

学会賞受賞研究

農薬開発を目指したリグナン類の合成および構造活性相関に関する研究

山内 聡*

Satoshi YAMAUCHI*

Syntheses and Structure-Activity Relationship of Lignans to Develop Novel Pesticides

Abstract

Lignans, which are formed by two or three phenylpropanoid (C6-C3) units, are biosynthesized by many plants containing dietary plants. Since many styles of binding of phenylpropanoid units and oxidation are possible in the biosynthesis, we can find many structures and stereoisomers in the natural lignans. The different biological activities of stereoisomers of many chemical compounds have been known. Because the isolations of lignan stereoisomers from natural plants are difficult, each stereoisomer of lignans should be synthesized to start the biological experiments. The stereoselective or convergent syntheses of lignans enabled us to estimate the biological activity. As for the anti-phytopathogenic fungal activity, all stereoisomers of dihydroguaiaretic acid (DGA), which is a butane type lignan, showed activity against *Alternaria alternata* Japanese pear pathotype ($EC_{50} = 52-72 \mu M$). On the other hand, one of the stereoisomers of 8,8'-tetrahydrofuran lignan exhibited highest activity ($EC_{50} = 89 \mu M$). The enantiomeric specificity was observed in β -benzyl- α -benzylidene- γ -butyrolactone lignan ($EC_{50} = 0.6 \mu M$). In the effect on plant growth, two stereoisomers among eight stereoisomers of tri-substituted tetrahydrofuran lignan inhibited the growth of roots of Italian Ryegrass (50% from control at 1 mM). In the case of coumarin lignan bearing phenylpropanoid unit at 3-position, the *R*-form showed higher activity than *S*-form. The enantiospecific growth inhibitory activity against roots of Italian Ryegrass was clarified ($IC_{50} = 74 \mu M$) in pyran type 8,7'-neolignan. Furofuran lignans, (-)- and (+)-sesamin, were effective against both shoots and roots of lettuce, showing the growth inhibition against shoots (50% from control at 1 mM) and promotion against roots (50% from control at 1 mM). In the experiments using insect cells, one of the stereoisomers of arctigenin, which is a γ -butyrolactone lignan, showed highest cytotoxicity (Sf9 cells: $IC_{50} = 6.7 \mu M$, NIAS-AeAl2 cells: $IC_{50} = 0.73 \mu M$). The larvicidal activity against *Culex pipiens* was found in all stereoisomers of butane type lignan, DGA ($LC_{50} = 3.5-6.1 \times 10^{-5} M$). The syntheses of lignan derivatives bearing effective stereochemistry were also performed to design the compounds showing the higher activity.

Key words: lignan, neolignan, stereoisomer

1. 日本農薬学会について

日本農薬学会は、昭和 50 年（1975 年）に設立された作物保護や農薬をめぐる諸問題を考え研究する人々の団体で、現在、名誉会員 22 名、終身会員 64 名、正

会員 825 名、学生会員 63 名、維持会員 34 名、団体会員 68 団体で構成されていて、2025 年 3 月に 50 周年式典が予定されている。2023 年 4 月から近畿大学の松田一彦教授が本学会会長で、化学農薬を適用した実のある総合防除を提案・推進し、2025 年度からの学会の法人化を目指しておられる。農薬残留分析研究会、農薬製剤・施用法研究会、農薬バイオサイエンス研究会、農薬環境科学研究会、農薬生物活性研究会、農薬デザ

2024 年 10 月 30 日受領

2024 年 10 月 30 日受理

*愛媛大学農学部生物有機化学教育分野

イン研究会, 農薬レギュラトリーサイエンス研究会が自主運営の研究会として本学会の支援を受けて活動していて, 年に1回大会が開催される. 筆者は, 農薬デザイン研究会と大会に出席しているが, 企業からの参加者が多く, 学会発表する学生さんと企業の方々との良い出会いの場となっている.

2. はじめに

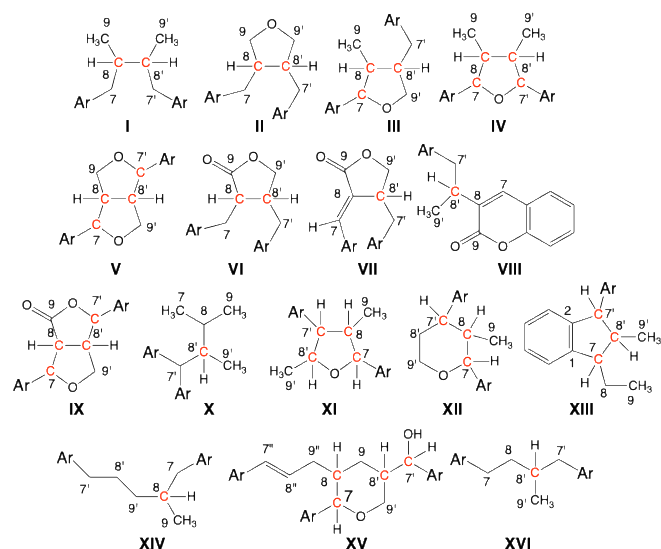


図1. これまでに筆者の研究室で合成されたリグナン類の平面構造
C: 不斉炭素, Ar = アリール基 (置換基を持つベンゼン環)

リグナン (Ayres et al., 1990; Ward, 1999) とは, ベンゼン環に3つの炭素鎖が結合したC6-C3単位 (フェニルプロパノイド単位) が2または3単位結合した, 食品性植物 (Peñalvo et al., 2008) を含む多くの植物によって生合成される天然化合物である. ベンゼン環上に水酸基が結合していればポリフェノールとなる. このC6-C3単位が多数重合したものがリグニンと言われる樹皮である. この結合様式, 骨格の酸化の位置, 程度に多様性があることから, 複数の不斉炭素 (結合している4つの原子または原子団が全て異なる炭素) を含み, 複数の立体異性体が存在し, 研究を困難にしている. 古くからリグナン類の生物活性試験が行われて来ているが, 立体構造が不明な論文が多く, それぞれのリグナン類について十分な情報が得られているとは言えない状況であった. 図1に, これまで筆者が合成してきたリグナン類の平面構造を示す. **I-IX**はC6-C3単位の8位と8'位が結合しているタイプで, **X**は, 8位と8'位が結合しているが, 7位のベンゼン環が7'位に転移している. **XI-XIII**は8 (8') 位と7' (7) 位が結合しており, **XIII**においては, さらに2位と7'位が結合している. **XIV**は, 8位と9'位が結合している. このように, 8位と8'位以外で結合しているタイプを, ネオリグナンという. さ

に**XV**は, 3単位 of C6-C3単位が結合したセスキリグナンで, **XVI**は炭素が1個欠落したノルリグナン (Moss, 2000) である. 不斉炭素が n 個含まれると, 分子の中に対象軸を持たなければ, 2^n 個の立体異性体が考えられる. 自然界の植物からリグナンを単離しても, その立体構造を決定するのが困難である場合が多く, 全ての純粋な立体構造を得られないことから, 有機合成化学的手法を用いて立体異性体の合成を行うことにした.

3. リグナン類の合成

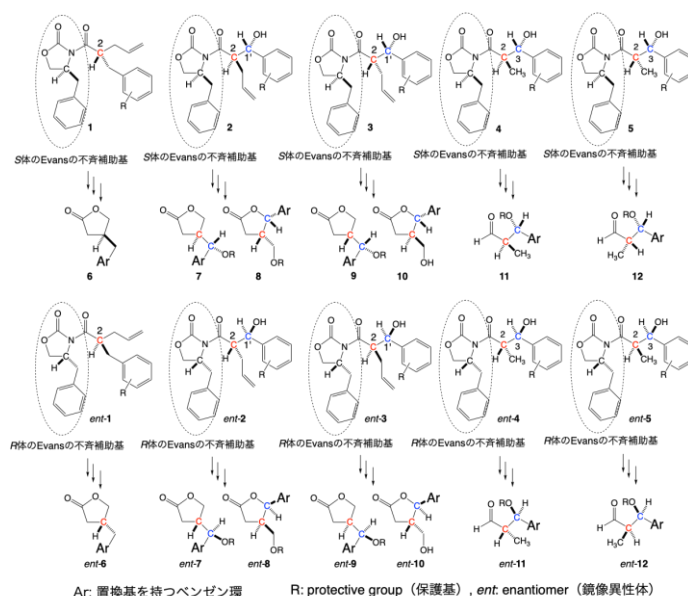


図2. リグナン類の立体異性体合成のために用いた不斉炭素を有する化合物

図2にリグナン類の立体構造を構築するために用いた出発化合物 **1-5** 及び **ent-1-ent-5** とそれらから得られる重要な中間体 **6-12** 及び **ent-6-ent-12** を示した. Evans の S 体の不斉補助基は市販品もあるが, L-フェニルアラニンから調整可能であり, アシル化 (RC=O 化) 後, ベンジル化により **1** が, Evans の *anti* アルドール縮合 (Evans et al., 2002) により **2** と **4** が, Evans の *syn* アルドール縮合 (Evans et al., 1981; Crimmins et al, 1997) により **3** と **5** が得られた. ここで得られた2位, 2'位と1'位, 2位と3位の立体構造を重要中間体 **6-12** の立体構造へ変換した. これらの鏡像異性体 **ent-6-ent-12** は, R 体の不斉補助基を利用して得た. これらの中間体の立体構造を利用してターゲットとなるリグナン類の立体構造をリレー的に構築した.

合成研究を行っているとき, 時々, 興味深い反応を発見することがある. その代表的なものを図3に示す. 化合物 **13** は, 7位にヘミアセタールのベンジル水酸基を有している. この化合物を $\text{Pd}(\text{OH})_2$ 存在下で H_2 と処理すると立体選択的還元が起こり, 4置換テトラヒド

ロフラン化合物 **14** が得られた。また、 β -ベンジル- α -ベンジリデン- γ -ブチロラクトンの *E*-体 **15** と *Z*-体 **16** の混合物の脱ベンジル化の後、アルカリ処理でラクトン環を開き、酸処理により再ラクトン化を行うと純粋な *E*-体 **17** が得られ、*Z*-体は脱ベンジル化の結果生じたオルト位のフェノール性水酸基がラクトン環の巻き直しを起こし、クマリン型リグナン **18** が得られた。さらに、3 級ベンジル水酸基を持つテトラヒドロフラン体 **19** をルイス酸とトリエチルシランで処理すると、分子内 Friedel-Crafts 反応が起こり、インダン型リグナン **20** が得られた。この骨格を持つ化合物はショウブ属に含まれているが、光学活性体の初めての合成例である。この反応では、全ての置換基がトランスの関係にある 4 置換テトラヒドロフラン化合物 **21** も同時に得られた。さらに、8'位にヨードメチル基を持つ全ての置換基がシスの関係にある 4 置換基テトラヒドロフラン化合物 **22** に対して、還元的にヨード基の除去を行うと、予期せずピラン化合物 **23** が得られた。この反応は、環拡大反応によってピラン環を得る反応であり、後に述べるが、ピラン化合物の興味深い生物活性の発見につながった。このような新しい反応を見出しながら、リグナン類の立体異性体の合成に成功した。また、光学純度は 95–100%ee であった。

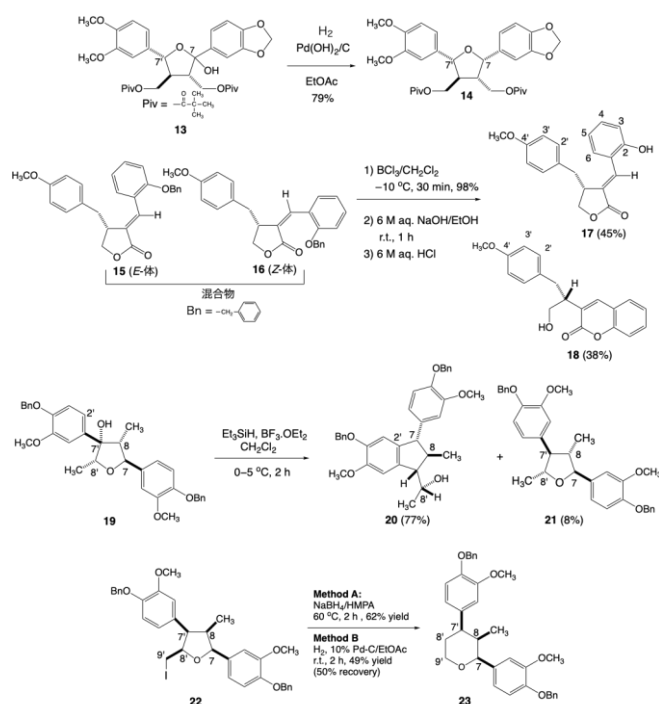


図3. リグナン合成研究の過程で観察された新反応

3. リグナン類の生物活性

3.1. 植物病原性カビに対する活性

リグナン類のいくつかは、*Alternaria alternata* Japanese

pear pathotype に対する抗カビ活性が認められた。図 1 のブタン型リグナン **I** に属する、漢方薬にも含まれる (+)-, (-)-, *meso*-dihydroguaiaretic acid (**24–26**) (図 4) には、活性に差は見られなかった ($EC_{50} = 52–72 \mu M$)。構造活性相関研究の結果 3'位に電気陰性度が大きく、サイズが小さいフッ素を、3 位にフッ素、4 位に OH 基を持つ誘導体 **27** が最も高い活性を示した ($EC_{50} = 11 \mu M$)。また、4 置換テトラヒドロフラン型の 8,8'-リグナン (図 1 の **IV**) においては、立体異性体 **28** の活性が最も高く ($EC_{50} = 89 \mu M$)、立体異性体 **29, 30** の活性はその約半分であった。構造活性相関研究の結果、3'位にフッ素を持ち、4 位に水酸基を、3 位にトリフルオロメチル基を有する誘導体 **31** がさらに高い活性を示した ($EC_{50} = 0.72 \mu M$) ことから、隣り合ったフェノール性水酸基と高い電気陰性度を持つ基の存在の重要性が示唆された。さらに、 β -ベンジル- α -ベンジリデン- γ -ブチロラクトン型リグナン (図 1 の **VII**) には、*R* 体に鏡像特異的な活性が認められ、化合物 **32** の EC_{50} 値が $0.57 \mu M$ であり、その誘導体の活性はさらに高く、(2-OCH₃, 4'-CF₃) 体 **33** と (2-OCH₃, 6-CH₃, 4'-OCH₃) 体 **34** の EC_{50} 値はそれぞれ $0.13 \mu M$, $0.25 \mu M$ であった。 α , β -ジベンジル- γ -ブチロラクトン型リグナン (図 1 の **VI**) の活性が低下したことから、共役系のベンジリデン構造が高い活性に重要である事が示唆された。一方でクマリン型リグナン (図 1 の **VIII**) では、*S* 体に鏡像特異的な活性が観察され、(4'-OCH₃,9'-OCH₃)体 **35** の EC_{50} 値が $16 \mu M$ で、6 位に CH₃ 基を導入するとさらに活性が向上した (**36**: $EC_{50} = 2.9 \mu M$)。これらの化合物は、同時に試験を行なった *Colletotrichum lagenarium*, *Bipolaris oryzae*, *Fusarium solani*, *Alternaria alternata* apple pathotype, *Alternaria citri* よりも活性が高いことから、種特異性が高いと考えている。

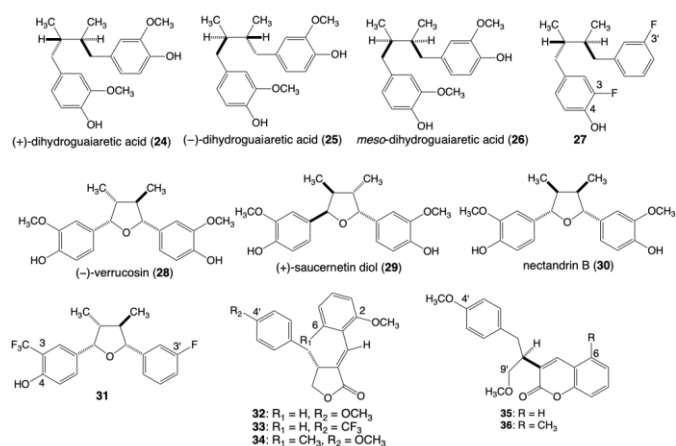


図4: *Alternaria alternata* Japanese pear pathotype に対する抗カビ活性を持つリグナン類

3.2. 植物に対する活性

次に、植物に対する活性を示したリグナン類を紹介する(図5)．まず、3置換テトラヒドロフラン型リグナン(図1のIII)の8個の立体異性体のうち食品性植物に含まれる(-)-lariciressinol(37)と立体異性体38が、ライグラスの根の生長を1 mMで約50%阻害することを見出した．続いて、この3置換テトラヒドロフラン型リグナンの9位と7'位がエーテル結合したフロフラン型リグナン(図1のV)について暗所で試験したところ、(+)-, (-)-sesamin(39, 40)は、1 mMでレタスの芽の生長を約50%阻害し、レタスの根の生長を約50%促進した．一方で、(+)-, (-)-pinoresinol(41, 42)は、ライグラスの根に対して生長を1 mMで約40%–65%阻害した．さらに、4置換テトラヒドロフラン型の8,8'-リグナン(図1のIV)においては、立体異性体28と30がレタスの根の生長を1 mMで70-90%阻害した．ライグラスの根に対しては、立体異性体28と30に加えて43と44が根の生長を1 mMで80-90%阻害した．クマリン型リグナン(図1のVIII)では、R-体の活性がS-体より高く、(3-OCH₃, 4'-OCH₃, 9'-OH)体45がライグラスの根(IC₅₀ = 56 μM)及びレタスの根(IC₅₀ = 228 μM)に対して生長阻害を示した．最も驚いたのは、合成研究中に予想外に得られたピラン型リグナン(図1のXII)の試験を行なった時であり、ピラン46が鏡像特異的にレタスの根(IC₅₀ = 221 μM)及びライグラスの根(IC₅₀ = 74 μM)に対して生長阻害を示した．同じ8,7'-ネオリグナンである4置換テトラヒドロフランとインダン骨格(図1のXI, XIII)は、植物に対して活性を示さなかった．

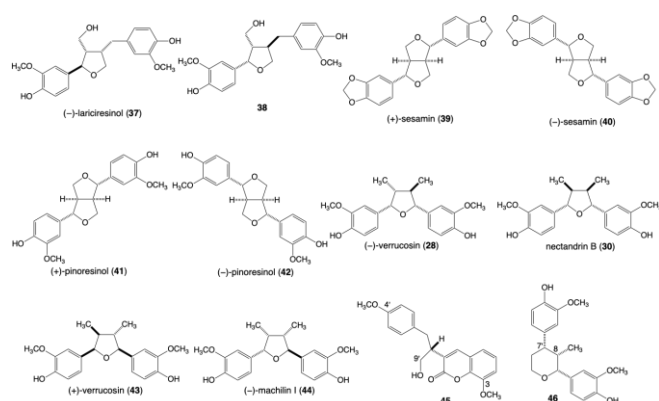


図5: 植物に対する活性を持つリグナン類

3.3. 昆虫細胞に対する細胞毒性及び抗ボウフラ活性

筆者らは図1のリグナン類について、がん細胞、昆虫細胞に対する細胞毒性試験も行ってきた．今回の受

賞に関係するものは、 α,β -ジベンジル- γ -ブチロラクトン型リグナン(図1のVI)のタイプである、ゴボウの種子に含まれる arctigenin の昆虫細胞に対する細胞毒性の研究である．Table に示すように、2種の昆虫細胞に対して(8R,8'R)体が最も高い活性を示した．Sf9細胞に対しては、(8S,8'R)体の活性は半分の減少であったが、(8S,8'S)体の活性は1/12に、さらに、(8R,8'S)体の活性は15倍以上弱くなったことから、8'Rの立体構造が高い活性のためにより重要であることが示唆された．NIAS-AeAl-2細胞に対しても同様の傾向が観察された．一方で、癌細胞であるHL-60細胞に対しては、4つの立体異性体47–50の活性がIC₅₀値8.5–23 μMであり、立体異性体間に大きな活性の差は認められなかった．ゴボウの種子に含まれる arctigenin については、古くから細胞毒性が知られていたが、昆虫細胞に対する活性と立体構造との関係が初めて明らかになった．

Table. arctigeninの立体異性体の昆虫細胞に対する細胞毒性(IC₅₀ ± SD)

	Sf9 cells	NIAS-AeAl-2 cells
 (-)-arctigenin (47)	6.7 ± 1.5 μM	0.73 ± 0.21 μM
 (+)-arctigenin (48)	80 ± 11 μM	28 ± 4.2 μM
 49	>100 μM	57 ± 4.9 μM
 50	13 ± 2.1 μM	6.3 ± 3.5 μM

最後に、抗ボウフラ活性について述べる．植物病原性カビに対して活性を示した dihydroguaiaietic acid の立体異性体(図4の24–26)の、アカイエカのボウフラに対する殺虫活性がLC₅₀値3.5–5.1 × 10⁻⁵ Mであり、立体異性体間で差は見られなかった．同様の骨格を持ち、9位と9'位が水酸化された食品性植物に含まれる(+)-, (-)-, meso-secoisolariciresinol 51–53には活性は観察されなかった(図6)．このことから、9位と9'位は還元型の構造が活性に重要であることが示唆された．

続いて dihydroguaiaretic acid の一つの立体異性体の、ベンゼン環上の置換基を変換した誘導体を合成し、構造活性相関研究を行なったところ、3'位に OH 基を持ち、2 位から 5 位に 1 個から 3 個のフッ素原子を有する誘導体 **54–58** に即効性が観察された。半数の致死率が 15 分であり、これらの LC₅₀ 値は $2.0\text{--}3.7 \times 10^{-5} \text{ M}$ だった。また、作用メカニズムとして呼吸障害が示唆された。

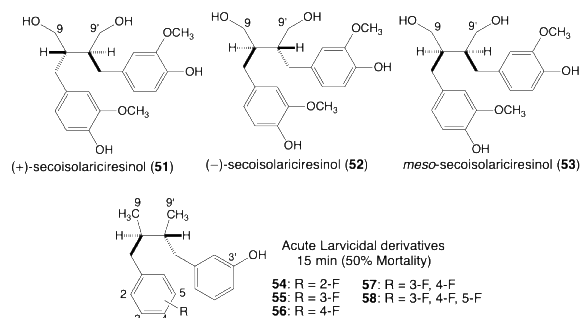


図6. アカイエカのボウフラに対して活性を示さないsecoisolariciresinolの立体異性体**51–53**, 及び、即効性を示すdihydroguaiaretic acid 誘導体**54–58**

4. おわりに

筆者のリグナン研究の始まりは、谷口栄二九州大学名誉教授の研究室でのハエドクソウの殺虫成分、haedoxan の研究である (Ishibashi et al., 1998)。この haedoxan は特殊な構造を持つセスキリグナンであり、我々の身近な植物界にはもっと単純なリグナン類が多く存在している。身近なリグナン研究が未利用資源の有効利用につながるのではないかと理由から、立体異性体の合成研究を始めた。古くから知られている化合物で、いまさらリグナン研究を行なう意味を疑問に思う方も多いだろうが、ここに述べてきたように、立体異性体を詳細に検討した例は少なく、さらに、構造活性相関研究も乏しいのが実情であった。そもそも植物によって生合成される化合物であるので、植物またはその害虫、病原菌に対する活性に期待が持てる。海外では天然物食品添加物由来の農薬の開発も行われている (白井ら, 2023)。これまで明らかになったリグナンの構造活性相関研究成果が、新たな農薬開発の基礎データとなることを期待している。しかしながら、我々有機合成化学者にとっては、合成研究の過程で示された合成法、合成した化合物が何の役に立つのかについて全くこだわりは無く、今後、医薬、化粧品、食品の分野でも貢献できるのではないかと考えている。リグナン類は食品性植物にも含まれており、我々の体内では様々な化学反応を受けて多くの代謝化合物へと

変化する。「ベンジル位」という反応性の高い部位を持つリグナン類は酸化反応を受けやすく、摂取後体内で不斉炭素が増える可能性が大きい。現在、食品性リグナン類の体内代謝化合物の立体異性体をこれまで得られた知見を基に合成し、共同研究者に化合物を提供して、人の健康に対する効果を調べている。読者の方々が、身近な有機化合物と立体異性体について少しでもご理解していただけたならば幸いである。

謝辞

生物活性試験において、西脇寿先生、秋山浩一先生にお世話になっている。本研究の一部は愛媛大学総合科学支援センター物質科学研究支援部門、遺伝子解析研究支援部門において行なった。

引用文献

- Ayres DC, Loike JD. (1990) Lignans. Cambridge University Press. Cambridge, U.K.
- Crimmins MT, King BW, Tabet EA. (1997) Asymmetric aldol additions with titanium enolates of acyloxazolidinethiones: dependence of selectivity on amine base and Lewis acid stoichiometry. *Journal of American Chemical Society* 119: 7883–7884.
- Evans DA, Bartoli J, Shih TL. (1981) Enantioselective aldol condensations 2. erythro-selective chiral aldol condensations via boron enolates. *Journal of American Chemical Society*. 103: 2127–2129.
- Evans DA, Tedrow JS, Shaw JT, Downey CW. (2002) Diastereoselective magnesium halide-catalyzed anti-aldol reactions of chiral N-acyloxazolidinones. *Journal of American Chemical Society*. 124: 392–393.
- Ishibashi F, Taniguchi E. (1998) Synthesis and absolute configuration of the insecticidal sesquilignan (+)-HAEDOXAN a in honour of professor G. H. Neil Towers 75th birthday. *Phytochemistry*. 49: 613–622.
- Moss GP. (2000) Nomenclature of lignans and neolignans. (IUPAC recommendations 2000). *Pure and Applied Chemistry*. 72: 1493–1523.
- Peñalvo JL, Adlercreutz H, Uehara M, Ristimäki A, Watanabe S. (2008) Lignan content of selected foods from Japan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 401–409.
- Ward S. (1999) Lignans, neolignan and related compounds. *Natural Product Reports*. 16: 75–96.
- 白井祐一・梅津憲治・加嶋崇之・林直孝・宮下正弘・若林孝俊・杉本幸祐. (2023) 天然物・食品添加物由来の農薬の開発動向. 梅津憲治. 化学農薬・生物農薬およびバイオスティミュラントの創製研究動向. シーエムシー出版. 東京. 264–321.