

学位論文全文に代わる要約 Extended Summary in Lieu of Dissertation

氏名： 越智良太
Name

学位論文題目： Syntheses of all stereoisomers of
Title of Dissertation 6-(2-hydroxy-6-phenylhex-1-yl)-5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-one and derivatives to evaluate the structure-biological activity relationship
(6-(2-hydroxy-6-phenylhex-1-yl)-5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-oneの全立体異性体及び誘導体の合成と、構造と生物活性との関係解明)

学位論文要約：
Dissertation Summary

1. 序論

自然界の生存競争の中で勝ち残るために、植物や菌類は進化の過程で二次代謝産物を獲得してきた。二次代謝産物は生物が生きていくうえで必須な物質ではないが、周りの環境と相互作用するのに重要な役割を果たす。例えば、その他の生物に対する防御物質、金属輸送物質、微生物や植物との共生を促す物質、性フェロモン、分化誘導物質として働く。人類はその二次代謝産物に有機化学的修飾を施すことで、様々な薬剤を創出してきた。

5,6-Dihydro-2*H*-pyran-2-one 骨格は、植物や菌類が生産する二次代謝産物の部分構造としてよく見られ、天然由来のものにはアルキル側鎖を持つものが多い。その置換位置としては、3、4、5 および 6 位が考えられる。3 位にアルキル側鎖を持つものはこれまでに天然から単離された例がないが、それ以外のものは単離が報告されている。その中でも、6 位にアルキル側鎖を持つ 6-alkyl-5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-one は、その他位置にアルキル側鎖を持つものに比べて、多様な植物や菌類によって生産されており、化学構造および生物活性の多様性に富んでいる。このことから、植物や菌類は多様な 6-alkyl-5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-one を生体内で生産する独自の代謝経路を発達させ、生存戦略を展開してきたことが考えられる。さらに、半世紀を超える長い期間に渡って薬理学的および有機化学的研究が続けられており、本化合物群は医薬または農薬のリード化合物となる可能性があると考えられた。よって、筆者は本化合物群に注目し、生物有機化学的研究を行うことにした。

2. 6-(2-Hydroxy-6-phenylhex-1-yl)-5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-one の全立体異性体の合成と植物生長阻害

活性および α,β -不飽和カルボニル構造と不斉炭素に結合する水酸基の活性に対する影響解明

はじめに

6-Alkyl-5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-one には、抗腫瘍および細胞毒性、抗増殖活性、抗菌活性、殺幼虫活性、炭酸脱水酵素阻害活性、鎮痙活性、抗原虫活性、抗カビ活性、抗炎症活性など様々な生物活性が報告されている。しかし、植物毒性に関する情報は乏しく、これまでに知られているのは7種類のみ

であった。それらの物質には立体異性体が存在するが、立体構造と活性との関係は明らかにされていなかった。立体異性体間で生物活性の性質や強度が変化することはしばしば見られることである。そのため、不斉炭素を有する物質の生物活性評価において、活性に対する立体構造の影響を調べることは重要である。

マダガスカル固有の植物である *Ravensara crassifolia* から単離された 6-alkyl-5,6-dihydro-2H-pyran-2-one 化合物である (S)-6-[(S)-2-hydroxy-6-phenylhex-1-yl]-5,6-dihydro-2H-pyran-2-one ((6S,2'S)-1) は、植物病原性カビ *Cladosporium cucumerinum* に対して最小 1 μg で抗カビ活性を示すと報告されていた。この化合物はピロン環の 6 位が 2-hydroxy-6-phenylhexyl 側鎖で置換されており、6 位と 2' 位 (アルキル側鎖の 2 位の位置) に不斉炭素を持ち、全部で 4 つの立体異性体が存在する。その中で、(6S,2'R) 体および (6R,2'R) 体にはがん細胞である THP-1、U-937、A-375 に対する細胞毒性が報告されていた。また、(6S,2'R) 体、(6R,2'R) 体、(6R,2'S) 体の合成は他のグループによって過去に達成されており、合成された立体異性体の光学純度は 94–98% enantiomeric excess (ee) であった。一方で、天然体である (6S,2'S) 体の合成は未達成であった。そこで、本研究では全立体異性体を光学的純粋に合成し、立体構造が生物活性に与える影響を調べることを第一の目的とし実験を行った。まず、ラセミ体の methyl (2-oxocyclopentyl)acetate を酵母還元することによって得られる 99% ee 以上のヒドロキシエステルと 95% ee のラクトンとを出発原料として用いることで、目的とする全立体異性体の 6 位の立体構造を導くことができると考えた。続いて、目的物の 2' 位の立体構造は、各酵母還元生成物から数工程で得られるアルデヒドに有機金属試薬を反応させ、生じるジアステレオマーを分離することで構築することができると考えた。さらに、ピロン環はシクロペンタノール部位を 2 段階酸化しラクトンとした後、 α,β -不飽和二重結合を導入することで構築することを計画した。合成した全立体異性体のレタスおよびイタリアンライグラスに対する植物毒性を評価した結果、立体異性体間で活性に有意差が見られた。さらに、最も高い活性を示した立体異性体を基に誘導体を合成し、植物毒性における α,β -不飽和二重結合および 2' 位水酸基の重要性について検討した。

全立体異性体の合成

まず、酵母還元生成物の 1 つであるヒドロキシエステルから数工程でアルデヒドとした後、4-phenylbutylmagnesium bromide を用いたグリニヤール反応、シリカゲルカラムによる生じたジアステレオマーの分離を行い、2 つの 2 級アルコールを得た。このとき、得られたアルコールの 2 級水酸基が結合する不斉炭素の立体構造は、改良 Mosher 法を用いることで決定した。得られたアルコールからそれぞれ R 体および S 体の Mosher エステルを合成し、合成した S 体の Mosher エステルの $^1\text{H-NMR}$ のケミカルシフト値から、R 体の Mosher エステルの $^1\text{H-NMR}$ のケミカルシフト値を引き、その差を算出した。その結果、エステル構造が上を向くように図示した時、一方のアルコールから誘導したものでは、エステル構造に対して右側に位置するプロトン (triisopropylsilyl 保護基の末端 methyl 基のプロトンおよびその保護基に近接した不斉炭素に結合するプロトン) のケミカルシフト値の差がマイナス、左側に位置するプロトン (ベンジル位のプロトン) のケミカルシフト値の差がプラスとなった。また、もう一方のアルコールから誘導したものでは、エステル構造に対して右側に位置するプロトン (triisopropylsilyl 保護基の末端 methyl 基のプロトンおよびその保護基に近接した不斉炭素に結合するプロトン) のケミカルシフト値の差がプラス、左側に位置するプロトン (ベンジル位のプロトン) のケミカルシフト値の差がマイナスとなった。この結果から、2 級水酸基が結合する不斉炭素の立体構造をそれぞれ R 体 (以降 R-アルコールとする) および S 体 (以降 S-アルコールとする) と決定した。続いて、R-アルコールの 2 級水酸基を 4-methoxybenzyl 基で保護し、tetrabutylammonium fluoride を用いて脱シリル化を行い、シクロペンタノールを得た。得られたシクロペンタノールを pyridinium chlorochromate を用いて酸化した後、生じたシクロペンタノンに Baeyer-Villiger 酸化し立体保持でラクトンを得た。その後、benzeneseleninic acid anhydride を用いた熱脱離反応を行いピロン化合物とし、酸

性条件下で 4-methoxybenzyl 保護を脱保護し(6*R*,2'*R*)体を合成した。また、同様の方法を用いて *S*-アルコールから(6*R*,2'*S*)体を合成した。

次に、もう 1 つの酵母還元生成物であるラクトンから数工程でアルデヒドを導いた後、4-phenylbutylmagnesium bromide を用いたグリニヤール反応、生じる 2 級水酸基の 4-methoxybenzyl 化、シリカゲルカラムによるジアステレオマーの分離を行い、2 つのベンジルエーテルを得た。そこから、同様の方法を用いて(6*S*,2'*S*)体および(6*S*,2'*R*)体を合成した。

合成した 4 つの立体異性体の光学純度を AD-H キラルカラムを用いて測定したところ、(6*R*,2'*R*)体と(6*R*,2'*S*)体は 99% ee 以上、(6*S*,2'*S*)体と(6*S*,2'*R*)体は 95% ee だった。高い光学純度での全立体異性体の合成に初めて成功し、その光学純度は過去の報告と同等もしくはそれ以上であった。

全立体異性体の植物毒性

次に、合成した全立体異性体のレタスおよびイタリアンライグラスに対する植物生長阻害活性を評価した。レタスにおいて、全ての立体異性体が芽 ($IC_{50} = 227\text{--}491 \mu\text{M}$) と根 ($IC_{50} = 58.4\text{--}95.2 \mu\text{M}$) の両方に対して生長阻害活性を示した。6*S* の立体構造を持つ立体異性体が 6*R* の立体構造を持つ立体異性体に比べてより高い活性を示し、さらに(6*S*,2'*S*)体および(6*S*,2'*R*)体の活性と(6*R*,2'*R*)体の活性との間には有意差が見られた。イタリアンライグラスにおいても、全ての立体異性体が芽 ($IC_{50} = 260\text{--}741 \mu\text{M}$) と根 ($IC_{50} = 260\text{--}741 \mu\text{M}$) の両方に対して生長阻害活性を示した。その中でも、(6*S*,2'*R*)体で最も高い活性が見られ、その他の立体異性体よりも 2-3 倍高い活性を示した。加えて、(6*S*,2'*R*)体の活性とその他の立体異性体の活性との間には有意差が見られた。以前に我々の研究室で合成およびその植物生長阻害活性を報告した(+)-boronolide と活性を比較したところ、イタリアンライグラスの根における(6*S*,2'*R*)体の活性は(+)-boronolide よりも 20 倍以上高かった。このことからアルキル側鎖末端に結合するベンゼン環が活性に重要であることが示唆された。

続いて、全立体異性体のレタスおよびイタリアンライグラスに対する 1000 μM における発芽阻害活性を評価した。その結果、レタスにおいて、(6*S*,2'*S*)体のみコントロールに対して有意な発芽阻害活性 (発芽率: 63%) を示した。この立体異性体は、レタスに対する植物生長阻害活性においても、その他の立体異性体よりも比較的高い活性を示したものであった。一方、イタリアンライグラスにおいては、全ての立体異性体がコントロールに対して有意な発芽阻害活性 (発芽率: 53-70%) を示した。その中でも、(6*S*,2'*R*)体が最も強い発芽阻害活性を示し、(6*R*,2'*R*)体および(6*S*,2'*S*)体の活性との間に有意差が見られた。

以上のことから、レタスおよびイタリアンライグラスに対する植物生長阻害活性および発芽阻害活性において、6 位および 2'位の立体構造が重要であることが明らかとなった。レタスにおいては 6*S* の立体構造を持つ立体異性体が有利であり、イタリアンライグラスにおいてはさらにその中でも(6*S*,2'*R*)の立体構造を持つ立体異性体が有利であることが分かった。

誘導体の合成

全立体異性体の植物毒性の結果から(6*S*,2'*R*)の立体構造が効果的であることが分かったため、立体構造を(6*S*,2'*R*)に固定し、各種誘導体を合成しその構造と植物毒性との関係を明らかにすることにした。誘導体は、 α,β -不飽和二重結合を飽和化させたもの、2'位水酸基を除去したもの、2'位水酸基をメトキシ基に変換したものを合成した。 α,β -不飽和二重結合を飽和化させた誘導体は、(6*S*,2'*R*)体の合成中間体であるラクトン中間体の 2'位の 4-methoxybenzyl 保護を水素化分解することで脱保護して得た。2'位水酸基を除去した誘導体は、酵母還元生成物の 1 つであるラクトンから数工程でアルデヒドを導いた後、4-phenylbutylmagnesium bromide を用いたグリニヤール反応、生じる 2 級水酸基の還元的除去、以下同様の方法を用いて合成した。さらに、ラクトン酵母還元生成物から得られるアルデヒドと

(様式5) (Style5)

4-phenylbutylmagnesium bromide とを反応させ、ジアステレオマー混合物の2級アルコールを導き、その2級水酸基をメチル化し、tetrabutylammonium fluoride を用いて脱シリル化した後、シリカゲルカラムによってジアステレオマーを分離してシクロペンタノールを得た。そこから同様の方法を用いて2'位水酸基をメトキシ基に変換した誘導体を合成した。

誘導体の植物毒性

まず、合成した誘導体のレタスおよびイタリアンライグラスに対する植物生長阻害活性を評価した。 α,β -不飽和二重結合を飽和化させた誘導体は、今回の試験で扱った最高濃度である 1000 μM できえ、レタスおよびイタリアンライグラスにおいて顕著な生長阻害活性を示さなかった。細胞毒性を示す 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one 化合物の α,β -不飽和二重結合は、マイケルアクセプターとして働くことが報告されており、今回の実験結果から植物生長阻害活性においても同様に機能することが考えられた。レタスにおいて、2'位水酸基を除去した誘導体は、芽に生長阻害活性を示したが、根には 1000 μM で顕著な活性を示さなかった。この誘導体のレタスの根に対する活性は、リード化合物である(6*S*,2'*R*)体よりも約2倍弱かった。イタリアンライグラスにおいては芽と根の両方に活性を示したが、リード化合物と比較するとそれぞれ2倍および9倍の活性低下が見られた。レタスに対して2'位水酸基をメトキシ基に変換した誘導体は、1000 μM において芽と根のどちらにも顕著な活性を示さなかった。イタリアンライグラスにおいては、芽と根の両方に活性を示したが、リード化合物と比較するとそれぞれ3倍および8倍活性が低下した。 α,β -不飽和二重結合を有している誘導体であっても活性の低下が見られ、2'位水酸基が活性に重要であることが分かった。また、今回の構造変換による活性に対する影響は芽よりも根において顕著であった。

次に、誘導体の 1000 μM におけるイタリアンライグラスに対する発芽阻害活性を評価した。誘導体の中で2'位水酸基をメトキシ基に変換した誘導体のみコントロールに対して有意な発芽阻害活性を示したが、リード化合物である(6*S*,2'*R*)体と比較すると活性は低下した。この結果からも、 α,β -不飽和二重結合と2'位水酸基の重要性が確認された。

結論

6-(2-Hydroxy-6-phenylhex-1-yl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-one の全立体異性体を高い光学純度 (95% ee または 99% ee 以上) で合成した。レタスに対する植物生長阻害活性において6*S*の立体構造が重要であり、さらに発芽阻害活性においては(6*S*,2'*S*)体が最も有効であることが分かった。一方、イタリアンライグラスに対しては、(6*S*,2'*R*)体が植物生長阻害活性と発芽阻害活性の両方において最も高い活性を示した。各種誘導体を合成し植物毒性における構造活性相関を検討したところ、 α,β -不飽和二重結合と2'位水酸基が活性の発現に重要な役割を果たすことが明らかとなった。

3. 6位に置換基を持つ 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one のベンゼン環における構造活性相関の検討と新規

高活性誘導体の創出

はじめに

6-(2-Hydroxy-6-phenylhex-1-yl)-5,6-dihydro-2H-pyran-2-one の1つの立体異性体がマダガスカル固有の植物である *Ravensara crassifolia* から抗カビ成分として単離され、その立体構造は(6*S*,2'*S*)であると報告

された。これまでの筆者の研究から、非天然の立体異性体である(6*S*,2'*R*)体がイタリアンライグラスの芽と根に対してそれぞれ IC₅₀ 値 260 μM と 43 μM で植物生長阻害活性を示すことが明らかとなった。レタスに対する活性も評価し生長阻害が見られることを明らかにしたが、その活性はイタリアンライグラスに対する活性よりも弱かった。誘導体を合成し構造活性相関を検討したところ、α,β-不飽和二重結合と 2位水酸基が活性の発現に重要な役割を果たすことが分かった。また、過去に我々の研究室で報告した(+)-boronolide と活性を比較すると、イタリアンライグラスの根において 20 倍以上の活性の向上が見られ、アルキル側鎖末端のベンゼン環が活性に重要であることが示唆された。そこで、筆者は(6*S*,2'*R*)体をリード化合物としてベンゼン環上に様々な置換基を有する誘導体を合成し、それらのイタリアンライグラスに対する植物生長阻害活性を調べ、構造活性相関を検討した。本研究成果は、単子葉類に有効な新規農薬を開発するうえで役立つ情報であると考えられる。

ベンゼン環上に各種置換基を導入した誘導体の合成

酵母還元生成物の 1 つである 95% ee のラクトンから数工程でアルデヒドを調製し、3-buten-1-ylmagnesium bromide を用いたグリニヤール反応、生じる 2 級水酸基の 4-methoxybenzyl 化、脱シリル化、ジアステレオマーの分離を行い、2 つのシクロペンタノールを得た。そのシクロペンタノールの 4-methoxybenzyloxy 基が結合する不斉炭素の立体構造は、以前に合成した無置換ベンゼンを持つシクロペンタノール中間体を合成し、NMR データの一致を確認することで決定した。第 2 世代の Grubbs 触媒と CuI を用いて、望む立体構造を持つシクロペンタノールと各種置換基を有するスチレン化合物とを反応させ、生じるアルケンを接触還元しベンゼン環上に各種置換基を持つシクロペンタノールを合成した。続いて、シクロペンタノールの酸化、生じるシクロペンタノンの Baeyer-Villiger 酸化を行い立体保持でラクトンとした。その後、ラクトンの α 位の phenylselenenyl 化、H₂O₂ を用いた酸化的脱離による α,β-不飽和二重結合の導入、酸性条件下での脱 4-methoxybenzyl 化を行い、ベンゼン環上の 2,3,4 位のいずれかに各種置換基 (2-OCH₃, 2-CH₃, 2-F, 2-CF₃, 3-OCH₃, 3-CH₃, 3-F, 3-CF₃, 4-OCH₃, 4-CH₃, 4-F, 4-CF₃) を持つ誘導体を合成した。ベンゼン環の 4 位に水酸基を持つ誘導体 (4-OH 誘導体) は、さらに HF·pyridine を用いて脱シリル化を行うことで合成した。

合成した各種誘導体の植物生長阻害活性

合成した各種誘導体のイタリアンライグラスに対する植物生長阻害活性を評価した。ベンゼン環上の 2 位が置換された誘導体の中で、2-CF₃ 誘導体が最も高い活性を示した。2-OCH₃、2-CH₃ および 2-F 誘導体は 2-CF₃ 誘導体よりも弱い活性を示した。このことから、2 位ではより高い疎水性、電子求引性、立体障害が重要であることが示唆された。また、2-CF₃ 誘導体の活性はリード化合物と比較すると、根において約 2 倍の低下が見られたが、芽においてはリード化合物と同等であった。よって、2-CF₃ 基は根に対して H 原子と同様の作用を示すことが明らかとなった。3 置換誘導体において、電子求引性置換基を持つ誘導体が電子供与性置換基を持つ誘導体よりも高い活性を示した。さらに、3-F 誘導体の活性はリード化合物と同等であった。一方、電子求引性置換基であっても、3-CF₃ 体は、イタリアンライグラスの芽と根において、リード化合物と比較するとそれぞれ 1.5 倍および 2 倍活性が低下した。このことから、より高い活性を示すには、3 位に立体障害の小さい原子が存在することが有効であると分かった。4 位が置換された誘導体において、4-F 誘導体が最も高い活性を示し、その活性はリード化合物と比較すると、芽において 3 倍、根において 2 倍の向上が見られた。また、4-F 誘導体の活性とリード化合物の活性との間には有意差が確認された。芽に対して、4-CH₃ 誘導体および 4-CF₃ 誘導体は、4-F 誘導体と比べてそれぞれ 5 倍および 6 倍活性が低下した。4-OH 誘導体と 4-OCH₃ 誘導体は 1000 μM において活性を示さなかった。根に対して、4-OCH₃、4-CH₃、および 4-CF₃ 誘導体の活性は、4-F 誘導体と比べて 7-35 倍低下した。また、4-OH 誘導体は 1000 μM において芽と根のい

(様式 5) (Style5)

ずれにも活性を示さなかった。以上のことから、より高い活性を示すには 4 位に立体障害が小さく電子求引性を持つ置換基を導入することが有効であると分かった。

結論

立体障害が小さく電子求引性を持つ置換基をベンゼン環上の 4 位に導入することで植物生長阻害活性を増強することができると分かった。その例として、4-F 誘導体はリード化合物である(6*S*,2*R*)体よりも高い植物生長阻害活性を示した。本研究では、6 置換 5,6-dihydro-2*H*-pyran-2-one のアルキル側鎖末端のベンゼン環上に置換基を導入した各種誘導体を合成し、それらの構造とイタリアンライグラスに対する植物生長阻害活性との関係を初めて明らかにした。