

MW を用いる不活性ニトリルから 5-アルキル-1*H*-テトラゾールの効率合成と RNA 機能性分子への応用

大阪薬大 ○米山弘樹、宇佐美吉英、春沢信哉

テトラゾールは、カルボン酸等価体として医薬品開発において広く用いられている。しかし、通常用いられるニトリルからのテトラゾール合成法には問題点があり、一般的な NaN_3 -アミン塩酸塩の加熱では長時間を要する。特に、電子吸引性基を持たない不活性ニトリルから対応するテトラゾールへの変換は、低収率である。

我々は、シクロヘキシルテトラゾール **2** の合成を検討し、マイクロウェーブ (MW) を用いる 5-置換テトラゾールの効率的合成法を開発した (Table 1)。

ニトロベンゼンを用いた場合 (Table 1, entry 1) や含水溶媒 (entry 2) では、ほとんど生成物を得ることが出来なかったが、溶媒に DMF を用いて、130 度、2 時間 MW 照射を行うと、高収率で **2** が得られることが判明した (entry 5)。本法は、他のニトリルに対しても一般性を持ち、従来、長時間・低収率だったテトラゾール合成も短時間・高収率で得ることに成功した。¹⁾

このテトラゾール合成法を、RNA 機能分子となるリボフラノシルホスホロアミダイト **5** の合成に応用した。

酵素に匹敵する触媒作用を持つリボザイムの反応機構は、現在ほとんど解明されていない。我々は、これまでに、イミダゾールの酸-塩基触媒作用に着目し、イミダゾールリボヌクレオシドホスホロアミダイト **3, 4** を合成し、それらを用いてリボザイムの中心塩基をイミダゾールで置換することで、リボザイムの触媒機構を解明する新しい *chemogenetic method* を開発した。²⁾ 特に VS リボザイムでは、G638 と A756 塩基が RNA のリン酸ジエステル結合を挟むように接近し、それぞれが酸あるいは塩基として協奏的に作用することで、RNA 鎖を切断することを証明した。³⁾

しかし、酸-塩基触媒であるイミダゾールを用いる限り、どちらの核酸塩基が酸であるか、あるいは塩基として作用しているのかを決定することまでは出来ない。そこで、リボザイムの中心塩基を直接テトラゾールで置換することで、それぞれの核酸塩基の機能を特定できるのではないかと考え、テトラゾールリボヌクレオシドホスホロアミダイト **5a-c** をデザインした (Fig.1)。^{1,4)} また、テトラゾール-*N* の新たな保護基として POM 及び MePOM 基を見出した。これらの保護基は、28% aq. NH_3 / EtOH (1 / 3, v/v) の塩基性条件下、室温、14-17 時間攪拌することで容易に除去できる。一方、2*N* HCl / EtOH の酸性条件下あるいは脱ベンジル化条件に対して安定であるという特徴を持つ。⁴⁾

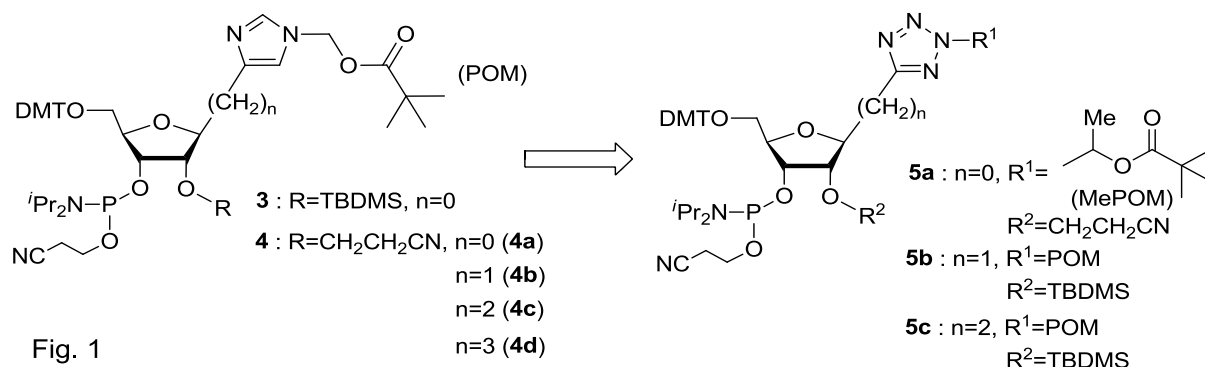
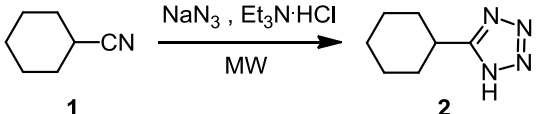
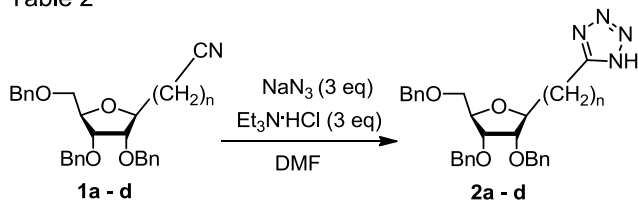


Table 1

						
entry	NaN_3 (eq)	$\text{Et}_3\text{N} \cdot \text{HCl}$ (eq)	solvent	temp (°C)	time (h)	yield (%)
1	1.3	1.3	PhNO_2	100	1	2
2	2	2	$\text{DMF}/\text{H}_2\text{O} = 7/3$	150	1	0
3	2	2	DMF	150	1	16
4	3	3	DMF	150	2	90
5	3	3	DMF	130	2	93
6	3	3	DMF	100	2	13
7	3	3	DMSO	130	1	10

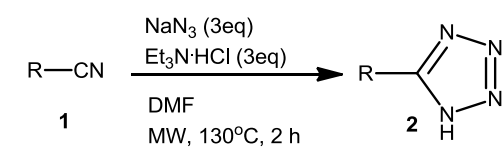
基本骨格となる 5-置換-1*H*-テトラゾール体 **2** の合成では (Table 2)、**1a** (*n*=0) のように、シアノ基が隣接の電子吸引性の酸素で活性化されている場合は、オイルバス加熱でも定量的にテトラゾール **2a** を生成するが (entry 1)、不活性なアルキルニトリル **1b-d** では長時間加熱しても **2b-d** は低収率でしか得られなかった (entry 2-4)。一方、これらの反応を MW 照射下で行うと、**1b-d** から、テトラゾール中間体 **2b-d** への変換が短時間・高収率 (87-95%) で可能となった。この様にして得た **2b-d** から目的のアミダイト **5a-c** の効率的な合成に成功し、それぞれのアミダイトから改変型 VS リボザイムを高能率で得ることが出来た。

Table 2



entry	1	n	reaction condition	time (h)	2	yield (%)
1	1a	0	130°C	2	2a	quant
2	1b	1	130°C M.W.130°C	40 2	2b	19 87
3	1c	2	130°C M.W.130°C	40 2	2c	57 95
4	1d	3	130°C M.W.130°C	40 2	2d	26 87

Table 3

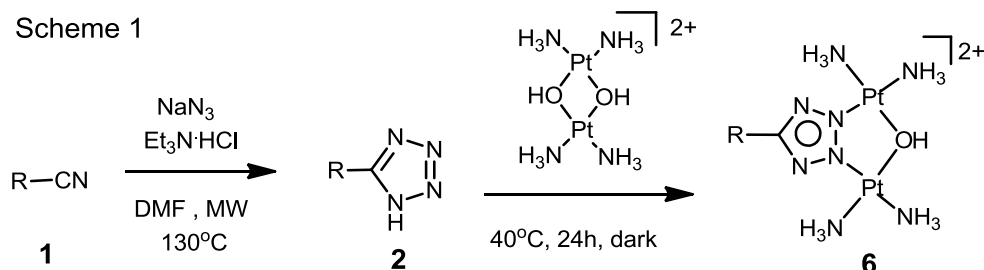


run	yield(%)
2e n = 1	81
2f = 2	95
2g = 3	63
2j = 4	85
2h = 5	85
2i = 6	93
2j = 7	98
2k = 8	99
2l = 9	99
2m = 10	98

他方、我々はこのテトラゾール合成法からテトラゾール白金錯体の開発を進めた。シスプラチンに代表される白金制がん剤は、様々ながん化学療法に用いられており、共有結合性の DNA 付加体を形成することにより、制がん作用を発揮すると考えられている。最近、5-*H*-N2,N3 テトラゾール白金複錯体 **6** (*R*=H)が、H460 ヒト非小細胞肺癌細胞を用いた *in vitro* 細胞毒性試験においてシスプラチンの 2 倍以上の活性を示す事、またマウス移植腫瘍がんに対して顕著な *in vivo* 腫瘍抑制効果を発揮することを報告している。⁵⁾

さらに有用なリード化合物を創出するために、テトラゾール C5 位を飽和炭化水素で修飾した一連の化合物を合成し構造活性相関を行う目的で、5-置換アルキルテトラゾール体の合成 (Table 3) と白金錯体への変換を行った (Scheme 1)。

Scheme 1



引用文献 : 1) H.Yoneyama *et al.*, *Synthesis*, **2013**, 45, in press.

2) D.M.J.Lilley *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 5026.

3) L. Araki *et al.*, *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 2350.

4) S. Harusawa *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2012**, 53, 5891.

5) S.Komeda, *et al. Chem. Med. Chem.* **2011**, 6, 987-990.