

氏 名(本籍)	の 野 した 下 とし 俊 ろう 朗
学 位 の 種 類	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 4 9 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 7 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 専 攻	東 北 大 学 大 学 院 農 学 研 究 科 (博 士 課 程) 農 芸 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	糖 質 を 利 用 し た 生 物 活 性 ジ ヒ ド ロ ピ ラ ノ ン 類 の 合 成

論 文 審 査 委 員 (主 査)	教 授	折 谷 隆 之
	教 授	一 島 英 治
	教 授	山 谷 知 行
	助 教 授	杉 山 長 美

論文内容要旨

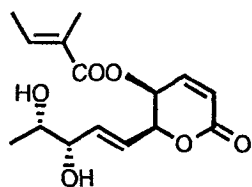
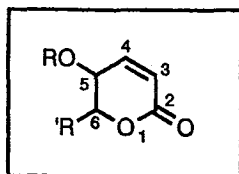
<第一章 緒論>

優れた景観性を持ち、広く造園などに利用されている樹木として、針葉樹ではマツを、広葉樹ではニレ(*Ulmus sp.*)をそれぞれ挙げるができる。しかし、この両者とも凶暴な病害虫によって侵されつつある。激しい侵害力、伝播力を持つマツ立枯病が日本の景観を支えているマツに甚大な被害を与えていることは周知の事実であるが、奇しくも広葉景観樹の代表・ニレにもニレ立枯病がある。ニレは世界中で栽培され、植栽ニレだけでも1.4億本以上とも言われるが、これらがニレ立枯病によって壊滅的な打撃を受けている¹⁾。いずれの場合もその効果的な防除法は無く、殺菌剤や、媒介昆虫を対象とした殺虫剤の散布などが行われているにすぎない。ニレ(主に*Ulmus glabra*)の場合、媒介昆虫であるニレノキクイムシ(*Scolytus multistriatus*)による食害が少なくニレ立枯病による被害も少ない個体のあることから、Groveらにより共生するカビ *Phomopsis oblonga* がニレノキクイムシに対する摂食阻害物質を生産していることが明らかにされた²⁾。この事実は、ニレ立枯病に対する防除法の一つの可能性を示すものである。摂食阻害物質を使用した植物の病・食害の防除は化学的防除法ではあるものの環境に対する影響は少ないと考えられることから、今後、発展が期待される。このように自然界にある現象を応用する場合には、まず生物活性を有する天然物をリード化合物とし、その周辺を探る方法が有効であり、合成化学の手法は不可欠のものである。

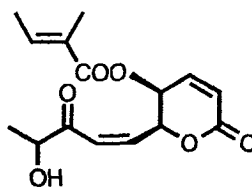
本研究では前述のニレノキクイムシに対する摂食阻害物質(Phomopsolide類)の基本骨格である6-substituted-5,6-dihydro-5-acyloxy(or hydroxy)-2H-pyran-2-one(以後ジヒドロピラノン)骨格を有する一連の化合物(Fig. 1)の簡便かつ効率的な合成法の確立を目的とした。これには、希望する絶対立体配置を有する化合物を確実に得る方法論の展開が重要となる。この観点から本研究では光学活性な合成中間体の合成法の確立も併せて目的とした。さらに合成した化合物の鏡像異性体間の生物に対する活性についても検討することとした。

Fig. 1

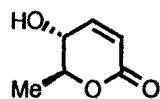
6-Substituted-5,6-dihydro-5-hydroxy(or acyloxy)-2H-pyran-2-ones



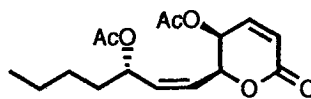
Phomopsolide B (1)



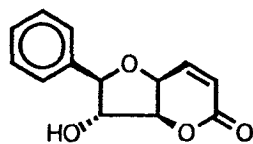
Phomopsolide A (2)



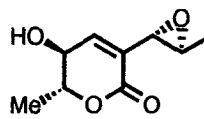
Osmundalactone (3)



Pectinolide A (4)



Altholactone (5)

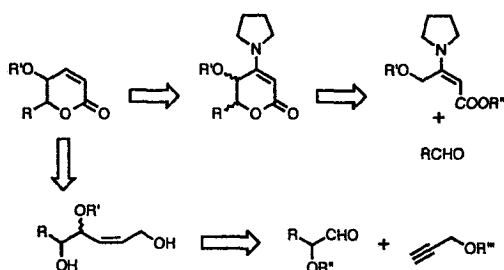


Aspyrone (6)

<第二章>

ジヒドロピラノン骨格の構築法としては様々な方法が考えられるが、本研究では糖の6員環部分を利用することにした。この方法は、既知の立体を利用するのでFig. 2に示した方法より効率的に絶対立体配置の確定したジヒドロピラノン骨格が得られ、さらに末端の水酸基を利用し側鎖の導入も容易と考えられる。これまでに1位を保護した2,3-不飽和糖を用いた天然物の合成例は³⁾あるが、その脱保護には強酸性条件を必要とし、分子の他の部分が分解するなどの不具合が生じやすいことから改良法の開発が望まれていた。以上のことを考慮し、1位の水酸基を酸化的に脱保護可能と考えられるフェニルエーテルで保護した2,3-不飽和糖の簡便な合成法を確立するためにフェノール類を用いたFerrier反応を再検討した。

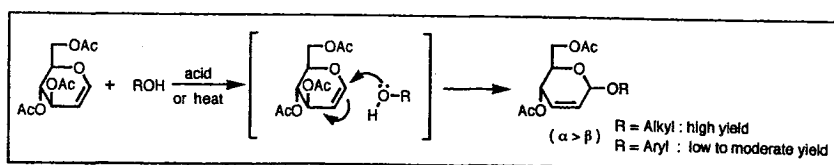
Fig. 2



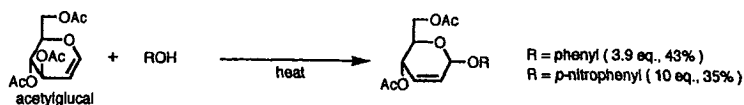
<第一節 フェノール類のFerrier反応の再検討>

Ferrier反応とは、グリカルエステルにアルコール類を反応させ不飽和糖のグリコシドを得る反応であり、通常はルイス酸を触媒として用いるか、加熱することによって反応を進行させる。この反応は、これまでにアルコール類での例は数多くありその収率も高いものが多い⁴⁾。しかし、アルコール類に換えてフェノール類を用いた例は少なく、いずれも低い収率にとどまり、実用的ではなかった^{5, 6)} (Scheme 1)。そこで数種のフェノールとグリカルエステルを用いてFerrier反応を検討した (Table 1)。その結果、触媒として5モル%程度の $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ を用い、トルエン中で反応を行えばaryl O-glycosideが高収率で得られ、これに対し塩化メチレン中 20モル%

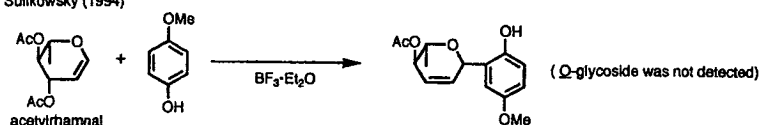
Scheme 1 Ferrier Reaction



Ferrier (1962)



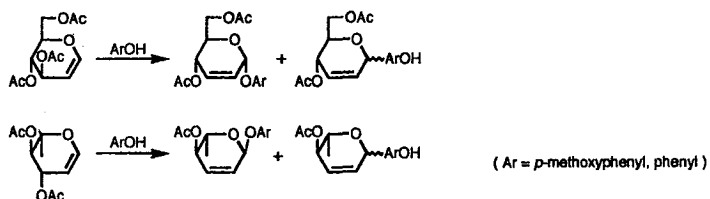
Sulkowsky (1994)



程度の $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ を用いるとaryl *C*-glycosideが得られることが明らかとなった。この反応が

p-methoxyphenolの場合に最も良い結果を与えたことは、同化合物が、2,3-不飽和糖の1位の保護基としての有用性を示すとともに、このaryl *O*-glycosideの合成中間体としての有用性をも示すものである⁷⁾。

Table 1 Ferrier Reaction of Acetylglycals with Phenols



acetylglycal	phenol	solvent	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (mol%)	temp. / time(hr)	product	
					<i>O</i> -glycoside	<i>C</i> -glycoside
Glucal	MPOH	CH_2Cl_2	20	$-10^\circ\text{C} / 1$	-	72% ($\alpha/\beta = 3/4$)
		toluene	20	r.t. / 1	12%	42% ($\alpha/\beta = 1/1$)
		toluene	20	$-10^\circ\text{C} / 2$	83% ($\alpha/\beta = 10/1$)	17% ($\alpha/\beta = 1/1$)
	PhOH	toluene	5	$-10^\circ\text{C} / 2.5$	92% ($\alpha/\beta = 10/1$)	-
			5	$-20^\circ\text{C} \sim \text{r.t.} / 10$	59% ($\alpha/\beta = 10/1$)	-
Rhamnal	MPOH	toluene	5	$-10^\circ\text{C} / 5$	97% ($\alpha/\beta = 10/1$)	-
	PhOH	toluene	5	$-5^\circ\text{C} \sim \text{r.t.} / 5$	57% ($\alpha/\beta = 20/1$)	-

<第二節 反応機構の解明>

前節において塩化メチレン中 20モル%程度の $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ を用いるとaryl C-glycosideが得られるのは、反応の初期に生成したaryl O-glycosideの転位反応⁸⁾が関与しているためと考えられた。よって、反応系より経時的にサンプリングを行い反応物をTLCで分析したところ、前記の転位反応が関与していると思われる結果が得られた(Fig. 3)。さらに、O-glycoside 7とanisoleの混合溶液を $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ で処理するとaryl C-glycoside 8に加えて新たに、糖とanisoleとが結合した 9 が得られた(Scheme 2)ことよりこの転位反応の存在は確認された。しかし、反応開始直後、既にaryl C-glycosideの生成が認められることより直接のC-グリコシル化も否定できない。

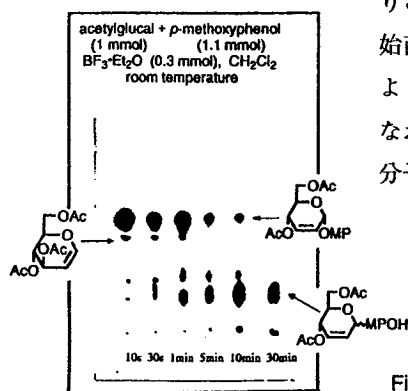
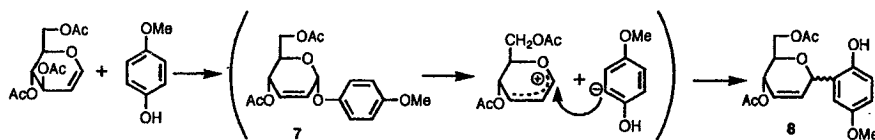
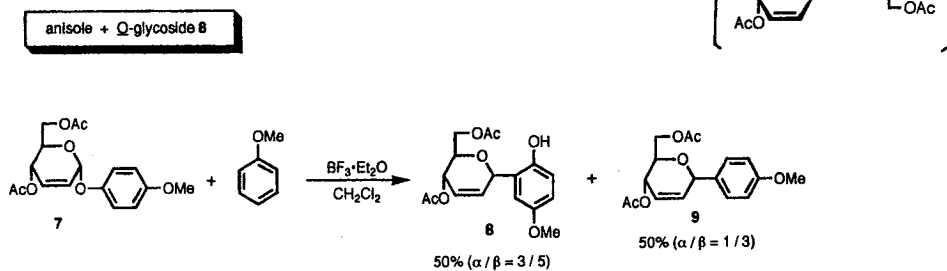


Fig. 3 Reaction Process



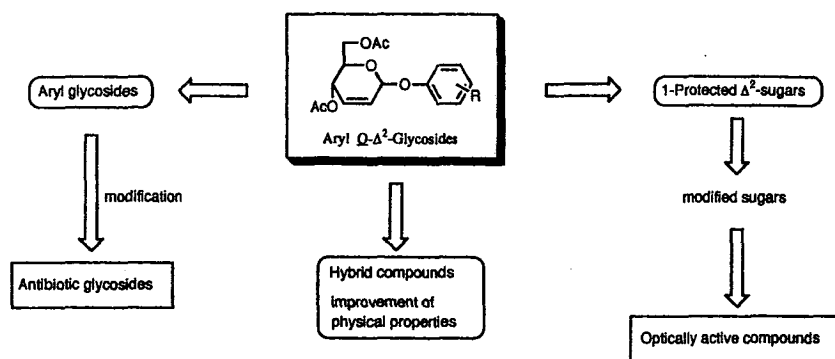
Scheme 2



<第三節 Ferrier反応成糖体の特徴と有用性>

フェノール類を用いたFerrier反応によってO-glycosideおよびC-glycosideの作り分けの方法を確立したことはそれぞれの配糖体の合成や難溶性フェノール類のハイブリッド化による溶解性の改善への進展が期待されるだけでなく様々な天然物合成の光学活性な合成中間体としての応用が期待される (Fig. 4)。

Fig. 4 Utility of Aryl O- Δ^2 -Glycosides



特に、*p*-methoxyphenyl O-glycosideは、次のような特徴を有していることが判明した (Fig. 5)。

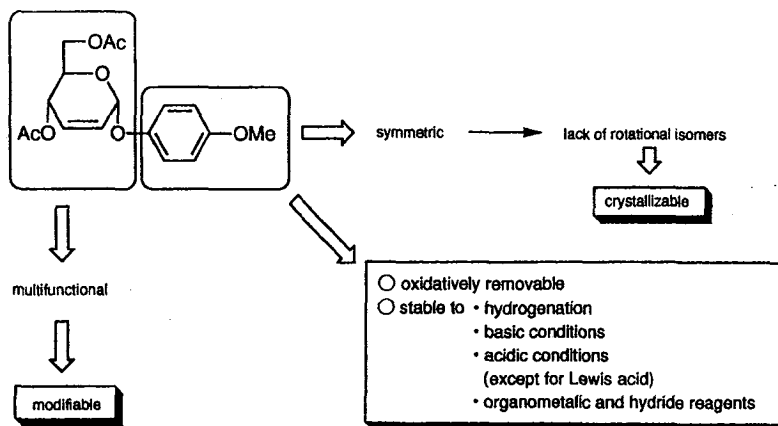
- ① *p*-Methoxyphenyl基は酸化的に脱保護可能である。
- ② 種々の反応 (接触水素添加・有機金属試薬やヒドリドなど) に対して安定である。
- ③ 非常に結晶性が良く精製が容易である。
- ④ 糖部分の改変・修飾が容易である。

このような特徴から、*p*-methoxyphenyl O-glycosideは、優れたキラル素子と成り得ると言える。

<第四節 *p*-Methoxyphenyl基の新規脱保護法の開発>

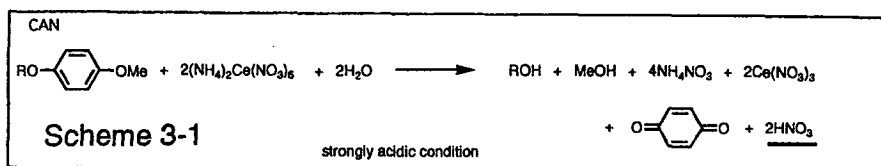
p-Methoxyphenyl O-glycosideを合成中間体として用いる際に解決すべき第2の点は

Fig. 5 Features of *p*-Methoxyphenyl *O*- Δ^2 -Glycosides

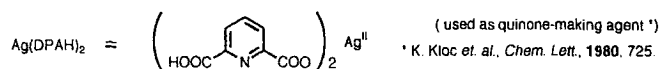
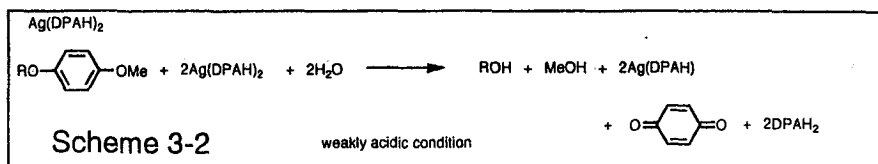


Versatile Synthons!

1位の保護基として導入した*p*-methoxyphenyl (MP)基の温和な条件下での脱保護の方法の確立である。これまでにMP基を水酸基の保護基として利用した場合の脱保護法としては ceric ammonium nitrate (CAN) を用いる酸化的脱保護法のみが知られていた⁹⁾ (Scheme 3-1)。この場合、反応液が遊離した硝酸によって強い酸性となることから不飽和糖の構造の一部あるいは他の保護基が分解してしまうなどの不都合が生じるため保護基としてのMP基の使用は制約の多いものとなっていた。種々検討の結



果、silver(II) bis-(hydrogen dipicolinate) [Ag(DPAH)₂]が好ましいことが判明した (Scheme 3-2)。本試薬は二価の銀イオンによってフェニルエーテル類を酸化するものでありキノンの合成に用いられた¹⁰⁾。しかし、本試薬が*p*-methoxyphenyl基の脱保護に用いられた例は無く、本研究で用いたのが最初である。本法の開発によって *p*-methoxyphenyl *O*-glycoside を有用な合成中間体として確立することができた。



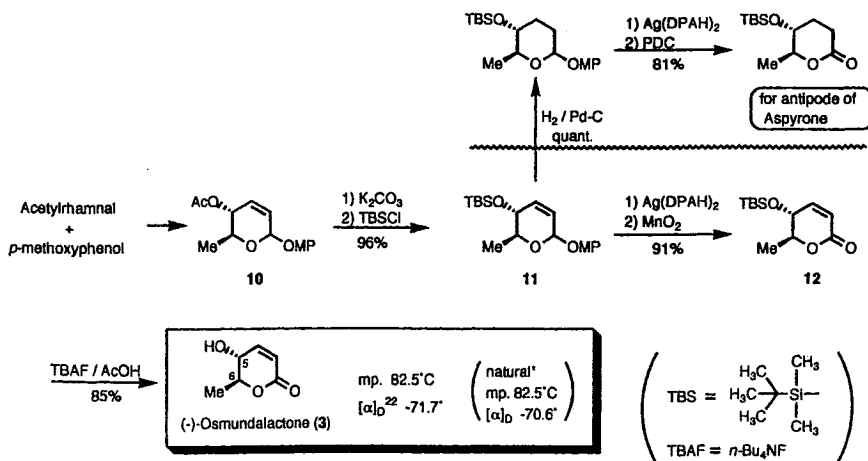
<第三章 ジヒドロピラノン類の合成>

<第一節 Osmundalactoneの合成>

Osmundalactone¹¹⁾ (**3**)は、*Osmunda japonica* (アカボシゼンマイ) より単離され、キチヨウ幼虫に対し摂食阻害作用を有する¹²⁾。また、**3** は配糖体osmundalinのアグリコン部分としても知られ、その絶対立体配置は(5*R*,6*S*)と決定されている。天然型osmundalactoneは既に村山¹³⁾ らによっても合成されていたが、本研究では前章で確立した方法を用いosmundalactoneの両鏡像異性体を合成した。

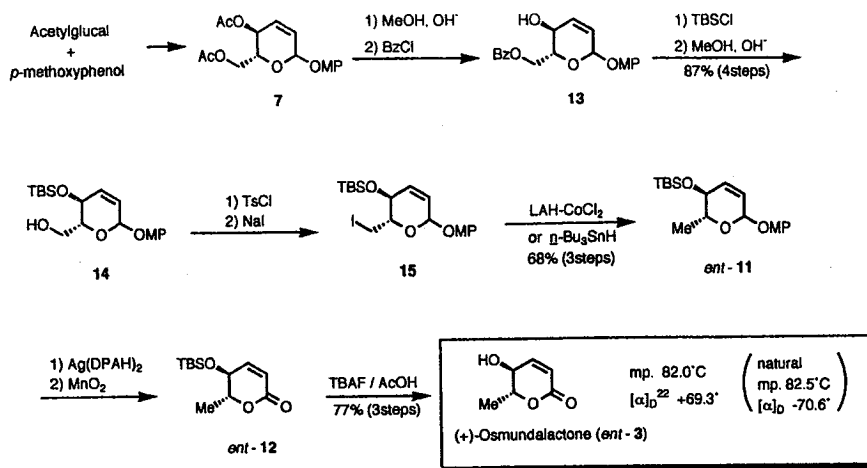
すなわち、*p*-methoxyphenolとacetylrhannalのFerrier反応成績体**10**の保護基の交換を行い**11**とした後にAg(DPAH)₂を用いてMP基を除き、活性二酸化マンガンによる酸化でジヒドロピラノン**12**を得た。最後にTBS基を除去し天然型osmundalactone (**3**)を合成した (Scheme 4)。次いで、非天然型osmundalactone (*ent*-**3**)の合成を行った。すなわち、*p*-methoxyphenolとacetylglucalのFerrier反応成績体**7**を原料とし、数段階でiodide**15**へと導いた。還元的にヨウ素を除去した後、天然型と同様の経路で非天然型osmundalactone (*ent*-**3**)を合成した (Scheme 5)。両者の比旋光度の絶対値、及び融点は天然から分離されたosmundalactoneのものと同様に一致した。

Scheme 4 Total Synthesis of (-)-Osmundalactone



* K. H. Hollenbeak et al., *Tetrahedron*, 30, 2307-2315 (1974).

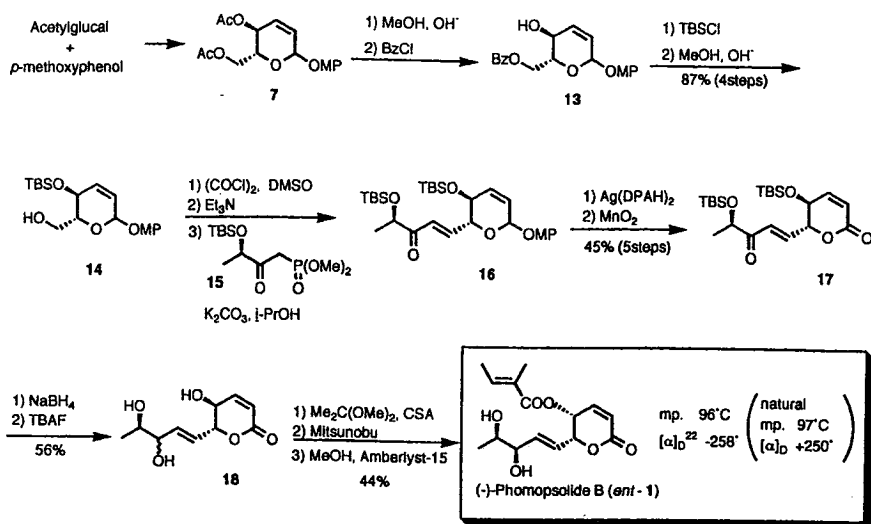
Scheme 5 Total Synthesis of (+)-Osmundalactone



<第二節 Phomopsolide Bの合成>

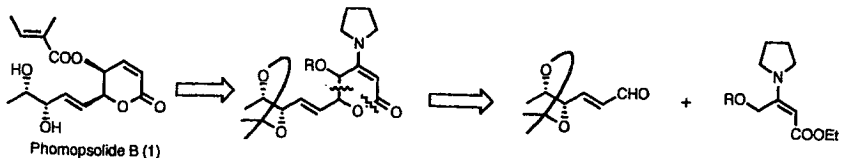
Phomopsolide B (1) は、ニレノキと共生関係にあるカビ *Phomopsis oblonga* の生産するジヒドロピラノンである。ニレ立ち枯れ病を媒介するニレノキイムシに対して摂食阻害作用を示し、ニレにとっての外因性防御物質とも考えられる化合物である²⁾。本研究ではこの phomopsolide B (1) の鏡像異性体を合成した。すなわち *p*-methoxyphenol と acetylglucal の Ferrier 反応成績体 **7** を原料とし、数段階でアルコール **14** を得た。アルコール **14** を Swern 酸化でアルデヒドとした。これと乳酸エステルから導いたホスホナート **15** を Horner-Emmons 反応でカップリングして側鎖を導入し、**16** とした。Ag(DPAH)₂ を用いて MP 基を除き活性二酸化マンガンによる酸化でジヒドロピラノン **17** を構築した後、側鎖のケトンの還元・チグリン酸エステルの立体反転を伴った導入などを行い phomopsolide B (1) の鏡像異性体 (*ent*-1) を合成した (Scheme 6)。

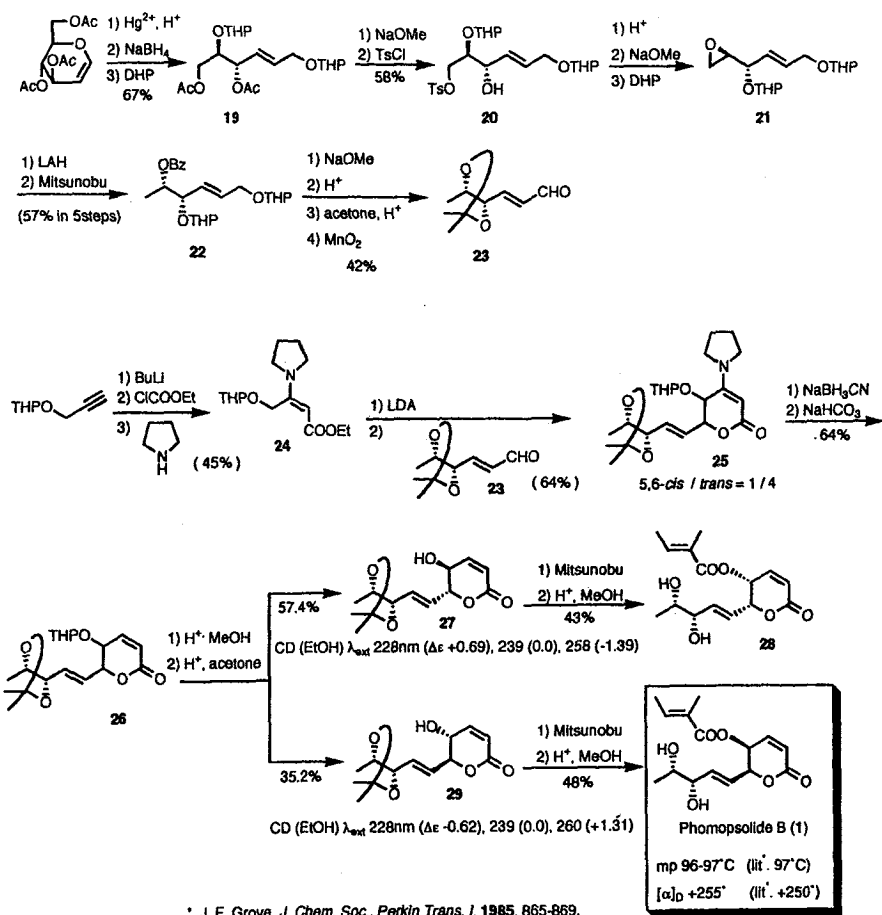
Scheme 6 Total Synthesis of (-)-Phomopsolide B



当初、天然型phomopsolide Bは別経路、すなわちアルデヒド23とエナミノエステル24とのカップリングでジヒドロピラノン骨格を構築する方法で合成した(Scheme 7)¹⁴⁾。Ferrier反応を用いた非天然型の合成との直接の比較はできないが、全収率や合成経路の長さ・異性体を分離する必要の有無などの点から後者の合成法が、より優れていると考えられる。なお、今回は元の糖の4位に相当する部分の立体化学を反転させて合成したが、この経路の中で、元の糖の5位に相当する部位の反転を行えば、天然型phomopsolide Bの骨格が得られることは注目に値する。

Scheme 7 Total Synthesis of (+)-Phomopsolide B





<第四章 生物活性試験>

合成したosmundalactone 及びphomopsolide B の両鏡像異性体を用い生物活性試験を行い鏡像異性体間及び化合物間の生物活性の差異を調べることにした。

<第一節 昆虫に対する摂食試験>

以下の三種の昆虫に対して摂食阻害活性を調べた。

- i) ウリキンウワバ(*Anadevidia peponis*, 鱗翅目・ヤガ科・ウワバ亜科)の幼虫
 - ii) オオニジュウヤホシテントウ(*Epilachna vigintioctopunctata*, 鞘翅目*・テントウムシ科)の幼虫
 - iii) イチゴハムシ(*Galerucela vittaticollis*, 鞘翅目*・ハムシ科)の成虫
*鞘翅目とは、いわゆる甲虫類・beetle.
- それぞれ以下の結果が得られた。

i) ウリキンウワバに対して選択試験を5回行った。Phomopsolide B の両鏡像異性体に摂食阻害活性が見られたが鏡像異性体間に活性の差は見られなかった。天然型osmundalactone (3)には摂食阻害作用が見られなかったが、非天然型osmundalactone (ent・3)は摂食阻害活性を示した (Table 2)。

ii) オオニジュウヤホシテントウに対して無選択試験を5回行った。いずれの化合物にも阻害活性が見られたが各化合物間に活性の差は見られなかった (Table 3)。

iii) イチゴハムシに対して選択試験を3回行った。Phomopsolide B は両鏡像異性体とも摂食阻害活性を示さなかったが、osmundalactoneは 両鏡像異性体とも摂食阻害活性を示した (Table 4)。

以上の結果から、活性と構造との間に統一的に解釈できる傾向は存在しないようであるが、昆虫の種により感受性が異なっており、これが宿主選択の多様性と関連しているのかも知れない。なお、ウリキンウワバに対する試験でosmundalactone の鏡像異性体間に活性の差がでたことは興味深い。

Table 2. ウリキンウワバに対する摂食試験*

サンプル	サンプル濃度	摂食面積(mm ²)
(+) phomopsolide B	0.005M	19.6 ± 10.0
control	-	247.6 ± 62.0
(-) phomopsolide B	0.005M	16.0 ± 8.7
control	-	312.4 ± 1.6
(+) phomopsolide B	0.01M	12.8 ± 2.8
control	-	147.6 ± 66.1
(-) phomopsolide B	0.01M	0
control	-	84.7 ± 56.4
(-) osmundalactone	0.01M	125.4 ± 26.1
control	-	190.6 ± 75.6
(+) osmundalactone	0.01M	28.2 ± 12.4
control	-	255.6 ± 36.8

* アレチウリの葉を使用、選択試験5回

Table 3. オオニジュウヤホシテントウに対する摂食試験**

サンプル	摂食面積(mm ²)
control	43.4 ± 12.4
(+) phomopsolide B	8.8 ± 3.2
(-) phomopsolide B	2.6 ± 0.9
(-) osmundalactone	3.2 ± 1.8
(+) osmundalactone	4.6 ± 2.7

** ホオズキの葉を使用、試料濃度0.01M、無選択試験5回

Table 4. イチゴハムシに対する摂食阻害試験***

サンプル	活性
(+) phomopsolide B	±
(-) phomopsolide B	±
(-) osmundalactone	+
(+) osmundalactone	+

***試料濃度0.01M、選択試験3回

(阻害活性のある場合を+)

<第二節 レタス発芽試験>

レタスに対する発芽試験を行い、発芽及び幼植物の成育に対する影響について調べた。いずれの化合物も50ppm以上の濃度で発芽率の低下が観察された。非天然型 osmundalactone (*ent*-**3**)では50ppm~100ppmで根を伸長させる活性が現れたが、明らかに根毛が少なく伸長促進作用ではなく異常伸長であると判断された。その他については伸長阻害活性が観察された。

<第五章 要約>

1) これまで例の少なかったフェノール類を用いたFerrier反応を検討し、その反応条件を確立した。特に*p*-methoxyphenolとアシルグリカールの場合にaryl *O*-glycosideとaryl *C*-glycosideの作り分けに成功した。

2) *p*-Methoxyphenyl (MP)基の非常に温和な除去法を確立した。このことによってMP基の保護基としての利用範囲を広げることができ、また、*p*-methoxyphenyl *O*-glycosideを有効なキラル素子として確立することができた。

3) 以前に合成した天然型phomopsolide Bに加えて、上記の成果を用い osmundalactoneの両鏡像異性体およびphomopsolide Bの非天然型を効率良く、また高光学純度で合成した。

4) 合成した化合物について生物活性試験を行った。天然には存在しない鏡像異性体を用いたことにより興味深いデータが得られた。

<参考文献>

- 1) 高井省三, *化学と生物*, 22, 462 (1984).
- 2) 構造; J. F. Grove, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1985, 865.
活性; N. Claydon, J. F. Grove and M. Pople, *Phytochemistry*, 24, 937 (1985).
- 3) S. Valverde, A. Hernandez, B. Herradon, R. M. Rabanal and M. Martin-Lomas, *Tetrahedron*, 43, 3499 (1987).
- 4) R. J. Ferrier and N. Prasad, *J. Chem. Soc. (C)*, 1969, 570.
- 5) R. J. Ferrier, W. G. Overend and A. E. Ryan, *J. Chem. Soc.*, 1962, 3667.
- 6) A. Sobti and G. A. Sulikowski, *Tetrahedron Lett.*, 35, 3661 (1994).
- 7) T. Noshita, T. Sugiyama, Y. Kitazumi and T. Oritani, *Tetrahedron Lett.*, 35, 8259 (1994).
- 8) T. Kometani, H. Kondo and Y. Fujimori, *Synthesis*, 1988, 1005.
- 9) T. Fukuyama, A. A. Laud and L. M. Hotchkiss, *Tetrahedron Lett.*, 26, 6291 (1985).
- 10) K. Kloc, J. Mlochowski and L. Syper, *Chemistry Letters*, 1980, 725.
- 11) K. H. Hollenbeak and M. E. Kuehne, *Tetrahedron*, 30, 2307 (1974).
- 12) A. Numata, K. Hokimoto, T. Takemura and S. Fukui, *Appl. Ent. Zool.*, 18, 129 (1979).
- 13) T. Murayama, T. Sugiyama and K. Yamashita, *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2347 (1986).
- 14) T. Noshita, T. Sugiyama, K. Yamashita and T. Oritani, *Biosci. Biotech. Biochem.* 58, 740 (1994).

<原著論文>

- 1) Phenolic Ferrier Reaction and its Application to the Natural Product Synthesis
T. Noshita, T. Sugiyama, Y. Kitazumi, and T. Oritani, *Tetrahedron Lett.*, 35, 8259 (1994).
- 2) Total Synthesis of Natural (+)-Phomopsolide B, an Antifeedant against Elm Bark Beetle.
T. Noshita, T. Sugiyama, K. Yamashita, and T. Oritani, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 58, 740 (1994).
- 3) Total Synthesis of Natural (+)-Phomopsolide B
T. Noshita, T. Sugiyama and K. Yamashita, *Agric. Biol. Chem.*, 55, 1207 (1991).

<参考>

糖質を利用した生物活性ジヒドロピラノン類の合成
杉山長美、野下俊朗、平館彰、北住賢治、山下恭平、折谷隆之. 第36回天然有機化合物討論会講演要旨集 p. 626~632 (1994).

論文審査の要旨

糖質は植物界から多量に得られる光学活性資材として、これまで種々の複雑な生物活性天然物の合成に利用されてきた。また、ジヒドロピラノン環を有する生物活性天然物としてニレキクイムシおよびキチュウ幼虫に対する摂食阻害物質 phomopsolide 類および osumundalactone 類が知られている。

本研究は、環境にやさしい植物病害虫防除法の開発研究の一環として、糖質から生物活性ジヒドロピラノン類の合成とそれらの構造・活性相関の解明を目的として行われた。

まず、グルカールエステルにアルコール類を反応させて不飽和グリコシドを得る Ferrier 反応において、アルコール類の代わりにフェノール類を用いて反応を行い $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ 触媒量と溶媒等の反応条件の検討により効率良く aryl O-glucoside と aryl-C-glucoside の作り分ける方法の開発に成功した。さらに、p-methoxyphenyl O-glucoside の p-methoxyphenyl (MP) 基を silver(II) bis-(hydrogen dipicolinate)[Ag(DPAH)₂] で酸化的に脱保護する方法を見出し、p-methoxyphenyl O-glycoside を有用なキラル素子として用いる方法を確立した。この方法の応用により acetylramnal から天然型 (-) -osmundalactone を、acetylglucal から非天然型 (+) -osmundalactone の合成に成功した。

さらに、ニレと共生関係にあるカビ *Phomopsis oblonga* により生産され、ニレ立ち枯れ病媒介昆虫ニレノキクイムシに摂食阻害作用を示す phomopsolide B を acetylglucal 反応成績体を原料とし、乳酸エステルから導いた側鎖を Horner-Emmons 反応により導入し $\text{Ag}(\text{DPAH})_2$ を用いて MP 基を除き、数工程の反応により非天然型 (-) -phomopsolide B を合成した。さらに、別方法により acetylglucal から導いたキラル素子とエナミンエステルのカップリング反応を用いて天然型 (+) -phomopsolide B を合成した。合成した化合物について数種の昆虫に対する摂食阻害活性を明らかにした。

これらの結果は、糖質を用いる生物活性天然物の有機合成法の発展に貢献すると共に、Ferrier 反応の改良による成績体から高い光学純度の生物活性ジヒドロピラノン類の合成に成功するなど、生物有機化学分野の進歩に寄与するものであり、審査員一同は博士(農学)を授与するに値するものと判定した。