

大学発のオリジナル農薬創製を企図した新たな農薬分子骨格の構築と活性評価 (2)

佐藤和之、表 雅章、河合健太郎、樽井 敦、軽尾友紀子、川崎 亨、
石田有美恵、坂本寛太、田中佑奈、中野一輝、森本奨悟

Synthesis of novel molecular scaffolds and bio-activity evaluation for producing
original agrochemicals from academia: part 2

Kazuyuki SATO, Masaaki OMOTE, Kentaro KAWAI, Atsushi TARUI, Yukiko KARUO, Akira KAWASAKI,
Yumie ISHIDA, Kanta SAKAMOTO, Yuna TANAKA, Kazuki NAKANO, Shogo MORIMOTO

【要旨】

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した継続2年目の申請課題である。昨年度我々は、農薬分子骨格の一つとして、含フッ素イソキサゾールおよび含フッ素イソキサゾリンの合成に成功し、生物活性の測定依頼を行った。今回、得られた活性試験の結果の評価と新たな農薬分子骨格となり得る含フッ素複素環化合物の合成に取り組んだ。

農学部新設を見据えた本学において、新たな農薬分子骨格の合成を達成すること、および合成した化合物の生物学的な機能や環境負荷を評価することは絶好のアピール材料になり得る。また、今後の発展によりオリジナル農薬の創製に結実すれば、本学のブランド化および地域連携事業などにも貢献できるものである。

1 背景と課題

国連食糧農業機関 (FAO) によると、「2050年には世界の人口は現在の74億人から96億人に約3割増加する。さらに経済発展で一人あたりのGDPが増加し、都市化も進展することから、穀物をエサとして生産される肉や乳製品など畜産物への需要が高まる。これは穀物の需要を大きく増加させるため、総じてみると、世界の食料生産を60%程度増加しなければならない」とされている。すなわち、FAOは「現状のまま対策を行わなければ、近い将来に人類は食糧危機に陥る」と提言している。一方で、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が、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考えると、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．その方法は色々であるが，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）．

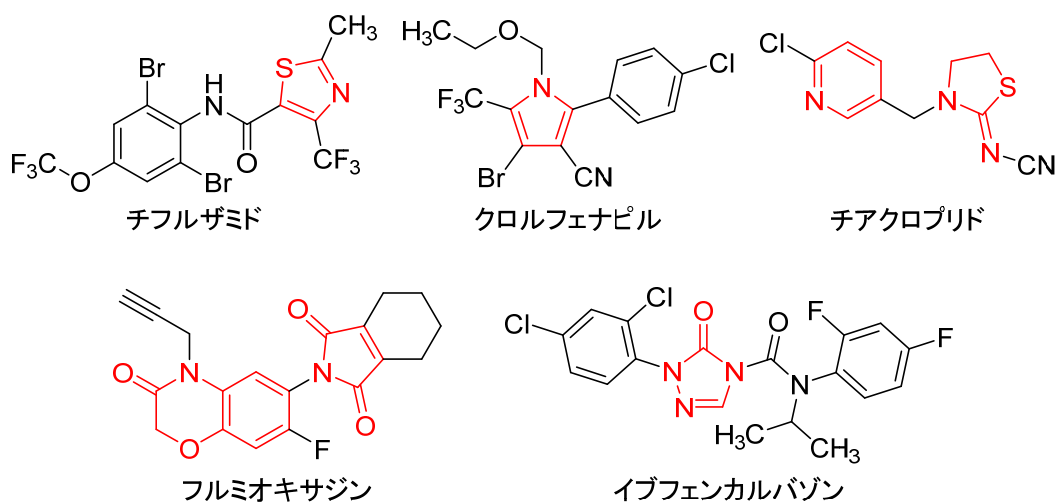


図1. 複素環を母核とする農薬の分子構造

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。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骨格を母核とし，それとは別に，化学構造にフッ素原子が導入されている（図 2）。また，フィプロニルやビキサフェンは二つの窒素を含む 5 員環複素環であるピラゾール骨格を母核とし，且つフッ素原子を含んでいる。これは，複素環骨格を母核とする農薬にフッ素原子を導入することで，フッ素が持つ特異な効果を農薬に付与することに期待したものであり，このことから企業における農薬開発でもそのコンセプトに立脚した戦略が立てられていることが分かる。

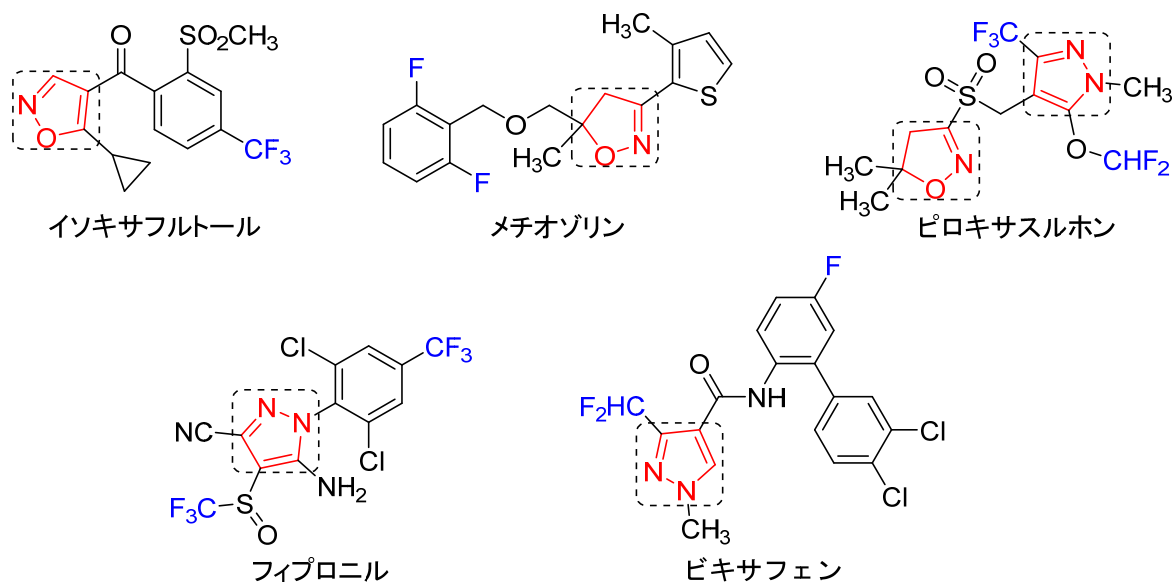


図2. 5員環複素環を母核とし，且つフッ素を含む農薬

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。そこで我々は、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。

昨年度、我々は「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」および「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」に焦点を当て研究を進めた。本研究の継続2年目となる今年度は、昨年度の結果を基に、以下の二項目を達成することを目標とし、研究を進めた。

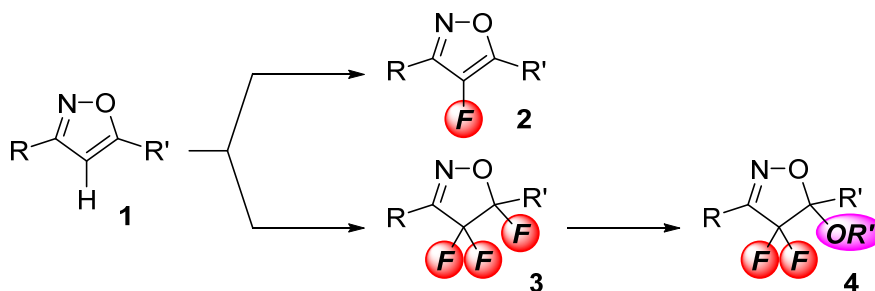
- これまで合成されていない新たな分子骨格の構築とスケールアップ合成
- 農薬企業と連携した生物活性や環境負荷を評価

2 方法と結果

2.1 これまで合成されていない新たな分子骨格の構築とスケールアップ合成

(1) 含フッ素ピラゾールの合成

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** の合成を達成している。²⁾ また昨年度、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** の合成にも成功した(式1)。³⁾



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

一方で、イソキサゾール同様、対応する 1,3-ジケトン (**5**) を出発原料とすることで、各種複素環 (**6**, **8**, **9**) が簡便に合成できることが知られている (図3)。今年度は新たな化合物の活性評価を見据え、昨年度までの結果を基盤とし、化合物 **5** から簡便に誘導できる新たな含フッ素複素環骨格を合成することとした。まず我々は、その候補化合物として含フッ素ピラゾール (**7**) に着目した。先に述べたように、ピラゾール骨格はピロキサスルホンやフィプロニル、ビキサフェンなどの農薬に含まれる代表的な複素環である。また、ピラゾールのフッ素化により 4-フルオロ-1*H*-ピラゾール (**7**) が合成でき

れば、4-フルオロイソキサゾール (2) との骨格類似性から、これまでに合成した化合物との活性比較も可能と考えた。

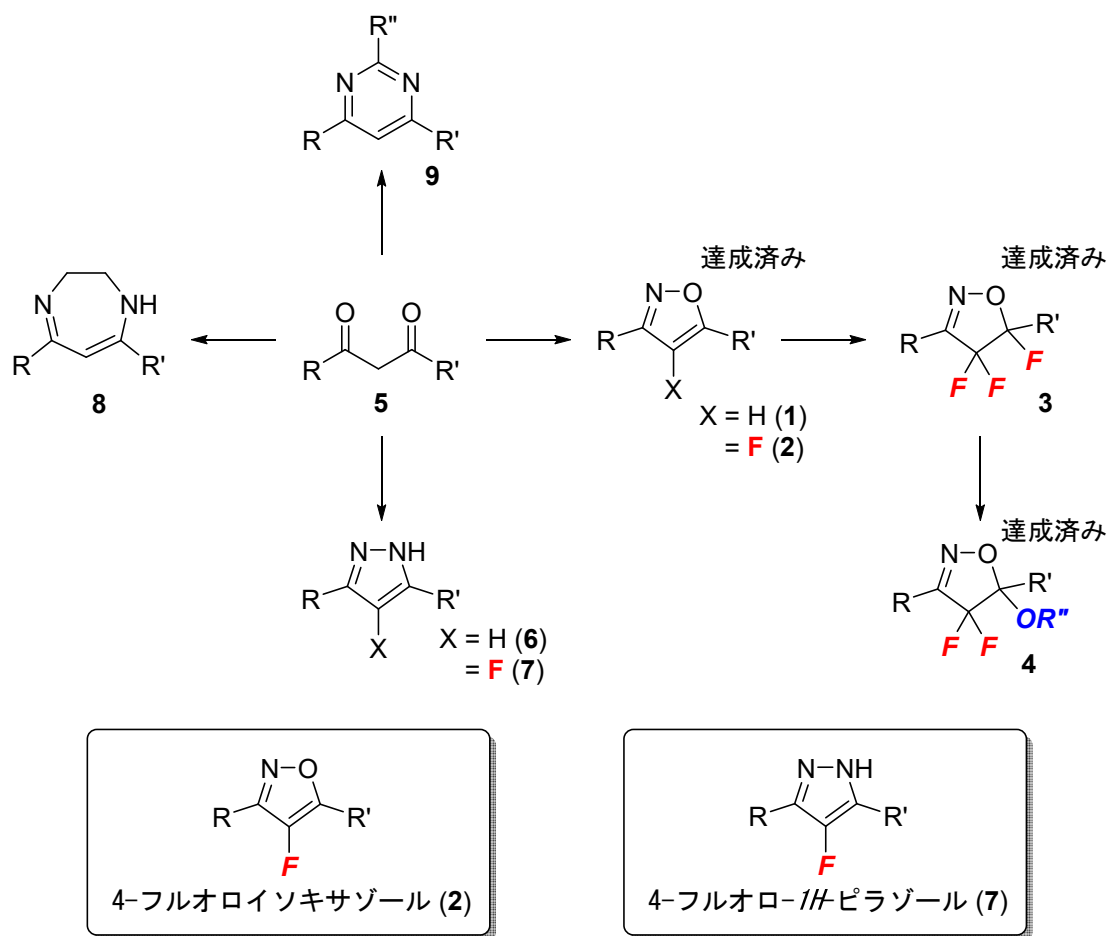
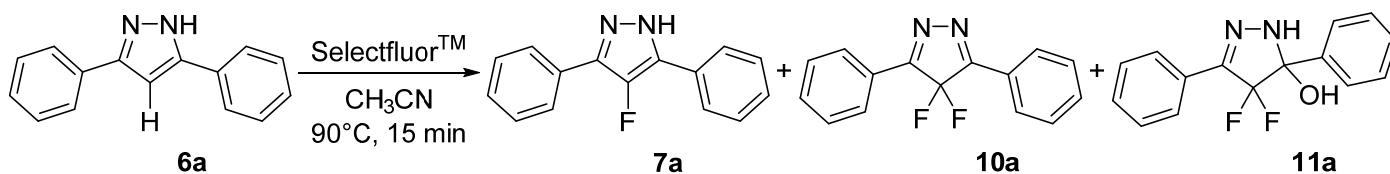
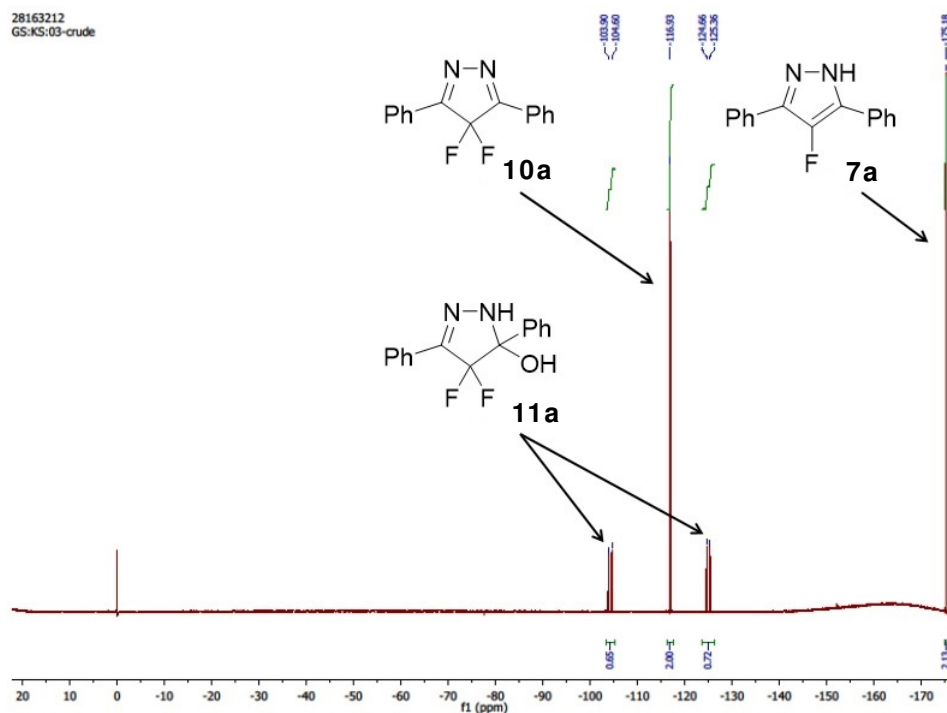


図3. 1,3-ジケトン(5)から誘導し得る様々な複素環骨格, および化合物2と化合物7の構造類似性

まず基質として、3,5-ジフェニル-1*H*-ピラゾール (6a) を用いたフッ素化反応を試みたところ、反応は予想通り進行し、¹⁹F NMR 上で目的の 4-フルオロ-3,5-ジフェニル-1*H*-ピラゾール (7a) の生成が確認された。ただしこの際、化合物 7a とともに、これまで報告例のなかった 4,4-ジフルオロ-3,5-ジフェニル-4*H*-ピラゾール (10a) および 4,4-ジフルオロ-3,5-ジフェニル-4,5-ジヒドロ-1*H*-ピラゾール-5-オール (11a) も併せて確認された (式 2, 図 4)。⁴⁾

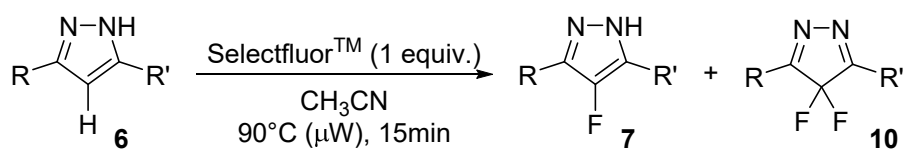


式2. ピラゾール(6a)のフッ素化反応

図 4. 化合物 **6a** のフッ素化反応における ^{19}F NMR

そこで、反応条件を最適化した後、様々なピラゾールのフッ素化反応を試みた(表 2)。Entry 1 に示すように、無置換ベンゼン環を有する基質 **6a** では、目的のモノフルオロ化体 **7a** が 45%、副生成物としてジフルオロ化体 **10a** が 21%の収率で得られた。芳香環上に電子供与性の置換基であるメトキシ基 ($-\text{OCH}_3$) を有する基質 **6b** では、生成物に大きな収率変化は見られず、それぞれ 45%と 27%の収率で化合物 **7b** および化合物 **10b** が得られた (entry 2)。また entry 3 および entry 4 に示すように、芳香環上に電子求引性の置換基である塩素 ($-\text{Cl}$) やトリフルオロメチル基 ($-\text{CF}_3$) を含む基質 (**6c**, **6d**) では、フッ素化生成物全体の総収率は若干低下する傾向が見られた。なお、このとき得られたモノフルオロ化体 **7c**, **7d** は、出発原料の **6c** もしくは **6d** との分離精製が困難であったため、それらの収率は ^{19}F NMR により求めた。一方、置換基としてピラゾール環に直接メチル基 ($-\text{CH}_3$) や *tert*-ブチル基 ($-\text{tBu}$) を有する基質 **6e** や **6g** では、ジフルオロ化体 (**10e**, **10g**) は全く得られず、モノフルオロ化体 (**7e**, **7g**) のみを得られた (entries 5, 7)。しかし、ピラゾール環に直接トリフルオロメチル基 ($-\text{CF}_3$) を有する基質 **6f** では、フッ素化生成物を与えなかった (entry 6)。

以上のことから、本フッ素化反応にはピラゾール環の電子密度が大きく影響するものと考えられ、より電子密度の高い基質ではフッ素化反応が進行するものの、電子密度が低くなるとフッ素化生成物を与えないということが分かった。

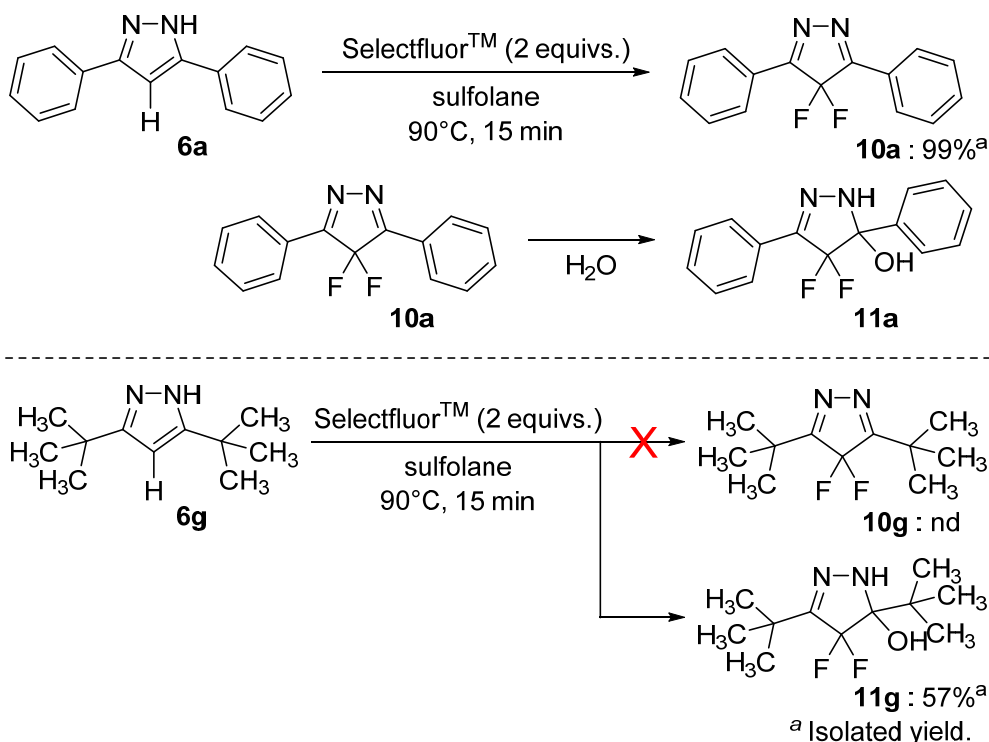


entry	R	R'	7	10
1	Ph	Ph	 7a, 45% ^a	 10a, 21% ^a
2	4-MeO-Ph	4-MeO-Ph	 7b, 45% ^a	 10b, 27% ^a
3	4-Cl-Ph	4-Cl-Ph	 7c, 31% ^b	 10c, 22% ^a
4	4-CF ₃ -Ph	4-CF ₃ -Ph	 7d, 36% ^b	 10d, 51% ^a
5	CH ₃	Ph	 7e, 33% ^a	 10e, nd
6	CF ₃	Ph	 7f, nd	 10f, nd
7	<i>t</i> Bu	<i>t</i> Bu	 7g, 91% ^a	 10g, nd

^a Isolated yield. ^b ¹⁹F NMR yield.

表2. 様々なピラゾールのフッ素化反応

次に、基質 **6a** に対し、2 当量の Selectfluor™ を用いてジフルオロ化反応を試みたところ、ジフルオロ化体 **10a** がほぼ定量的に得られた (式 3)。本反応についてはスケールアップ合成も可能であり、一回の反応により約 1g の生成物を合成することが可能である。ただし、化合物 **10a** は空気中では安定に保存できるが、水で処理すると容易にヒドロキシ化体 **11a** へと変換する。これはジフルオロ化体の安定性に起因していると考えられる。事実、置換基からの共鳴安定化を受けない基質 **6g** のジフルオロ化反応では、ジフルオロ化体 **10g** はほとんど得られず、主としてヒドロキシ化体 **11g** を与えた。

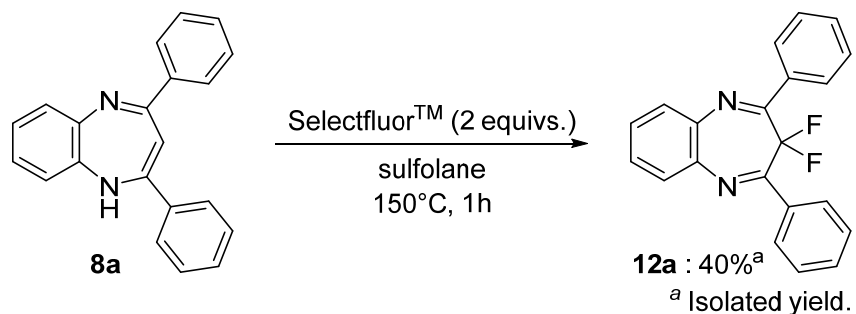


式3. 化合物**6**のジフルオロ化反応とジフルオロ化体**10**の水付加

以上の結果、ピラゾールのフッ素化反応では、モノフルオロ化体およびジフルオロ化体が混合物として得られることが分かった。また、置換基として脂肪族のアルキル基を有する場合は、ジフルオロ化体は得られず、モノフルオロ化体もしくはヒドロキシ化体のみが得られることが分かった。

(2) 含フッ素 1,4-ジアゼピンの合成

次に我々は、ピラゾールとは別の複素環骨格である 1,4-ジアゼピン (8) のフッ素化反応を試みた。すなわち、2,4-ジフェニル-3*H*-ベンゾ[*b*][1,4]ジアゼピン (8a) を 2 当量の Selectfluor™ で処理したところ、40%の収率でジフルオロ化体 12a を得ることに成功した (式 4)。本反応においては、反応条件や基質について検討を行っていないため、次年度以降に詳細な検討を執り行う予定である。



以上の結果、今年度我々は農薬の新たな分子骨格として、4-フルオロ-1*H*-ピラゾール (7)、4,4-ジフルオロ-4*H*-ピラゾール (10)、および 6,6-ジフルオロ-6*H*-1,4-ジアゼピン (12) を合成することに成功した (図 5)。現在、これらサンプルについての生物活性試験を依頼しているところである。

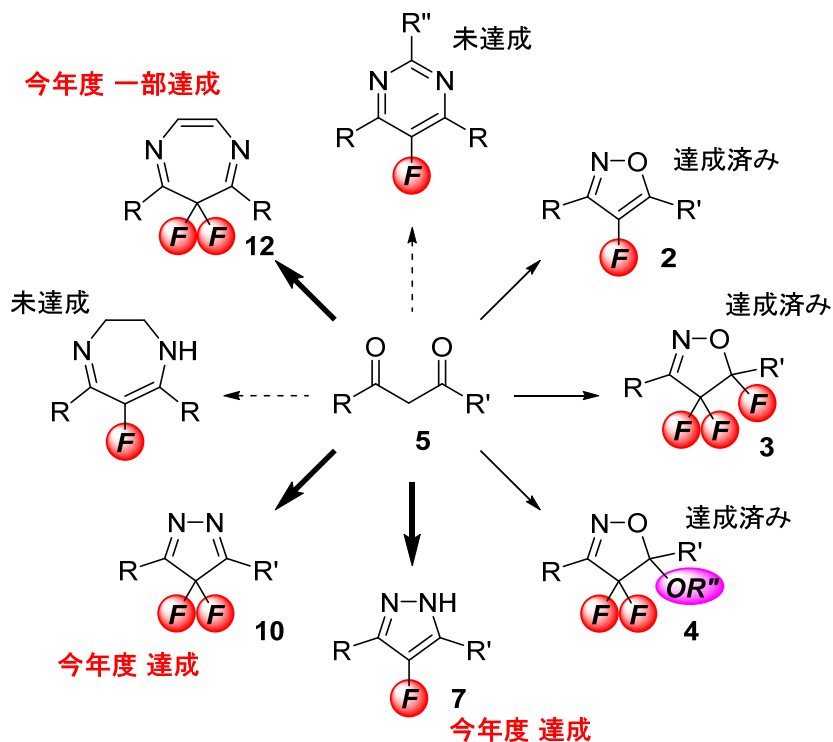


図5. 化合物5から合成可能な含フッ素複素環骨格とこれまでの合成状況

2.2 農薬企業と連携した生物活性および環境負荷評価

さてここで、農薬の研究開発に目を向けると、日本で登録された新規農薬の半数近くは日本の農薬メーカーが生み出している。例えば、2012年6月時点の調査において、日本で農薬登録された383剤のうち159剤（41.5%）は日本の農薬企業が開発したものである。また、海外で販売されている農薬についても、日本発の製品が多数見受けられる。これは、「日本は高温多湿な気候であり、病虫害や雑草が発生しやすい」こと、および「多様な農業を営む農耕文化と高い化学技術力を持つ」ことが日本の農薬企業を強くした要因と言われている。

農薬の開発プロセスは、医薬品の開発プロセスと類似している。雑草や菌、害虫などターゲットに応じて化合物のスクリーニングを行い、一定数の化合物に絞り込んだ後に合成を行う。すなわち、シーズ探索をスムーズに行う上で、供試サンプルの種類や量は農薬開発における重要なファクターとなる。それと並行して、合成された化合物の毒性や環境に与える影響への評価がなされる。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いることから、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も求められる。このような段階を踏み、候補となった化合物は、得られた試験データをもとに各国当局に申請を行い、厳密な審査を経て、ようやく農薬として登録される。そのため、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る（図6）。⁵⁾

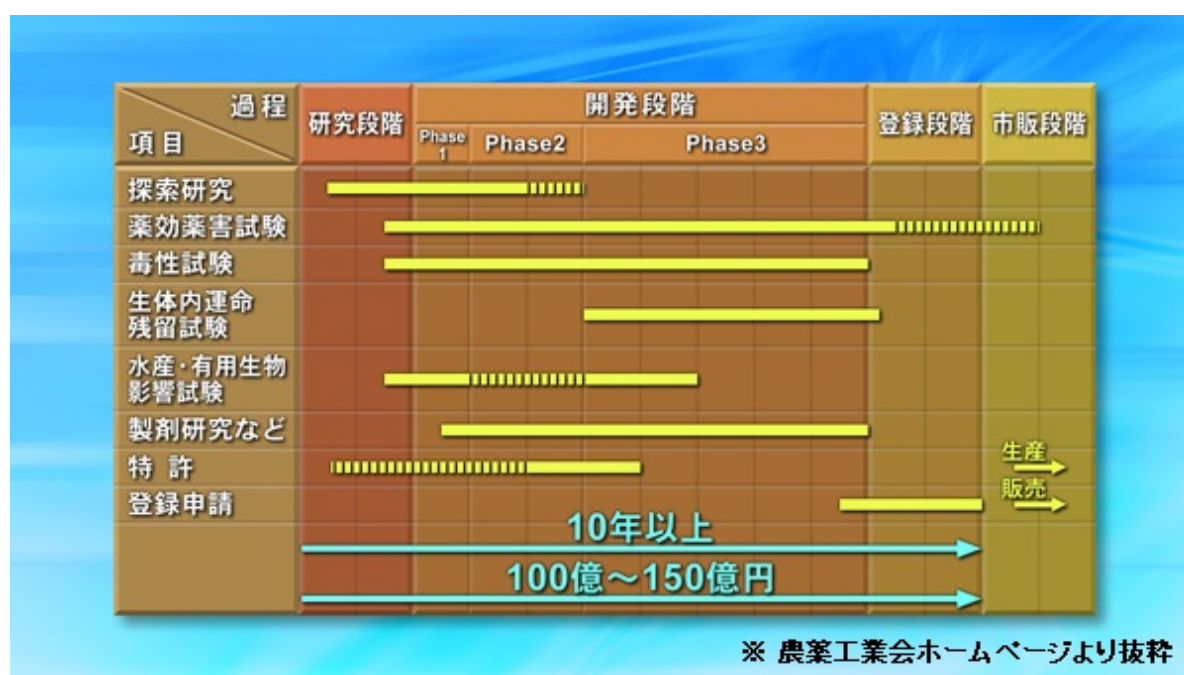


図 6. 新たな農薬が市販されるまでの流れ

以上のような背景から，農薬開発を効率化するために，企業や大学などが広く協働することが求められている．そのような中，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ている．

先に述べたように，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**，および 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** の合成に成功している（図 6）．我々は，昨年度，これらホモログ化合物について生物活性試験を依頼していた．相手企業との契約上，活性試験における評価内容は本論文で公開できないが，その一部について可能な範囲で紹介する．

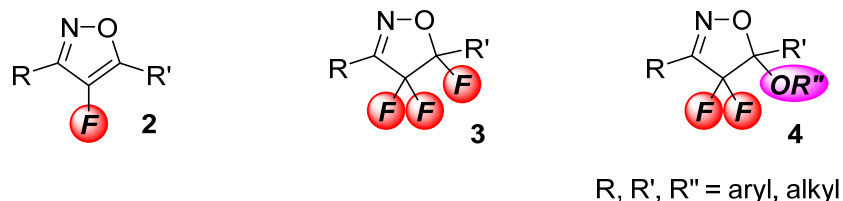


図6. これまでに合成した含フッ素イソキサゾール，および含フッ素イソキサゾリン

上記の含フッ素イソキサゾール類、イソキサゾリン類（**2**～**4**）由来の約 20 サンプルを生物活性試験に供試したところ，幾つかの化合物について，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，活性が認められた供試化合物において，現有の類似農薬（フルララネルやアフォキサネルなど）と比較すると，低濃度では十分な活性を示さなかったことから，提携農薬企業より構造変換後，新たに供試して頂きたい旨の依頼を受けた．

現在，依頼を受けたサンプルの合成に取り組んでいるとともに，本年度合成に成功した含フッ素複素環類（**7**，**10**，**12**）由来の個々の化合物についても生物活性試験を依頼している．

3 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継続2年目の研究である。

今年度我々は、新たな含フッ素複素環類として含フッ素ピラゾール (7, 10), および含フッ素ジアゼピン (12) の合成に成功した。これら含フッ素複素環類 7, 10, 12 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。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、供試化合物の種類や量は重要なファクターとなる。そのため、新たな化合物群の合成は今後の活性評価に大きく貢献するものと考えられる。

一方、昨今の健康・環境意識の高まりにより、化学肥料や農薬を用いないオーガニック食品や低農薬食品が注目を集めている。しかし、安定的な食糧供給を考えると農薬の使用は否めないのが現実である。そのため生態系と調和した環境保全型の農業技術開発が進められているが、我々は「低用量で高い効果が得られる農薬」の開発がその一助になると考えた。今年度我々は、昨年度合成した含フッ素イソキサゾール類およびイソキサゾリン類 (2~4) において、活性は弱いものの既存の農薬と類似した生物活性を有するという結果を得た。今後さらなる構造変換により、既存農薬と同等、もしくはその効果を超え得る「摂南大学発のオリジナル化学農薬の創製」が望めるものと確信している。

このように、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、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、本学が地域社会に貢献できる連携事業に発展させたいと考えている。

引用・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**, 17 (10), 2818–2823.
- [4] J. R. Breen, *et al.*, *Synlett*, **2015**, 26, 51–54.
- [5] 農薬工業会, “農薬工業会ホームページ > 教えて! 農薬 Q&A > 農薬はどのようにして効くの?”, http://www.jcpa.or.jp/qa/a4_16.html.