230°C まで毎分 3°C で昇温し、230°C で 50 分間保持した。

2.2. 加熱実験

モデルポルフィリン **1** 及び **2** は、Nomoto et al. (2010) 及び、朝比奈ら (2011) の手法を基に合成した。加熱実験は、モデルポルフィリン (約 0.5 mg) をそれぞれガラスチューブに入れ、減圧下で封じた。この封管を電気炉で加熱した (300-400°C, 0-72 時間)。加熱後、封管を取り出し、室温まで放冷した。ポルフィリンを封管中で加熱した生成物は、大部分が不溶性の高分子状物質に変化する。そのため、加熱生成物をクロム酸酸化法によりポルフィリン分子中のアルキルピロールに由来するマレイミド類と、ベンゾピロールに由来するフタルイミド類に変換する必要がある (Fig. 3)。生成物のクロム酸酸化は 25% 希硫酸水溶液 (1 ml) と 10% クロム酸水溶液 (1 ml) を加えて、0°C で 1 時間攪拌後、さらに室温で 1 時間攪拌して行った。この反応溶液をベンゼンで抽出し、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、窒素気流下で 100 μl まで濃縮した。濃縮溶液のうち、1 μl を GC-MS にインジェクトして測定した (Nomoto et al., 2008; Asahina et al., 2010; 朝比奈ら, 2011)。また加熱実験は、堆積条件と近い条件にするためにベントナイト等の粘土触媒や水を加えることがある。しかし、本研究では加熱によるピロール側鎖アルキルの構造変化の特徴を明らかにするために、系内

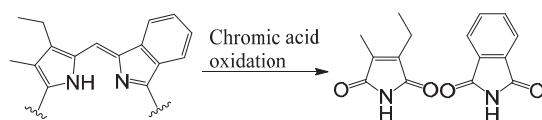


Fig. 3. Oxidation of model porphyrin heated.

には基質のモデルポルフィリン以外は加えていない。したがって、本研究の加熱実験は、無水実験と位置づけられる。

3. 結果と考察

3.1. モデルポルフィリンの加熱実験で得られたマレイミド類とフタルイミド類

モデルポルフィリン **1** の加熱実験生成物の代表的なクロマトグラムを Fig. 4 に示す。ポルフィリンを加熱後、クロム酸酸化することによりベンゾポルフィリンが生成したことを示すフタルイミドを検出した。またポルフィリン **1** を加熱せずにクロム酸酸化を行った実験では、基質のピロールに由来するメチル-*n*-プロピルマレイミド (**MnPMi**) のみが検出された。すなわち、ピロール側鎖アルキルの構造変化は、熱変質によるものであることが明らかである。

ポルフィリン **1, 2** の加熱で得られた主要な生成物はモノメチルマレイミド (**MMMi**)、ジメチルマレイミド (**DMMi**)、フタルイミド類であり、加熱時間と共に増加した。一方、基質のピロール部位に由来する **MnPMi**、およびメチル-*iso*-ブチルマレイミド (**MiBmMi**) は、経時的に減少し、およそ5時間で半減した。**MMMi** と **DMMi** の生成につ

いては、基質のアルキル側鎖の切断により生成したと考えられる。これらの生成プロセスは、我々の行った先行研究により明らかにされている (例えば, Kozono et al., 2002)。本実験で生成したフタルイミド類は、全生成物におけるモル分率で 0.2 程度であった。この結果は、Nomoto et al. (2008) のエチオポルフィリンの加熱実験で得られるフタルイミド類の生成量と同程度であった。本実験により、経時的なフタルイミド類の増加と、基質由来の **MnPMi** と **MiBmMi** の減少は、バクテリオクロロフィル *c, d* からベンゾポルフィリンが生成していることを明確にしている。

3.2. 加熱実験で生成したフタルイミド類の同族体比

ポルフィリン **1, 2** の加熱実験で得られたフタルイミド類の同族体分布は、異なるプロフィールを与えた。生成したフタルイミド類の主成分は、フタルイミド (**Pi**) と 3-メチルフタルイミド (**3-MPi**)、4-メチルフタルイミド (**4-MPi**) であり、エチルフタルイミド及びジメチルフタルイミドも僅かながらに生成した。ポルフィリン **1** の主生成物は、**Pi** と **4-MPi** であり、**3-MPi** はマイナーな成分であった (Fig. 5a)。ポルフィリン **2** の主生成物は、**4-MPi** であり、その他は微量成分であった (Fig. 5b)。これまでの結果から、Fig. 6 のプロ

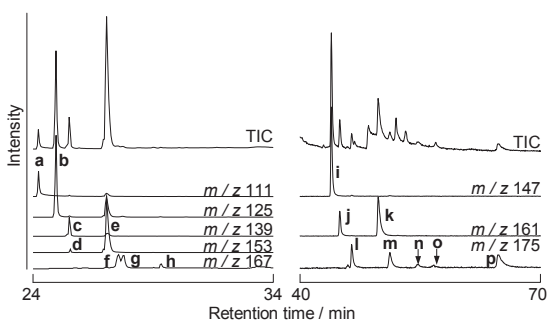


Fig. 4. Mass fragmentgrams of maleimides (Mis) and phthalimides (Pis) obtained by oxidation of model porphyrin **1** heated at 400°C for 4h. a: 3-methyl-Mi, b: 2,3-dimethylMi, c: 2-ethyl-3-methylMi, d: 2-methyl-3-*iso*-propylMi, e: 2-methyl-3-*n*-propyl-Mi, f: 2-ethyl-3-*n*-propylMi, g: 2-*iso*-butyl-3-methylMi, h: 2-*n*-butyl-3-methylMi, i: 3-methylPi, j: 4-methylPi, l: 3-ethylPi, m: 3,5-dimethylPi, n: 4-ethylPi, o: 3,4-dimethylPi, p: 4,5-dimethylPi.

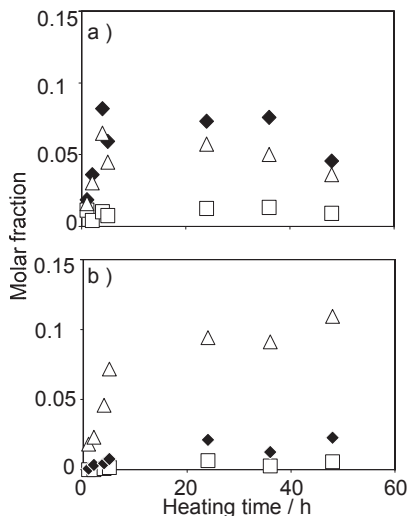


Fig. 5. Plots of the molar fractions of major phthalimides formed from heated **1** (a) and **2** (b) against heating time. ◆ : **Pi**, △ : **4-MPi**, □ : **3-MPi**.

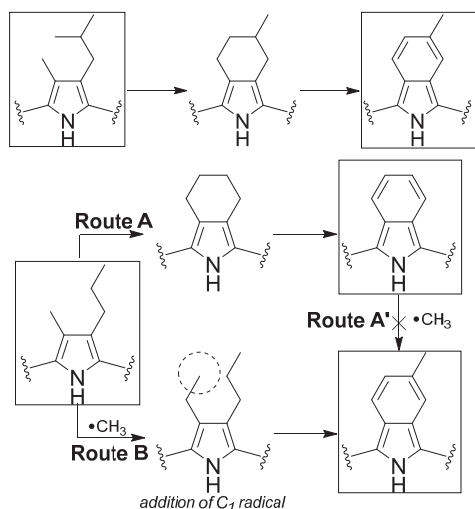


Fig. 6. Proposed mechanism of benzopyrroles formed from bacteriochlorophylls.

セスでベンゾピロールを形成することが考えられる。ポルフィリン 2 の加熱実験の結果は、メチル-*iso*-プチルピロールが直接、閉環することで β -メチルベンゾピロールを形成することを明らかにしている。一方、1 の加熱実験では、2 と同様に閉環するプロセス (Route A) と増炭反応を経由する反応 (Route B) が同時に進行していることが考えられる。また、ベンゾピロールの形成後、系内に共存するメチル活性種が芳香環に置換する反応 (Route A') も考えられる。しかし、我々が行ったシクロヘキサノポルフィリンの加熱実験において、メチル活性種は非選択的に芳香環へ置換する結果を得ている (Asahina, unpublished data)。したがって、この機構で β -メチルベンゾピロールが優位に生成する可能性は極めて低い。

4. まとめ

本研究では、バクテリオクロフィル *c, d* がベンゾポルフィリンの前駆物質の一つとなりうることを実験的に実証した。この生成プロセスは、共存する第二の有機物の存在を必要とせず、B 環にベンゾピロール部位の生成が可能であることを示すものである。さらに、これまでに地層中か

ら見出されているベンゾポルフィリンは、B 環にベンゾピロールを有することからも、バクテリオクロフィルが起源物質である可能性が高い。即ち、本研究で得られた知見は、ベンゾポルフィリンが過去の地球環境に関する情報を得るための指標分子としての可能性を示唆した。

謝 辞

力石嘉人博士 (海洋研究開発機構) および匿名の査読者には、本稿の査読を通じて貴重なご助言をいただきました。感謝の意を表します。

引用文献

- Asahina K., Asano J., Kumagai G., Satou M., Nomoto K., Kashiya Y., Mita H. and Nomoto S. (2010) The First Experimental Demonstration of Side Chain Extension of Geoporphyrins in Sediments. *Chem. Lett.* **39**, 12, 1267-1269.
- 朝比奈健太・小川洋平・浅野純也・熊谷 現・野本信也 (2011) ビニルポルフィリンの加熱実験による地層ポルフィリン側鎖アルキル基の伸長機構の解明. *Res. Org. Geochem.* **20**, 129-142.
- Baker E.W. (1966) Mass spectrometric characterization of petroporphyrins. *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 2311-2315.
- Kaur S., Chicarelli M. and Maxwell J.R. (1986) Naturally occurring benzoporphyrins: bacterial marker pigments? *J. Am. Chem.* **108**, 1347-1348.
- Nomoto S., Satou M., Takahiro Y., Mita H., Kumagai G., Nomoto K., Kigoshi H. and Kashiya Y. The First Experimental Demonstration of Benzoporphyrin Formation from Sedimentary Porphyrins. *Chem. Lett.* **37**, 490-491.
- Pancost R.D., Crawford N. and Maxwell J.R. (2002) Molecular evidence for basin-scale photic zone euxinia in the Permian Zechstein Sea. *Chemical Geology* **188**, 217-227.
- Treibs A. (1936) Chlorophyll and hemin derivatives mineral substances. *Angew. Chem.* **49**, 682-686.