

ジャガイモシストセンチュウふ化促進物質の化学合成

Chemical Synthesis of Hatch-Stimulating Agent of Potato Cyst Nematode

北海道大学 大学院理学研究院 教授 **谷野 主持**
 Keiji Tanino (Professor)
 Faculty of Science, Hokkaido University



キーワード

全合成、炭素環、環化反応

01 | シストセンチュウふ化促進物質の化学

1-1. ジャガイモシストセンチュウの生活史

ジャガイモシストセンチュウ (Potato Cyst Nematode: 以下、PCNと略す) は、ジャガイモの根に寄生してその収穫に打撃を与える体長1ミリメートルほどの線虫である(図1, 2)。その起源はジャガイモと同じく南米にあるが、PCNの生息域は国境や海洋を超えて拡大し続け、世界的な食料問題をもたらしている。PCNは、以下に述べる特殊な生活史を持つことから、その駆除は極めて困難な課題とされている。カイコの幼虫が桑の葉のみを摂食するように、PCNはジャガイモやトマトなどナス科植物にのみ寄生することができる。卵からふ化したPCNは寄主作物の根に体ごと侵入し、栄養を摂取して成長する。交尾を終えて体内に数百個の卵を内包したメスは、球状に膨れあがって根からはみ出し、やがて死んでミイラ状の殻(シスト)となる(図3)。収穫後の畑に残存したシストは、その硬い殻で乾燥・低温や殺虫剤から卵を保護し、寄主作物が植え付けられるまで10年以上も休眠状態を続ける。



図1(左) PCNの拡大写真。本来は無色であるが、緑色に染色されている

図2(上) PCNの被害を受けたジャガイモ。成長の途中で既に枯れ始めている



図3 ジャガイモの根からはみ出したPCNのシスト

1-2. シストセンチュウふ化促進物質の発見

休眠状態にあるシストセンチュウの卵は、寄主作物の根から分泌される特定の物質を感知してふ化する。この現象を初めて化学的に解明したのが、北海道大学理学部の正宗らである。彼らは、PCNの近縁種であるダイズシストセンチュウを研究対象とし、インゲン豆の乾燥根から得た抽出物を原材料として、ふ化促進物質を探索した¹⁾。最初に得られる抽出物は、多種類の有機化合物を含む混合物である。これをクロマトグラフィーで分離し、得られた画分の各々に対してふ化活性を測定する。活性を示した画分をさらに別種のクロマトグラフィーで分離し、各画分のふ化活性を測定する。このような作業を延々と繰り返した末に、100キログラム以上のインゲン豆の乾燥根から50マイクログラムの有機化合物が単離され、グリシノエクレピンAと命名された(図4:左)。そのふ化促進活性は極めて強力であり、水1ミリリットルあたり1ピコグラム(ドラム缶1杯の水に対して0.2マイクログラム)の低濃度で効果を示した。グリシノエクレピンAの分子構造を決定後²⁾、同グループの村井らが最初の化学合成に成功し³⁾、合成物が天然物と同等の活性を示すことを明らかにした。これら一連の研究は、自然科学研究の最高到達点の一つといえるものである。この先駆的研究に続いてPCNのふ化促進物質が探索された結果、1990年代に入ってオランダのMulderらによりジャガイモの水耕栽培液からソラノエクレピン

Aが発見された⁴⁾。その分子構造はX線結晶解析によって決定され⁵⁾、グリシノエクレピンAと共通する部分構造を含むものの、それより遥かに複雑なものであることが明らかとなった(図4:右)。特に、トランスヒドロインダン骨格上に4員環が架橋したトリシクロ[5.2.1.0^{1,6}]デカン骨格(図4に赤色で表示された部分)が特徴的である。

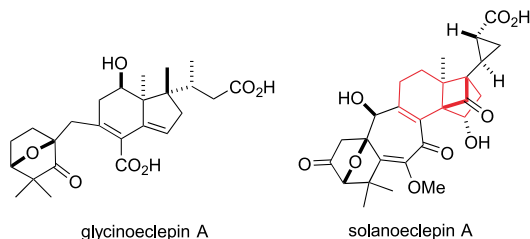


図4 グリシノエクレピンAとソラノエクレピンAの分子構造式

02 | ソラノエクレピンAの全合成研究

2-1. シクロペンテンアヌレーション法の開発

この特徴的なトリシクロ[5.2.1.0^{1,6}]デカン骨格をいかにして構築するかが、ソラノエクレピンAの全合成上の最重要課題となる。筆者らが本研究に着手した時点で、ソラノエクレピンAの全合成は達成されておらず、分子内光[2+2]付加環化反応によるモデル合成が報告されているのみであった。これに対して筆者らは、Storkにより開発されたエポキシニトリルの分子内環化反応⁶⁾を基軸とする合成戦略を立案した。すなわち、エポキシドとシアノ基を合わせ持つトランスヒドロインダン誘導体に塩基を作用させて、4員環を構築する計画である(図5)。

筆者らはまず、以下のシクロペンテンアヌレーション法を開発し、双環性エノン**1**の大量供給法を確立した(図6)⁷⁾。すなわち、エノールエーテル部位を有するニトリル**2**から調製したアニオンとエノン**3**の共役付加反応を行い、生じたエノラートを無水酢酸で捕捉してエノールエステル**4**を合成する。次に、**4**を希塩

酸と共に加熱すると、エノールエーテル部位の加水分解および分子内アルドール縮合が連続的に進行し、双環性エノンが得られる。環化体は、メチル基とシアノ基に関するジアステレオマー**1a**および**1b**の混合物であるが、LuChe還元を経て酢酸エステルに変換し、この時点で再結晶を行うことで、単一のジアステレオマー**rac-5**を得ることができた。次いで、リパーゼによる速度論的光学分割に付して、ソラノエクレピンAの鍵中間体**(+)-5**が10グラムスケールで供給可能となった。

2-2. エポキシニトリルの環化反応を鍵とする分子右側骨格の構築

次なる課題は、ヒドロインダン骨格の核間位への立体選択的なビニル基の導入である。最初に、ジアゾエステル**6**の分子内シクロプロパン化反応と、3員環開裂を伴う環化体**7**へのアルコキシド導入を立案したが、**6**の環化反応は全く進行しなかった(図7:上段)。さらに、検討を尽くしてシクロプロパン構築を試みた結果、エノン**1a**に共役付加反応によりビニル基を導入し、生じたエノールシリルエーテル**8**をスルフェニル化する方法を見出した(図7:下段)。なお、ビニル基の共役付加は、メチル基およびシアノ基との立体反発を避けてβ面から選択的に進行している。最終的に、**9**から先の変換には成功しなかったものの、ビニル基の共役付加体**8**が問題解決の決定的なヒントを与えることとなった。すなわち、ビニル基をこの位置に導入しておく、これを1,2-転位によって核間位に移動させるという戦略である。

まず、**(+)-5**の酸素官能基を3工程でトランスポジションし、エノン**10**を合成した(図8)。ビニルセリウム試薬との付加反応はβ面から進行し、生じた3級アルコールの環内アルケンに立体選択的に酸化してエポキシアルコール**11**とした。セミピナコール転位反応は、2,6-ルチジンおよびTMSOTfの存在下で円滑に進行し、one-potでのシリル基除去を経て、目的のトランスビシクロ骨格を有するケトン**12**の合成に成功した。次いで、ケトンの還元、水酸基の保護、およびmCPBA酸化を経てエポキシニトリル**13**に変換し、LDAを作用させて分子内環化反応を行った。反応は極めて円滑に進行し、one-potでのシリル化を経て

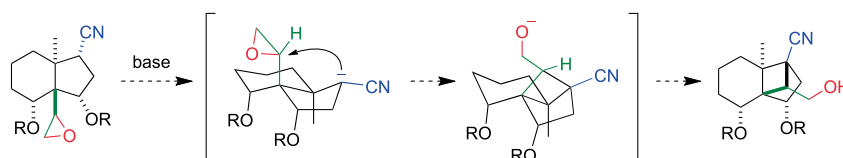


図5 エポキシニトリルの分子内環化によるトリシクロ[5.2.1.0^{1,6}]デカン骨格の構築

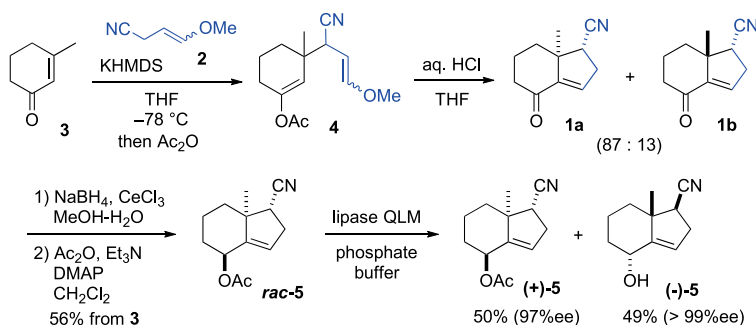


図6 シクロペンテンアヌレーションによるヒドロインダン骨格の構築

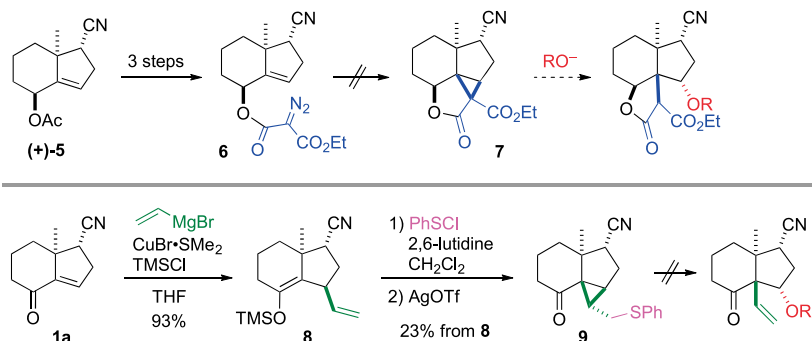


図7 シクロプロパンを経由するトランスヒドロインダン骨格構築の検討

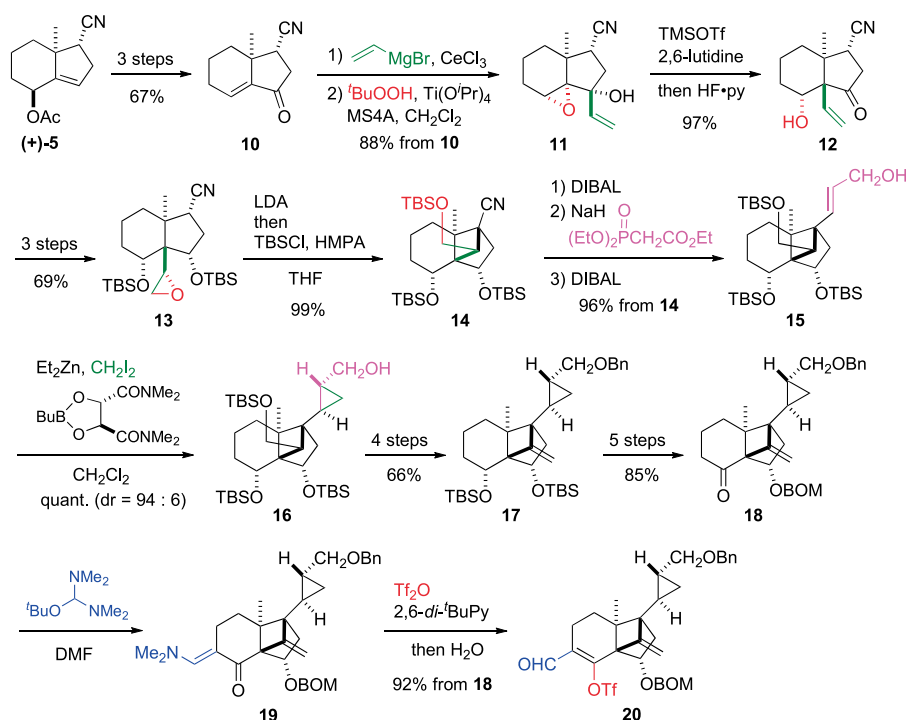


図8 ソラノエクレピンAの分子右側骨格の構築

望みの4-exo環化体**14**がほぼ定量的に得られた。ニトリル部位をDIBAL還元してアルデヒドとし、Honor-Emmons反応を経てアリルアルコール**15**に変換した。シクロプロパンの立体選択的構築には、光学活性ホウ素試薬存在下でSimmons-Smith反応を行うCharette法⁸⁾が有効であった。4員環上の1級アルコール部位にGrieco-西沢法⁹⁾を適用してアルケン**17**に導き、5工程で6員環上のシロキシ基をケトンに、5員環上のシリル基をベンジルオキシメチル (BOM) 基に各々変換した。ケトン**18**とBredereck試薬の縮合反応で合成したエナミン**19**にトリフルオロメタンスルホン酸無水物を作用させた後、加水分解して、右側セグメント**20**の合成を完了した。

2-3. 分子内Diels-Alder反応による分子左側骨格の構築

後半の課題は、分子左側の6-7縮環骨格の構築である。渡環エーテルを有する6員環の構築には、フラン誘導体の分子内Diels-Alder反応を適用することとし、フラン誘導体**21**から調製したアニオンとアルデヒド**20**の付加反応を行った(図9)。フラン環上のシリル基除去と水酸基の保護を経て得た中間体**22**は、8:1のジアステレオマー混合物であり、主生成物のC19位の立体配置は天然物と逆の α 配置であることが判明した。ここで重要な点は、分子右側の縮環骨格の立体化学がアルデヒドの反応面に影響を与え、遠隔不斉制御が認められたことである。これにより、C19位の立体配置を利用した、分子内Diels-Alder反応における反応面の制御が可能となった。

クロスカップリングによるエノン側鎖の導入に際してminorジアステレオマー由来の成分は失われ、環化前駆体**23**がやや低収率で得られた。分子内Diels-Alder反応は、エーテル中で塩化ジメチルアルミニウムを作用させることで円滑に進行し、望みの立体異性体**24**が選択的に生成した。エノールエーテル部位を加水分解してジケトン**25**に導き、C19位水酸基をケトンに酸化した。さらに、2段階の酸化反応を経てエノン**26**に変換後、C19位の立体選択的還元を試みたところ、通常の還元条件ではC19位水酸基は α 配置となってしまう、他のケトンの還元が同時に進行した。唯一、DIBAL還元で目的の β 配置を有する化合物が部分的に生じたものの、左側6員環ケトンが還元されており、他の異性体との分離困難な混合物を与える結果となった。しかし幸いなことに、これらの混合物をIBXにより穏やかな条件で酸化すると6員環のアルコールが選択的にケトンに変換されることを見出した。これにより、目的物**27**が単離可能(**26**から43%)となった上に、副生物をまとめてDMP酸化することで、

貴重な原料**26**を50%回収することができた。

2-4. 不斉全合成の完成とPCNのふ化活性試験

最後の課題は、4員環上のメチレン基のケトンへの酸化、保護基の除去、および側鎖上の1級アルコールのカルボン酸への酸化である(図10)。まず、アルコール**27**のC19位をTMS基で保護した後、エキソメチレン基をオスmium酸化してジオール**28**に変換した。過ヨウ素酸酸化を経て得たケトン**29**のベンジル基とベンジロキシメチル基を同時に除去し、生成物を過剰量のTMSClでシリル化した後、少量の水を加えて攪拌すると、最も空いた1級シリルエーテルのみが加水分解されてアルコール**30**を与えた。DMP酸化とPinnick酸化を行い、得られたカルボン酸**31**の立体構造をX線結晶解析により確認した後、酸性条件下でTMS基を除去してソラノエクレピンAの初の不斉全合成を完了した¹⁰⁾。

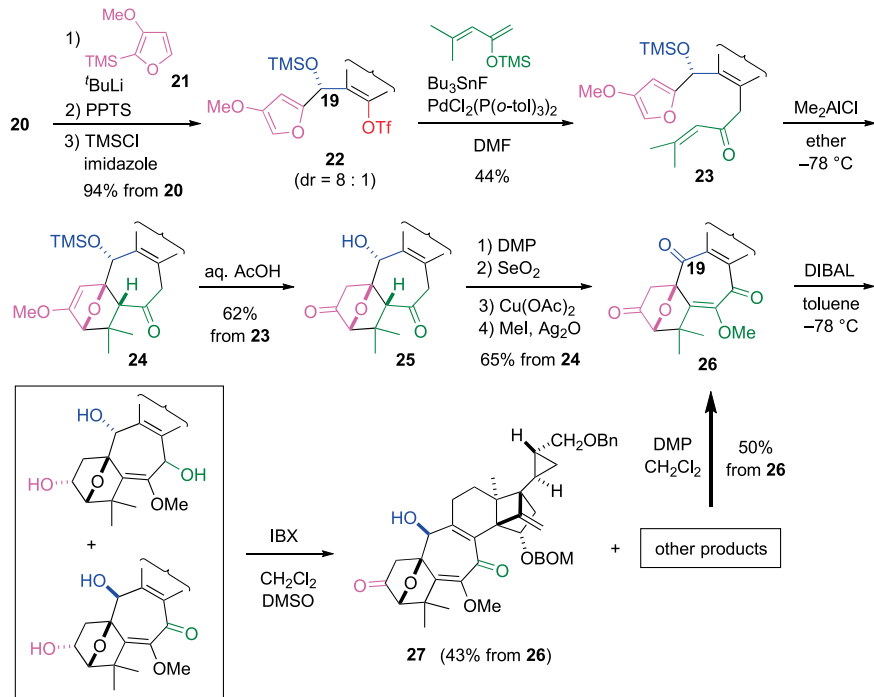


図9 ソラノエクレピンAの分子左側骨格の構築

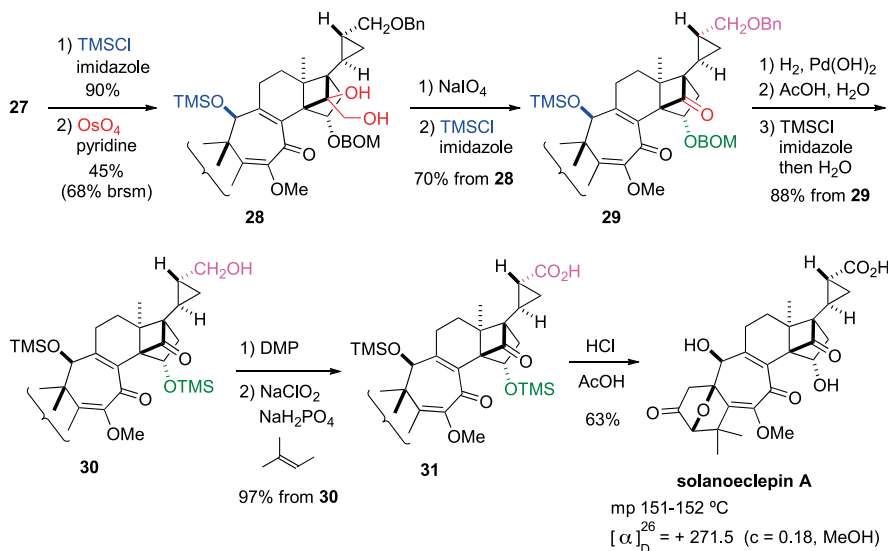


図10 ソラノエクレピンAの不斉全合成



図11 PCNふ化活性試験の顕微鏡写真。左:培養開始時。右:培養3週間後

通常の天然物合成では、合成品の融点や旋光度を天然物の文献値と比較するが、ソラノエクレピンAは微量しか単離されていないため、これらの物性値は未知であった。そこで、合成品の生物活性試験をもって全合成の証明に代えることとし、日本に数人しかいないシストセンチュウ専門家が所属する、農研機構の北海道農業研究センターに共同研究を依頼した。休眠状態にあるシストを水中で注意深く破り、内包された数百個のPCN卵を懸濁状態とした後、合成品の希薄水溶液を加えて3週間培養を行う。この実験の結果、合成品は 1×10^{-9} g/mLという低濃度で顕著なふ化促進活性を示すことが証明された(図11)。

03 | 終わりに

このように、筆者らはソラノエクレピンAの世界初の不斉全合成に成功した。この成果は学術的な高評価を得たのみならず、予想を超える社会的意義を持つことが明らかとなった。すなわち、本研究が2011年にNature Chemistry誌に掲載されると、朝日、毎日、日本経済新聞などに報道されて広く反響を巻き起こした。直後から、農業関係の専門紙誌や北海道内の農業団体からの問い合わせが相次ぎ、PCNによる被害の深刻さを筆者に実感させることとなった。

PCNはナス科植物以外に寄生することはできないため、他の作物を栽培中の畑にふ化促進物質を散布すれば、騙されてふ化した幼虫はやがて餓死するしかない。北海道農業研究センターの奈良部博士らは、この環境調和型シストセンチュウ駆除法を以前から検討しており、ふ化促進物質としてトマトの水耕栽培液を用いた実験においてその有効性が確認されている¹¹⁾。この背景と筆者らの合成研究を核として、平成24年度から農林水産省のレギュラトリーサイエンス新技術開発事業「ジャガイモシストセンチュウの根絶を目指した防除技術の開発と防除モデルの策定」が実施された。さらに現在、革新的技術開発・緊急展開事業(うち先導プロジェクト)として「ジャガイモシロシストセンチュウ等に対する革新的な新規作用機構の線虫剤開発」を推進中である。日本が世界を先導してきた天然物化学と天然物合成が、実社会に貢献する日が来ることを強く願っている。

謝辞

ソラノエクレピンAの全合成研究において、開始時からご指導を賜りました北海道大学名誉教授の宮下正昭先生に感謝致します。また、北海道大学の大学院生として実験を担当してくれた遠又慶英博士、高橋基将博士、戸倉弘嗣氏、合成品のふ化活性試験を担当して頂いた北海道農業研究センターの奈良部孝博士と植原健人博士に御礼申し上げます。

参考文献

- 1) T. Masamune, M. Anetai, M. Takasugi, N. Katsui, *Nature* **297**(5866), 495-496 (1982).
- 2) A. Fukuzawa, A. Furusaki, M. Ikura, T. Masamune, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **4**, 222-224 (1985).
- 3) A. Murai, N. Tanimoto, N. Sakamoto, T. Masamune, *J. Am. Chem. Soc.* **110**(6), 1985-1986 (1988).
- 4) J. G. Mulder, P. Diepenhorst, P. Pliieger I. E. M. Brüggemann-Rotgans, *PCT Int. Appl. WO 9302083*, (1992).
- 5) H. Schenk, R. A. J. Driessen, R. de Gelder, K. Goubitz, H. Nieboer, I. E. M. Brüggemann-Rotgans, P. Diepenhorst, *Croat Chem Acta* **72**(2-3), 593-606 (1999).
- 6) G. Stork, J. F. Cohen, *J. Am. Chem. Soc.* **96**(16), 5270-5272 (1974).
- 7) K. Tanino, Y. Tomata, Y. Shiina, M. Miyashita, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**(2), 328-334 (2006).
- 8) A. B. Charette, H. Juteau, H. Lebel, C. Molinaro, *J. Am. Chem. Soc.* **120**(46), 11943-11952 (1998).
- 9) P. A. Grieco, S. Gilman, M. Nishizawa, *J. Org. Chem.* **41**(8), 1485-1486 (1976).
- 10) K. Tanino, M. Takahashi, Y. Tomata, H. Tokura, T. Uehara, T. Narabu, M. Miyashita, *Nat Chem* **3**(6), 484-488 (2011).
- 11) 奈良部孝, 農業および園芸 **83**(5), 595-600 (2008).