

非ステロイド型脱皮ホルモンアゴニストの合成と定量的構造活性相関

横井 大洋

緒言

昆虫は脱皮を繰り返して成長する。この過程を制御しているのは脱皮ホルモンと呼ばれるステロイドホルモンであり、20-hydroxyecdysone (20E) がその実体である。20E は核内受容体である脱皮ホルモン受容体 (ecdysone receptor, EcR) に結合し、脱皮関連遺伝子の転写を活性化することで脱皮を引き起こす。このような脱皮の調節機構は脊椎動物には存在しないため、脱皮ホルモン作用を攪乱する薬剤は安全性の高い殺虫剤として利用できると期待されてきた。実際に、1980年代後半に発見された diacylhydrazine (DAH) 類は脱皮ホルモン様活性を発揮することにより優れた殺虫活性を示し、これまでに 5 つの類縁体が農業用殺虫剤として実用されている。しかし、DAH 系殺虫剤はチョウ目昆虫に選択的に作用するもので、他の昆虫目に有効な脱皮ホルモンアゴニストは実用化に至っていない。したがって DAH 類とは異なる選択性を持つ新たな薬剤が待望されている。

本論文では、imidazothiadiazole (ITD) 類と tetrahydroquinoline (THQ) 類という 2 種の非ステロイド型脱皮ホルモンアゴニストについて、定量的構造活性相関 (quantitative structure-activity relationship, QSAR) の手法を駆使により活性発現にとって必要な化合物の物理化学的性質を明らかにし、高活性化化合物を創出することを目的とした。

1. ITD 類の合成

ITD 類は *in vitro* の評価系において高い脱皮ホルモン様活性を示すと報告されている化合物であるが、その構造活性相関や昆虫種間選択性についてはほとんど報告がなされていない。そこでこれらの解明を目指し、まずは ITD 類の合成を行った。

5-置換-1,3,4-thiadiazole 類を原料とし、これを 2-chlorophenacyl bromide と縮合させることにより、ITD 骨格を構築した。次に Vilsmeier-Haack 反応により formyl 基を導入し、Knoevenagel 縮合によりアクリル酸構造を構築した。最後にアミン類との縮合を行うことで ITD 類を合成した。この他にも、アクリルアミド構造を変換した化合物なども含め、合計 28 種の ITD 類縁体を合成した。

2. ITD 類の構造活性相関

合成した ITD 類の受容体結合親和性 [pIC_{50} (M)] を、昆虫培養細胞を用いたリガンド結合試験により評価した。ITD 類はチョウ目ヨトウガの EcR に対して高い結合親和性を示した一方で、ハエ目ヒトスジシマカの EcR に対しては中程度、コウチュウ目コロラドハムシの EcR には非常に弱い結合親和性を示すにとどまった。次に活性発現にとって必須の化学構造上の因子を同定するため、ヘテロ環上の置換基を変換した化合物の受容体結合親和性

に関して QSAR 解析を行ったところ、疎水性と誘起的な電子求引性の高い置換基が活性を向上させる一方、結合軸方向に長い置換基は活性を低下させることが明らかになった。

ここで明らかとなった条件を満たすフルオロアルキル基を持つ類縁体は nM オーダーという高い結合親和性を示した。

またハスモンヨトウに対する殺虫活性を調べたところ、置換基 X としてフルオロアルキル基を持つ類縁体が顕著な殺虫活性を示したものの、その他の化合物は全く殺虫活性を示さなかった。これは薬剤投与後の昆虫体内での代謝解毒作用に起因する可能性があると考えられた。

3. THQ 類の不斉合成

THQ 類はハエ目昆虫、中でも蚊に対して選択的な脱皮ホルモン様活性が報告されている化合物である。これまでの当研究室での先行研究から、THQ 類の 4 つの立体異性体のうち (2*R*,4*S*) 体が特に高い生物活性を示すことが明らかにされている。したがって (2*R*,4*S*) 体の構造展開を行うことで、THQ 類の詳細な構造と活性の関係を明らかにするとともに、活性を向上させることができるものと期待された。しかし、これまでに報告されている合成経路では、(1) キラル HPLC による光学分割が必要、(2) 導入できる置換基に制限がある、といった問題点があり、構造展開を行うのは困難であった。そこで、(2*R*,4*S*) の立体配置を持つ THQ 類の簡便な合成経路の確立を目指した。

ここではまず旋光度等の分析データが既知の THQ 類縁体を合成標的とした。Octahydro-BINOL 由来のキラルリン酸触媒を用いた不斉 Povarov 反応により、2-methyl-4-amino-1,2,3,4-tetrahydroquinoline 骨格を持つ化合物を収率 81% で得た。キラル HPLC による純度検定の結果、ee は 89% となったが、再結晶を行うことで ee を 98% まで向上させることができた。次にベンゾイル化を行い、保護基を除去した後、アリアルボロン酸との Chan-Evans-Lam クロスカップリングを行って目的化合物を得た。再結晶により精製すると光学的に純粋な化合物 (>99% ee) が得られた。本化合物の各種スペクトルデータおよび比旋光度の符号は先行研究において光学分割により得たものと一致したことから、目的とする (2*R*,4*S*) 体が得られていることを確認した。本合成経路を利用し、アニリノ部およびベンゾイル部に種々の置換基を導入した THQ 類縁体 (>98-99% ee) を合計 41 種合成した。

4. THQ 類の構造活性相関

合成した THQ 類の受容体結合親和性を、ヒトスジシマカ由来培養細胞を用いたリガンド結合試験により評価した。まずベンゾイル部の置換基を 4-Cl に固定し、アニリノ部の置換基を変換した化合物について QSAR 解析を行ったところ、メタおよびパラ位への置換基導入は立体的に不利であり、特にメタ位では親水性置換基が活性を低下させることが明らかとなった。実際、無置換体が最も高い結合親和性を示した ($pIC_{50} = 7.20$)。

この知見をもとに、アニリノ部を無置換とし、ベンゾイル部の置換基を種々変換して

QSAR 解析を行ったところ、電子求引基が活性を向上させること、またパラ位置換基には最適な長さが存在することが明らかとなった。この過程で、ヒトスジシマカ EcR に対して高い結合親和性を有する THQ 類縁体 ($pIC_{50} = 8.04$) を得た。この活性値は脱皮ホルモンである 20E の約 2 倍、チョウ目に対する殺虫剤として実用化されている *tebufenozide* の約 8 倍であった。

総括

1. ヘテロ環上の置換基、アミド窒素上の置換基、およびアクリルアミド構造を変換した合計 28 種の ITD 類縁体を合成した。
2. ITD 類はチョウ目昆虫の EcR に対して選択的活性を示すことを明らかにした。QSAR 解析の結果、ヘテロ環上の置換基としては疎水性と誘起的電子吸引力の高い置換基が好ましいが、結合軸方向に長い置換基は活性を低下させることを明らかにした。ITD 類の受容体結合親和性と殺虫活性の間には相関関係が見られなかった。
3. 活性エナンチオマーである (2*R*,4*S*) 体の THQ 類を 4 工程で立体選択的に合成する方法論を確立した。この合成法を利用し、光学的にほぼ純粋な (>98–99% ee) THQ 類縁体を合計 41 種合成した。
4. アニリノ部分に置換基を導入した THQ 類について QSAR 解析を行ったところ、メタおよびパラ位への置換基導入は立体的に不利であり、特にメタ位では親水性の置換基が活性を低下させることが明らかとなった。ベンゾイル部を変換した THQ 類に関して QSAR 解析を行ったところ、電子求引基が活性にとって好ましいこと、パラ位置換基には最適な長さが存在することを明らかにした。