

Synthesis of novel molecular scaffolds and bio-activity evaluation for producing an original agrochemicals from academia

佐藤 和之, 表 雅章, 戸田 千紗子, 亀多 健太, 三木 雄介, 森田 清楓, 川崎 亨

【背景および目的】

現在の農業, 林業, または漁業は多収穫農業技術 (化学肥料や農薬, 化石燃料の大量使用) によって支えられている. また, 地球人口の増加による食糧需要増大が確実視されている現状では, 化学肥料や農薬の大幅減少は困難である. しかし, 環境負荷や資源・エネルギーの両面から, 現状の多収穫農業技術の改善は今後の農学が目指すべき命題でもある. そこで, 化学肥料の投与量を減少させても収穫量が減少しない作物の育成や, 生物農薬への転換など, 生態系と調和した環境保全型の農業技術開発が現在進められている. このような新たな農業技術のうち, 農薬開発についても依然として活発に行われている.

農薬の創製は, 最初の出発点となるリード化合物を見出すことから始まる. その方法は種々存在するが, 天然物や既存の活性物質をリードとして構造修飾する方法が一般的である. 特に, 窒素や酸素, 硫黄などを含む環状炭素化合物 (複素環) を農薬リードの母核とした構造修飾は, 農薬の創製において非常に重要な位置を占めている (図 1).

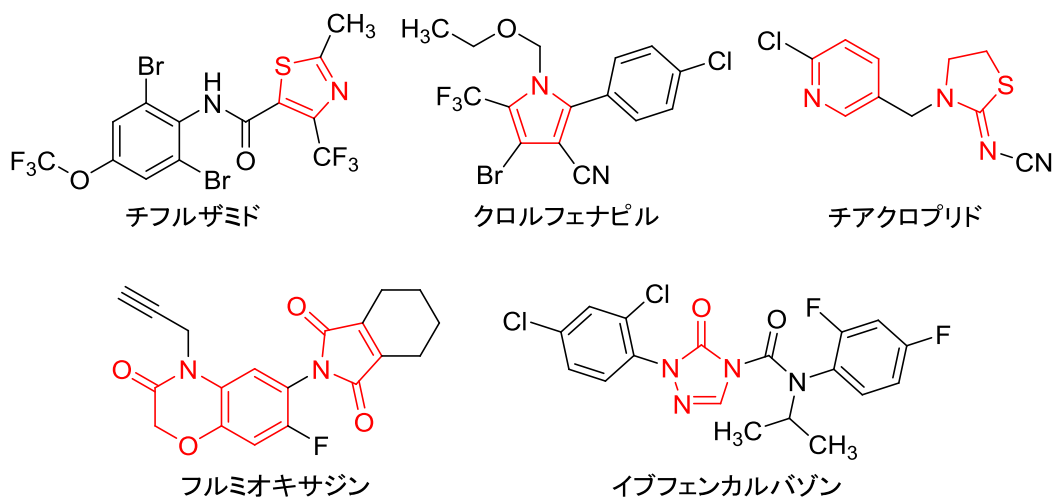


図1. 複素環を母核とする農薬の分子構造

他方、フッ素原子は水素に次いで van der Waals 半径が小さく、分子中の水素をフッ素で置換しても分子の大きさや形状に影響を及ぼさないと考えられている。そのため、通常の炭化水素化合物では得られない特異な効果を期待し、しばしば有機化合物中の水素原子と置き換えられる。

	H	F	Cl	Br	I
電気陰性度 (Pauling)	2.1	4.0	3.0	2.8	2.5
イオン化エネルギー (kJ/mol)	1311	1680	1255	1142	1008
電子親和力 (kJ/mol)	72	333	348	324	295
van der Waals 半径 (nm)	0.120	0.135	0.180	0.195	0.215
共有結合半径 (nm)	0.037	0.064	0.099	0.111	0.128
C-X の結合エネルギー (kJ/mol)	412	440	328	275	240
C-X の結合距離 (nm)	0.110	0.138	0.178	0.194	0.214
C-X の結合モーメント (D)	0.4	1.41	1.46	1.38	1.19
C-X の分極率 α (10^{-24} cc)	0.67	0.68	2.59	3.72	5.77

表 1. 水素とフッ素, および他のハロゲン元素の物理的性質

フッ素と水素, もしくは他のハロゲン元素との諸性質を比較すると, フッ素の電気陰性度は全元素中最大であることが分かる (表1)。¹⁾ また, C-F 結合は C-H 結合よりも結合エネルギーが大きいため非常に安定である。さらに, フッ素の電気陰性度は結合モーメントにも大きく影響を及ぼすため, C-F の結合モーメントは C-H のそれよりはるかに大きくなり, C-F 結合はかなり分極している (静的分極)。一方, 分子は電場中に置かれると電荷分布に変化が生じ (動的分極), その結果, 新たな双極子モーメントが誘起される。ポリフッ素化合物ではフッ素の分極率が低いため, 水素原子をフッ素原子に置き換えた分子は分子量が増加するにも関わらず分子間力が低くなるので沸点が低下する。このようなフッ素の特異な効果により, 有機化合物中にフッ素官能基を導入すると, 化合物の脂溶性の増大, フッ素官能基近傍の反応性の変化や化合物全体の物性の変化など様々な効果が得られることになる。

以上のような背景のもと, 近年開発された農薬に着目してみると, 実に半数近くがフッ素原子を含む化学構造を有している。これは, 「薬効の増強」や「省資源化」といったフッ素が持つ特異な効果に期待したものであり, 企業においても, 農薬開発はそれに立脚した戦略が立てられている。例えばイソキサフルトールやメチオゾリン, ピロキサスルホンに代表される農薬は, 窒素と酸素を含む 5 員環複素環であるイソキサゾールやイソキサゾリン (構造式の破線部分) 骨格を母核として含んでいる (図 2)。またそれとは別に, フッ素

が持つ特異な効果に期待し、化学構造にフッ素原子が導入されている。

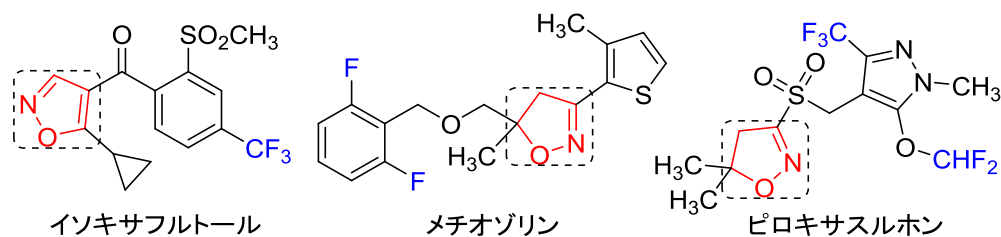


図2. イソキサゾールやイソキサゾリンを母核とし、且つフッ素を含む農薬

本研究は、摂南大学発のオリジナル農薬の創製を目指し、環境調和型農薬の分子骨格を構築することを目的とする。また、合成した化合物の物理的・化学的特性を解明するとともに、動植物に対する生物学的な機能や環境負荷を評価する。

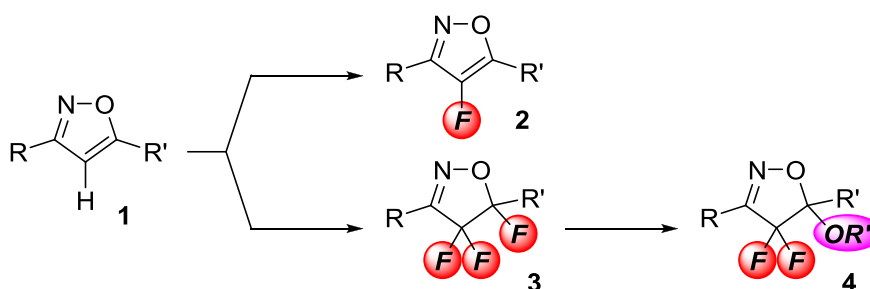
【研究方法と結果】

我々は本研究の目的を達成する手段として、新たな農薬の分子骨格は、先の知見に則った骨格にすることが最も重要であると考えた。また、生物活性試験、および環境負荷試験なども考慮すると、有機合成による化合物の供給体制が肝要となる。そこで我々は、以下(1)~(3)の項目を達成することを目標とし、研究を進めた。

- (1) 分子内にフッ素を含む新たな分子骨格を構築すること
- (2) 本学と契約を締結した農薬企業と連携し、生物活性や環境負荷を評価すること
- (3) 各種活性試験のためのスケールアップ合成を達成すること

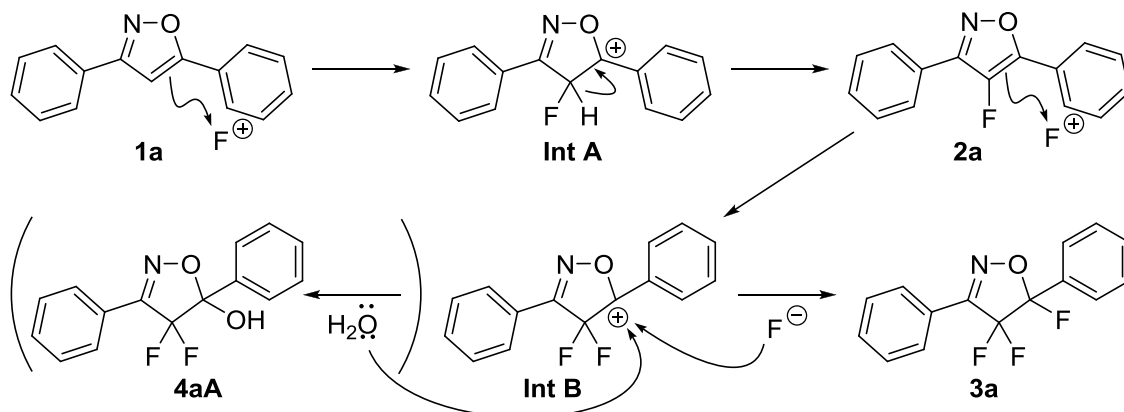
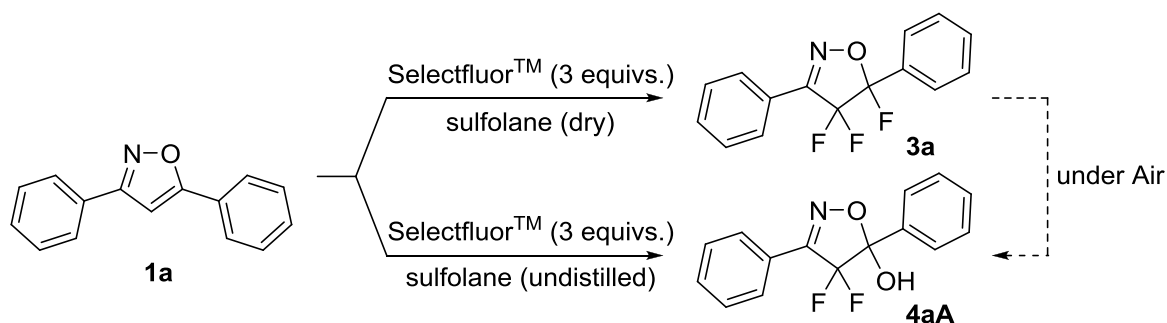
(1) 分子内にフッ素を含む新たな分子骨格の構築

これまで我々は、農薬の基本骨格の一つであるイソキサゾールやイソキサゾリンにフッ素原子を導入した化合物 **2** や **3** の合成に成功している。²⁾ 今回我々は、イソキサゾリン骨格にフッ素原子とアルコキシ基(-OR)を有する化合物 **4** を合成することに成功した(式1)。



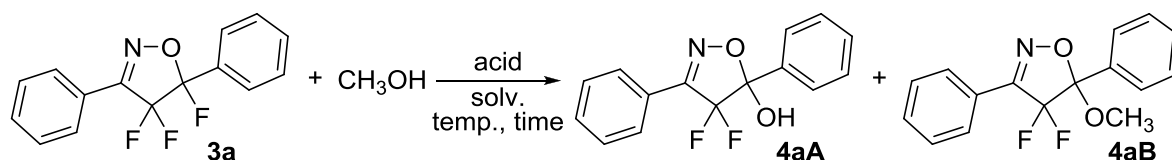
式1. 選択的フッ素化反応を利用した含フッ素イソキサゾールの合成

これまでの結果において、化合物 **1a** から化合物 **3a** を合成する際、使用する反応溶媒を厳密に脱水する必要があった。²⁾ すなわち、溶媒の脱水を行わず同反応を行うと、目的の化合物 **3a** は得られず、代わりに 5 位炭素上にヒドロキシ基 (-OH) が導入された化合物 **4aA** が得られてくることが分かっている (式 2)。これは反応中間体であるカルボカチオン中間体 (Int B) に対し、溶媒中の水が反応するためである (図 3)。また、化合物 **3** は空気中で比較的不安定であり、時間の経過とともに化合物 **4** へと分解することも分かっている。



このような知見から、我々は、化合物 **3** に水もしくはアルコールを反応させれば、5 位のフッ素原子をヒドロキシ基やアルコキシ基に変換でき、これまで報告されていない化合物 **4** が得られると考えた。この推論を基に、各種反応を検討した (表 2)。まずは化合物 **3a** を HCl もしくは NaOH で処理し、加水分解反応が進行するか否かを検討した (entries 1, 2)。残念ながら、本条件では加水分解反応は進行せず、原料回収に留まることが分かった。これは化合物 **3a** が水に不溶であったためと考え、反応系中に共溶媒の添加を試みた。その結果、entry 5 に示す条件において、目的の 5 位ヒドロキシ基化体 **4aA** を最も収率よく得ることに成功した。ここで entry 3 に注目すると、共溶媒としてメタノールを用いた際、目的の化合物 **4aA** 以外に、5 位炭素上にメトキシ基 (-OCH₃) が導入された化合物 **4aB** が 50% の収率で得られることが分かった。そこで、化合物 **3a** とメタノールを Lewis 酸で処理し、

化合物 **4aB** を主生成物として得る反応を検討することとした (entries 7–15). まずは Lewis 酸として $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ を 1 当量用い, 過剰量のメタノールと反応させると, 目的の化合物 **4aB** が定量的に得られることが分かった (entry 7). 一方で, 触媒量の Lewis 酸, もしくは 1 当量のメタノールの使用は **4aB** の収率の低下を招いた (entries 8, 9). 各種 Lewis 酸を検討したところ, Lewis 酸として SnCl_4 を 1 当量用い, 化合物 **3a** を 1.5 当量のメタノールと反応させたときに最も収率よく化合物 **4aB** が得られることが分かった (entry 15).



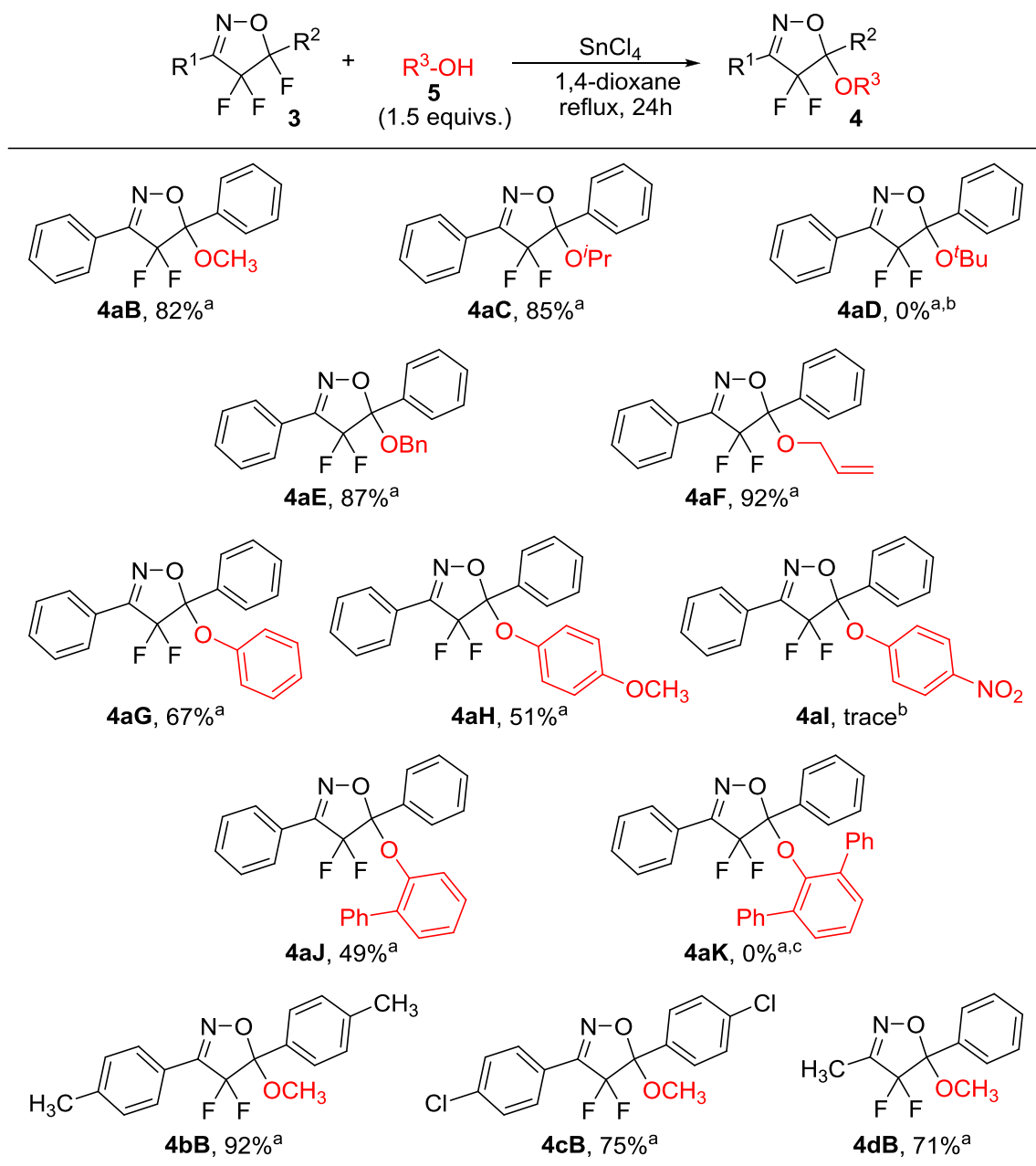
Entry	CH_3OH	Solv.	Acid (equiv.)	Temp. ($^{\circ}\text{C}$)	Time (h)	Yield ^a	
						4aA	4aB
1	—	—	HCl (2 mL)	70	24	nd	nd
2	—	—	NaOH (2 mL)	70	24	nd	nd
3	—	methanol (2 mL)	HCl (1 mL)	reflux	42	32	50
4	—	THF (2 mL)	HCl (1 mL)	70	24	nd	nd
5	—	1,4-dioxane (2 mL)	HCl (1 mL)	reflux	24	78	nd
6	—	sulfolane (2 mL)	HCl (1 mL)	80	29	68	nd
7	1 mL	1,4-dioxane (2 mL)	$\text{Sc}(\text{OTf})_3$ (1)	reflux	24	nd	94
8	1 mL	1,4-dioxane (2 mL)	$\text{Sc}(\text{OTf})_3$ (0.1)	reflux	48	(28) ^b	78
9	1 equiv.	1,4-dioxane (3 mL)	$\text{Sc}(\text{OTf})_3$ (1)	reflux	24	(84) ^b	18
10	1 equiv.	1,4-dioxane (3 mL)	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1)	reflux	24	(26) ^b	62
11	1 equiv.	1,4-dioxane (3 mL)	LiCl (1)	reflux	24	nd	nd
12	1 equiv.	1,4-dioxane (3 mL)	InBr_3 (1)	reflux	24	nd	nd
13	1 equiv.	1,4-dioxane (3 mL)	SnCl_4 (1)	reflux	24	(14) ^b	78
14	1 equiv.	1,4-dioxane (3 mL)	SnCl_2 (1)	reflux	24	(55) ^b	37
15	1.5 equivs.	1,4-dioxane (3 mL)	SnCl_4 (1)	reflux	24	(20) ^b	82

^aIsolated yield. ^bApproximate yield of **4aA** because of unseparable side products.

表2. フッ素-水酸基, もしくはフッ素-ヒドロキシ基変換反応の条件検討

次に, 先の反応条件の検討結果を基に, 化合物 **3** と各種アルコールを用いたフッ素-ヒドロキシ基変換反応を検討した (表3). メタノールやイソプロパノール, ベンジルアルコール, アリルアルコールなどのアルコール類との反応では, フッ素-アルコキシ基変換反応が容易に進行し, 高収率で目的の化合物 **4aB**, **4aC**, **4aE**, または **4aF** が得られた. 一方で, *tert*-ブタノールとの反応では目的の化合物 **4aD** は全く得られず, 代わりに 5-ヒドロキシ体 **4aA** が主生成物として得られた. これはアルコール求核剤の立体的な嵩高さが要因と考えられる. また, フェノールや *p*-メトキシフェノール, 2-フェニルフェノールを用いて反応を検討したところ, 目的の化合物 **4aG**, **4aH**, または **4aJ** が中程度の収率で得られた.

一方、*p*-ニトロフェノールや 2,6-ジフェニルフェノールを用いて反応を検討したところ、目的の化合物 **4aI** もしくは **4aK** は得られなかった。これは即ち、用いるアルコールの酸性度や立体的な嵩高さが反応に大きく影響を及ぼすことを示唆している。次に置換基の異なる化合物 **3b** や **3c**, **3d** を用いてメタノールとの反応を検討したところ、いずれの場合においても目的の化合物 **4bB**, **4cB** もしくは **4dB** が収率よく得られた。



^aIsolated yield. ^bThe main product was 5-hydroxylated product (**4aA**).

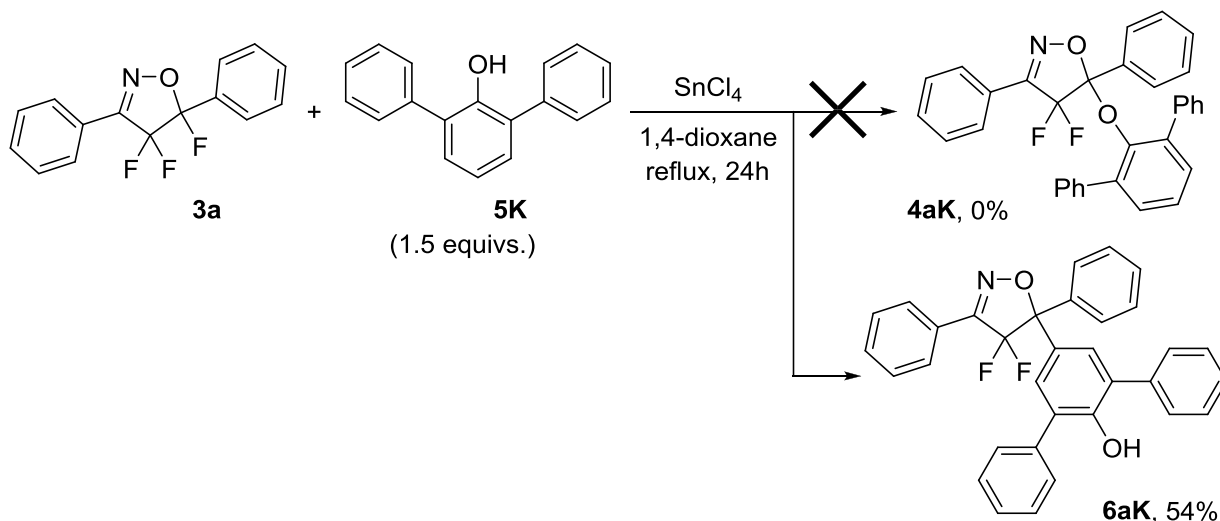
^cThe main product was 5-(*p*-arylated) product (**6aK**).

表3. フッ素-アルコキシ基変換反応を利用した5-アルコキシ-4,4-ジフルオロイソキサゾリンの合成

以上のことから、フッ素-アルコキシ基変換反応では、1級アルコールや2級アルコールからは収率よく化合物 **4** が得られるものの、用いるアルコールの酸性度や立体的な嵩高

さにより，得られる化合物 **4** の収率が大きく変化することが分かった。

ここで化合物 **3a** と 2,6-ジフェニルフェノール (**5K**) との反応に着目してみると，目的の化合物 **4aK** は得られなかったものの，主生成物として 5 位 *p*-アリール化体 (**6aK**) が中程度の収率で得られてきた (式 3)。



式3. 芳香族求電子置換反応による5位*p*-アリール化体(**6aK**)の生成

また興味深いことに，化合物 **6aK** と化合物 **4** の ^{19}F NMR (基準物質としてベンゾトリフルオライドを用いており，それを 0ppm として低磁場側を(+), 高磁場側を(-)としている) は，明らかに異なるスペクトルを示した (図 4)．すなわち 5 位アルコキシ体である化合物 **4** では，一つのフッ素原子は隣接する芳香環と *cis* の関係になり，-35ppm 付近に現れる．そしてもう一方のジアステレオトピックなフッ素原子は，アルコキシ基 (-OR) と *cis* の関係となり -60ppm 付近に現れる．一方化合物 **6aK** では，どちらのフッ素原子も -35ppm 付近に見られることから，二つのフッ素原子はどちらも芳香環と相互作用をしていることが示唆される．以上のことから，嵩高い 2,6-ジフェニルフェノールとの反応では，イソキサゾリン環の 5 位炭素上で芳香族求電子置換反応が進行し，アリール化体 **6aK** が得られと推測される．

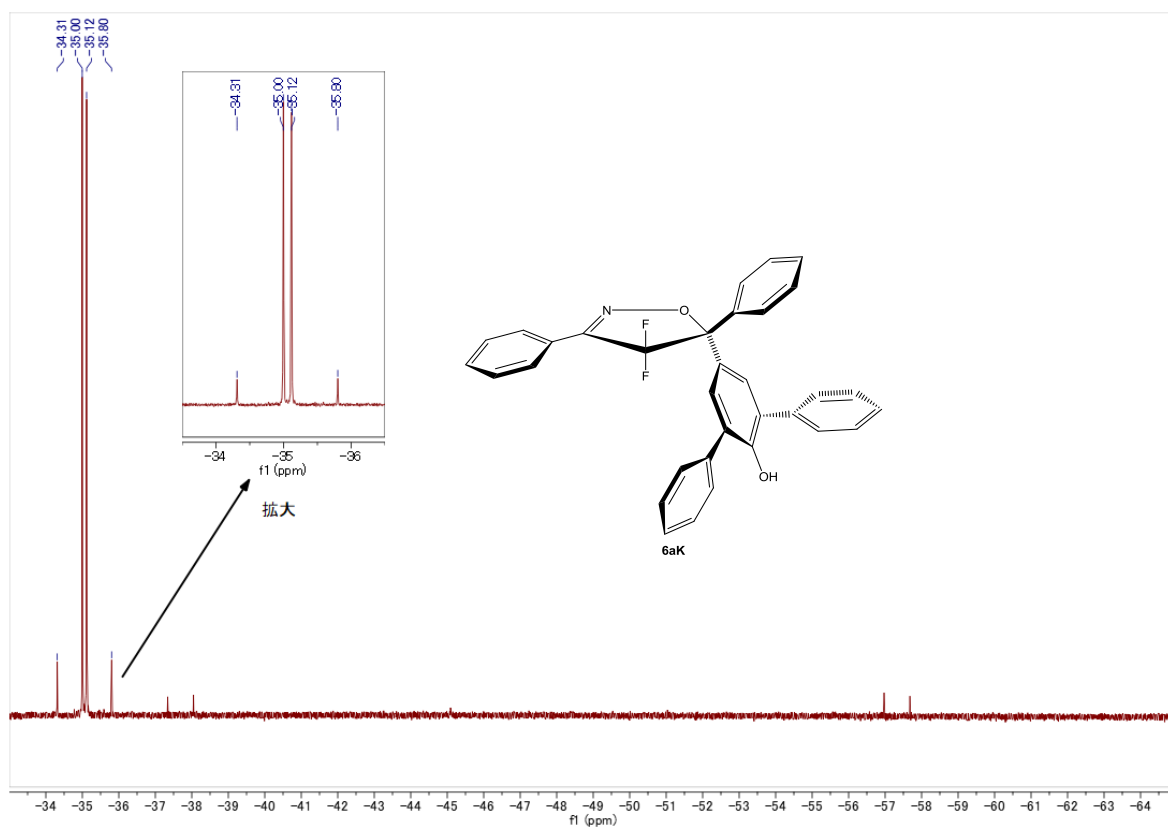
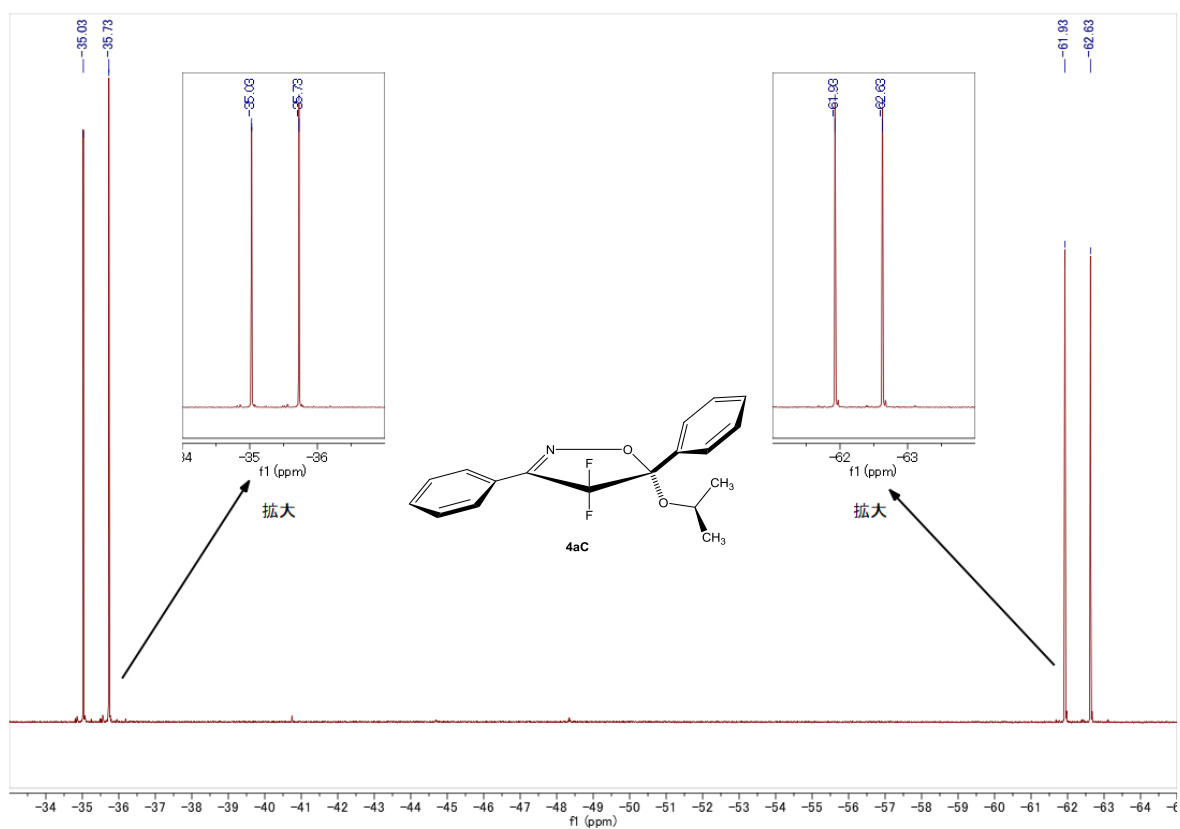


図 4. 化合物 **4aC** と化合物 **6aK** の ^{19}F NMR スペクトル

(2) 農薬企業と連携した生物活性および環境負荷評価

通常、新たな農薬が市販されるまでには約 10 年の期間、開発費として約 100～150 億円を要するとされている（図 6）⁴⁾。そのため、探索研究をスムーズに行う上でサンプル化合物の種類や量は重要なファクターとなる。また開発初期段階で重要となる農薬を企図した化学物質の生物活性試験は、殺虫・殺菌効果や植物成長調整効果、除草効果など、その対象となる試験項目は多岐に渡る。一方で、世界的な環境保全意識の高まりを受け、化学物質の自然環境に与える影響の評価は益々重要となっており、合成した化合物のリスク・ベネフィットを迅速に評価することが求められている。



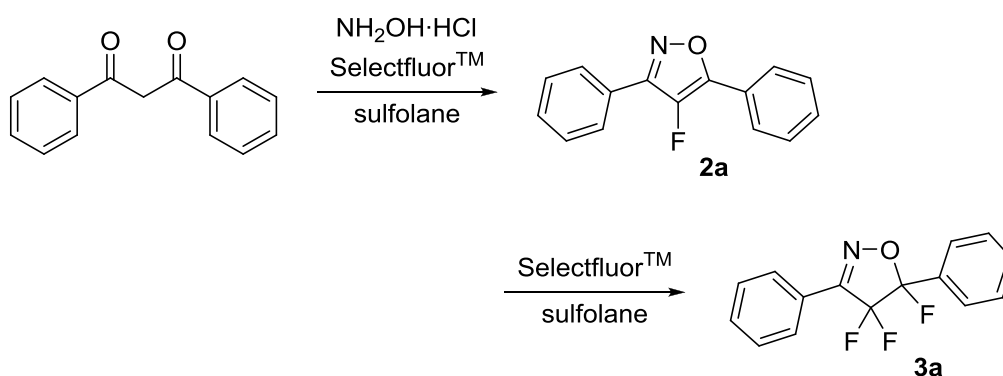
図 6. 新たな農薬が市販されるまでの流れ

そのような背景を踏まえ、昨年度、我々は農薬企業と生物活性試験および環境負荷試験のためのサンプル供与に係る契約を締結した。

これまで我々は分子内にフッ素原子を含むイソキサゾール **2** やイソキサゾリン **3** の合成に成功している。これら幾つかの化合物について、生物活性試験を依頼したところ、活性は強くはないものの、殺ダニ作用もしくは殺菌作用を示す化合物が含まれることが判明した。ただし新たな農薬としての効果を期待できる結果ではなかったことから、さらなる化合物探索が必要であった。先にも述べたように、本年度我々は 5 位炭素上にアルコキシ基を有する含フッ素イソキサゾリン **4** を合成することに成功したため、これらの化合物について現在生物活性試験を依頼している。

(3) 活性試験に備えたスケールアップ合成

農薬開発では、初期段階の探索研究として化合物のデザインやサンプル合成といった「有機化学研究」が主となる。また同時に、害虫や菌を対象とした「生物活性研究」、および化合物の毒性を検証する「安全性研究」などが続いて行われることを述べた。翻って、これまで我々は新たなフッ素化反応を利用した含フッ素化合物 **2**~**4** の合成に成功している。ただし、生物活性試験や安全性試験を行うにあたり、100mg 程度のサンプル量が必要となる。また、今後十分な活性が得られた場合、詳細な検討を行うためには更なるサンプル量が必要となるため、化合物のスケールアップ合成が求められる。以上のことを勘案し、我々は化合物 **3a** のグラムスケール合成に着手した (式 4)。



式4. 含フッ素イソキサゾール**2a**, および含フッ素イソキサゾリン**3a**のグラムスケール合成

1,3-ジフェニル-1,3-プロパンジオン (15 mmol, 3.36 g) とヒドロキシルアミン塩酸塩 (45 mmol, 3.13 g), SelectfluorTM (15 mmol, 5.31 g) を 60 mL のスルホランに懸濁し、それを 150°C で 1 時間加熱した。その溶液は飽和 NaHCO_3 水溶液中に注ぎ反応を停止したところ、白色の結晶が生成した。生成した結晶を吸引ろ取し、エタノールから再結晶したところ、目的の 4-フルオロ-3,5-ジフェニルイソキサゾール **2a** が得られた。それとは別に、粗結晶を除いたろ液は酢酸エチルを用いて抽出分離を行い、さらに飽和 NaCl 水溶液による洗浄を行った。得られた有機層は無水 MgSO_4 で脱水乾燥後、エバポレーターによる濃縮を行った。残渣はシリカゲルクロマトグラフィー (100% ヘキサン → 10% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製することで、目的の化合物 **2a** を合計 50% (1.80 g) の収率で得た。

次いで、得られた 4-フルオロ-3,5-ジフェニルイソキサゾール **2a** (15 mmol, 3.60 g) と SelectfluorTM (30 mmol, 10.6 g) を 60 mL のスルホランに懸濁し、それを 120°C で 1 時間加熱した。その溶液は飽和 NaHCO_3 水溶液中に注ぎ反応を停止し、酢酸エチルを用いた抽出分離、さらに飽和 NaCl 水溶液による洗浄を行った。得られた有機層は無水 MgSO_4 で脱水乾燥後、エバポレーターによる濃縮を行った。残渣はシリカゲルクロマトグラフィー (100%

ヘキサン → 10% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、目的の化合物 **3a** を 46% (1.91 g) の収率で得た。

小スケールでの合成と比較し生成物の収率は若干低下したものの、含フッ素イソキサゾール **2a**、および含フッ素イソキサゾリン **3a** のグラムスケール合成に成功した。この様に本反応は他の基質を用いても進行すると考えられ、多様な化合物 **2** や化合物 **3** の合成に適用できるものと考えられる。また現在、化合物 **4** のグラムスケールでの合成について検討を行っており、これについてもスケールアップ合成が可能と考えている。

【考察と今後の展望】

本研究は、申請者らが開発した複素環への選択的フッ素化反応を基盤とし、分子内にフッ素原子を有する新たな複素環分子骨格を合成すること、および、それらの生物学的な機能や環境負荷を評価し、摂南大学発の農薬創製を目指すことを特色とした研究の初年度である。

通常、新たな農薬が市販されるまでには約 10 年の期間を要するとされており、開発初期段階をスムーズに行う上で、サンプル化合物の種類や量は重要なファクターとなる。本研究は農薬開発の初期段階に焦点を当てた課題であり、特に、我々が開発したフッ素化反応を農薬開発へと発展させる手法には独創性が認められる。また、今回合成した新たな含フッ素化合物 **2~4** には新規性が認められ、さらに、フッ素原子の「特異な効果」による新たな生物活性にも期待できる。農薬企業との連携により、合成した化合物の活性評価を行えるようになったことで、今後、新たな骨格構造を有する摂南大学発のオリジナル化学農薬の創製が望める。

このように、本研究は高い新規性やオリジナル性を有しているだけでなく、「農学」と「農業」を直接結び付ける研究の創出にもなり得る研究であり、本学農学部の新設を見据えると大きなアピール材料にもなる。今後は、本研究をさらに発展させられるよう多くの研究者と協働していきたいと考えている。それにより、本学が地域社会に貢献できる連携事業に発展することを望む。

【参考文献】

- 1) 日本学術振興会、フッ素化学第 155 委員会 編集、“フッ素化学入門 –基礎と実験法–”，日刊工業新聞社，1997.
- 2) K. Sato, *et al.*, *Tetrahedron*, **2016**, 72 (13), 1690-1698.
- 3) K. Sato, *et al.*, *Org. Biomol. Chem.*, **2019**, in press.
- 4) 農薬工業会，“農薬工業会ホームページ>教えて！農薬 Q&A>農薬はどうして効くの？”，http://www.jcpa.or.jp/qa/a4_16.html.