

## マイクロ波を活用したいくつかの生体機能性分子の合成

春沢信哉\*, 米山弘樹, 宇佐美吉英

### Synthesis of Some Biofunctional Molecules Using Microwave

Shinya HARUSAWA\*, Hiroki YONEYAMA, and Yoshihide USAMI

Osaka University of Pharmaceutical Sciences, 4-20-1, Nasahara, Takatsuki, Osaka 569-1094, Japan

(Received October 23, 2012; Accepted December 3, 2012)

Synthetic studies toward biofunctional molecules using microwave (MW)-assisted reactions are described, in which the following items are covered. 1) Fundamentals of MW in organic chemistry. 2) Synthetic studies toward non-imidazole histamine H<sub>3</sub> receptor (H<sub>3</sub>R) antagonists. 3) Synthesis of 5-alkyltetrazoles for tetrazolato-bridged dinuclear platinum (II) complex. 4) Synthesis of *Cn*-ribonucleoside phosphoramidites (PAs) for probing the catalytic mechanism of ribozymes. 5) Synthesis of pericosine A. 6) Synthesis of withasomnine. 7) Synthesis of indazoles using a double Sonogashira coupling.

**Key words** —microwave, biofunctional molecules, H<sub>3</sub> receptor, 5-alkyltetrazoles, *C*-ribonucleosides, phosphoramidites, ribozymes, pericosine A, withasomnine, indazole, Sonogashira coupling.

### 1. はじめに

筆者らは、第31回 Microwave Surgery 研究会 (大阪大学中之島センター; 2012, 11, 8-9) から、有機合成の分野におけるマイクロウエーブ (MW) の活用についての講演依頼を受けた。そこで、この機会に、我々の研究室で最近行われた MW を用いる反応によるいくつかの機能性分子の合成を紹介し、それにより MW の有用性及び応用性を明らかとしたい。

話は、2004年5月初旬の爽やかな連休にさかのぼる。私 (春沢) は、ヒスタミン H<sub>3</sub> 受容体 (H<sub>3</sub>R) アンタゴニスト **OUP-153** の出発原料, L-グルタミン (L-Gln) のトリベンジル化反応を行うために一人実験室にいた (Fig. 1)<sup>1)</sup> この反応は、多量の L-Gln に臭化ベンジルと炭酸カリを水中、40°C、13日間モーターで攪拌するものであった (Fig. 2, 左)。それまでの2-3回の実験では、収率が42%から20%程度に低下する傾向

にあったが、生成物は得ていた。収率が安定しないのは、ベンジル化が進むにつれ反応液が、白色に懸濁し、不均一となるためと思われた。さらに、この反応で厄介な事は、水温を2週間近くも40°Cに保たなければならず、そのため水槽から蒸発する水を毎日補給しなければならない。この反応は、**OUP-153** 及びその関連化合物合成のための10工程の最初の大量反応であり、収率よりも生成物の量を確保する必要があった。しかし、この時、反応は全く進行せず、かくして期待外れの徒労に終わってしまった。がっかりする一方で、この事態をなんとか打開するには、MWによる反応時間の短縮化が必要と考え、すぐに高価であったものの Milestone 社, MicroSYNTH multimodal reactor を購入する事になった (Fig. 2, 右)。導入した MW 反応装置の効果は絶大であり、DMF-H<sub>2</sub>O 中 80°C、わずか1時間で目的のトリベンジル体を69%で得ることが出来た。反応時間は、実に1/312に短縮し、実験のストレス

\* 大阪薬科大学 有機薬化学研究室, e-mail; harusawa@gly.oups.ac.jp  
本総説は、第31回 Microwave Surgery 研究会 (大阪大学中之島センター; 2012年11月8-9日) での講演を中心に記述したものである。

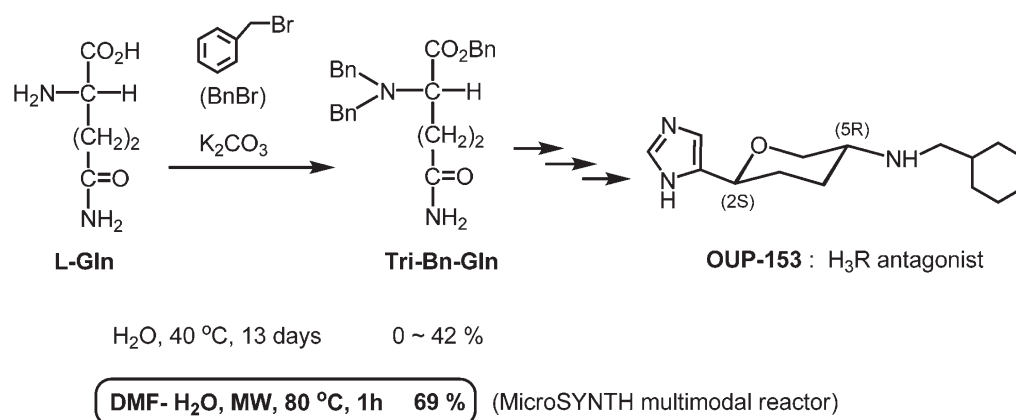


Fig. 1. Tribenylation of L-Gln using MW



Fig. 2. 攪拌モーターを用いる従前の反応 (左) と MW 反応装置 (Milestone 社, MicroSYNTH multimodal reactor).

を少なくし、現代有機化学で重要視される Green Chemistry や Process Chemistry つまり、環境に優しくかつ効率的な合成法に適うものとなった。

## 2. MW 有機化学の基本<sup>2)</sup>

MW 有機化学の基本を先に簡単に述べたい。MW と呼ばれる電磁波は、波長 3 cm ~ 30 cm, 振動数 1 GHz ~ 10 GHz でそれに対応したエネルギー

を持つ。有機スペクトルの可視光、赤外線と違い MW は、基本的には分子の回転運動を励起する (Fig. 3)。しかし、すべての物質が MW を効率良く吸収するというわけではなく、MW と物質との相互作用は大きくわけて吸収、透過、反射のいずれかになる。MW は、マグネトロンという装置から発生する。MW を吸収する代表的な物質は、水、アルコールなどの極性分子であり、MW を有機合成に用いることが出来る。透

過する物質は、ポリエチレン、フッ素樹脂、ガラスなどである。ガラスやフッ素樹脂は、反応容器であるため、反応基質のみを選択的に加熱することが可能となる。MWを反射する代表は、金属である (Fig. 3, 4)。

MWが化学反応に与える効果は大きく二つに分類され、熱効果とMW特有の効果である。物質は、MWによって双極子分極とイオン伝導によって加熱される。アレニウスの反応速度式によれば、反応温度が $10^{\circ}\text{C}$ 上がる毎に反応速度は約2倍になるとされている。分子の中で正負の電荷の分布が均一でなく、正負の電荷の重心が一致しない時にその分子は双極子を持つ。双極子が単位当たりの電場中で受ける力の大きさを表す指標が双極子モーメントである。大きな双極子モーメントを持つ分子は電場の中で強い力を受ける。正負

の一组の電荷に関する双極子モーメントは、負の電荷から正の電荷への向かうベクトル量で表される。有機分子では、分子内の各結合に生じる双極子モーメントのベクトル和が分子全体としての双極子モーメントとなる。双極子モーメントが大きい極性分子が、電場に置かれると双極子モーメントの向きが電場と同じになるように分子が回転する。しかし、MWの電場の向きは周期的に反転する。この電場の変動に分子が追従することで、分子の回転運動が励起される。回転運動が励起された分子は、他の分子と衝突し、他の分子の併進運動や回転運動を励起する。これが熱の発生となる。物質のエネルギーを吸収して熱に変える能力は、損失角  $\tan \delta$  という値で定義され、この値が大きいほど効率よくマイクロ波のエネルギーを熱に転化する性質を持つ (Table 1)。

### 1. マイクロ波の性質

- ・ 波長:  $3\text{ cm} \sim 30\text{ cm}$   
(振動数  $1\text{ GHz} \sim 10\text{ GHz}$ )
- ・ 分子の回転運動に相当する  
エネルギー ( $E=h\nu$ )

Cf) 可視光: 分子の電子状態の励起  
赤外線: 分子結合の振動を励起  
マイクロ波: 分子の回転運動を励起

### 2. マイクロ波と物質の相互作用

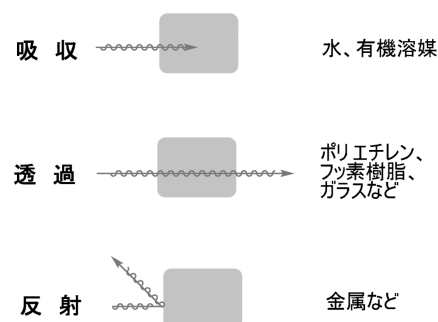
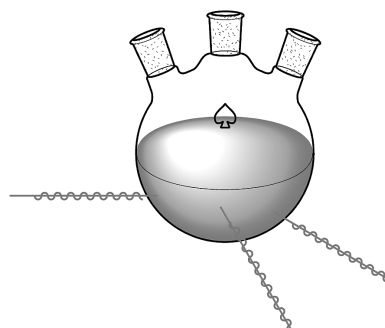


Fig. 3. MW 有機化学の基本

#### ● マイクロ波による加熱



#### ● オイルバスによる加熱

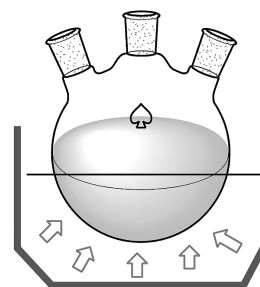


Fig. 4. 熱伝達様式の比較

Table 1. 一般的な溶媒と MW の吸収効率

溶媒	Bp (°C)	損失角 (tan δ)
DMSO	189	0.83
EtOH	78	0.94
H <sub>2</sub> O	100	0.12
DMF	153	0.16
CH <sub>3</sub> CN	82	0.06
acetone	56	0.05
dichloroethane	40	0.13
AcOEt	77	0.06
THF	66	0.05
toluene	111	0.04

一方、イオン伝導とは、イオンが MW と相互作用する仕組みがイオン伝導である。イオンが MW の電場に置かれれば、カチオンならば電場の向きへ、アニオンならば電場と逆の向きへ力を受ける。これが併進運動を加速し、周囲の分子と衝突することで熱を発生する。このため、イオンを多く含む水溶液は、純水よりも効率よく MW を吸収する。

MW 加熱では、他にも興味深い現象が現れる。その一つはスーパーヒーティングである。スーパーヒーティングとは、大気圧下での MW による無攪拌加熱時に、溶媒沸点が通常よりも上昇する現象である。水では、通常より 5°C 高い 105°C に、アセトニトリルでは、25°C 高い 107°C までに達する。また、MW 照射によって予想されるよりもさらに大幅に反応時間が減少することがある。熱効果以外の MW 特有の効果があるといわれている。これまでのところ、アレニウスの速度式における頻度因子 A (分子同士の衝突のうち、目的の反応が進むような衝突の起こる頻度を示す尺度) の増加と、活性化ギブズエネルギー  $\Delta G^\ddagger$  の減少である。

### 3. 非イミダゾールヒスタミン H<sub>3</sub> 受容体アンタゴニストの創製研究<sup>3)</sup>

ヒスタミンは、炎症、アレルギー、胃酸分泌、神経伝達といった様々な応答を媒介する生理活性アミンであり、H<sub>1</sub> 受容体アンタゴニストは、抗

アレルギー剤として、H<sub>2</sub> 受容体アンタゴニストは、抗潰瘍剤として多大な恩恵をもたらした。さらに、最近になってヒスタミン H<sub>3</sub> 受容体 (H<sub>3</sub>R) と H<sub>4</sub> 受容体 (H<sub>4</sub>R) が発見され、ヒスタミン研究の中心は H<sub>3</sub>R と H<sub>4</sub>R に移っている。

脳内のヒスタミン神経系は、後部視床下部の結核乳頭核から脳のすべての領域に出力している。ヒスタミン神経線維には多数のバリコシティーと呼ばれる軸索瘤があり、H<sub>3</sub>R は神経終末とバリコシティーの表面に存在し、ヒスタミンの遊離と合成を調節するオートレセプターとして働いている (Fig. 5)。放出されたヒスタミンが、この H<sub>3</sub>R に結合すると、負のフィードバックによりヒスタミンの遊離が抑制される。このため、H<sub>3</sub>R アゴニストはヒスタミンの遊離を抑制し、反対に H<sub>3</sub>R アンタゴニストはヒスタミンの遊離を促進する。H<sub>3</sub>R は、他の神経伝達物質を制御するヘテロレセプターとしても機能している。ヒスタミンは、覚醒や脳の賦活化に関与することから、H<sub>3</sub>R アンタゴニストは、アルツハイマー病などの認知障害、肥満、睡眠発作、てんかんなどの治療薬として期待されている。一方、H<sub>3</sub>R アゴニストは、不安や不眠症、偏頭痛への有効性に加えて、末梢では気管支喘息の治療薬の標的になっている。

H<sub>3</sub>R は 1983 年に Arrang らによって同定され、1999 年に Lovenberg らによってクローニングされた。一方、H<sub>4</sub>R は 2000 年にヒトゲノムデータベースに基づき、数グループが、ほぼ同時期にクローニングを報告した。H<sub>3</sub>R と H<sub>4</sub>R は同じ Gi 結合型 GPCR (G タンパクサブタイプ i 結合型レセプター) であり、そのアミノ酸配列は、約 40% の相同性を持っている。また、H<sub>4</sub>R では動物間種差が大きい事が特徴であり、特に注目すべきはその発現部位で、H<sub>4</sub>R は骨髄、末梢血白血球、胸腺、脾臓、小腸、結腸など多岐にわたって存在しているのに対し、ヒスタミン H<sub>3</sub>R は脳に局限して存在している。

我々は、H<sub>3</sub>R アゴニスト、イミフラミン (1999)<sup>4)</sup> を最初に見出した後、世界初の選択的 H<sub>4</sub>R アゴニスト OUP-16 (2003)<sup>5)</sup>、続いて H<sub>3</sub>R アンタゴニスト OUP-153 (2007)<sup>1)</sup> を発表した (Fig. 6)。先

### H<sub>3</sub>R Auto- and Heteroreceptors in the Central Histaminergic Neurons

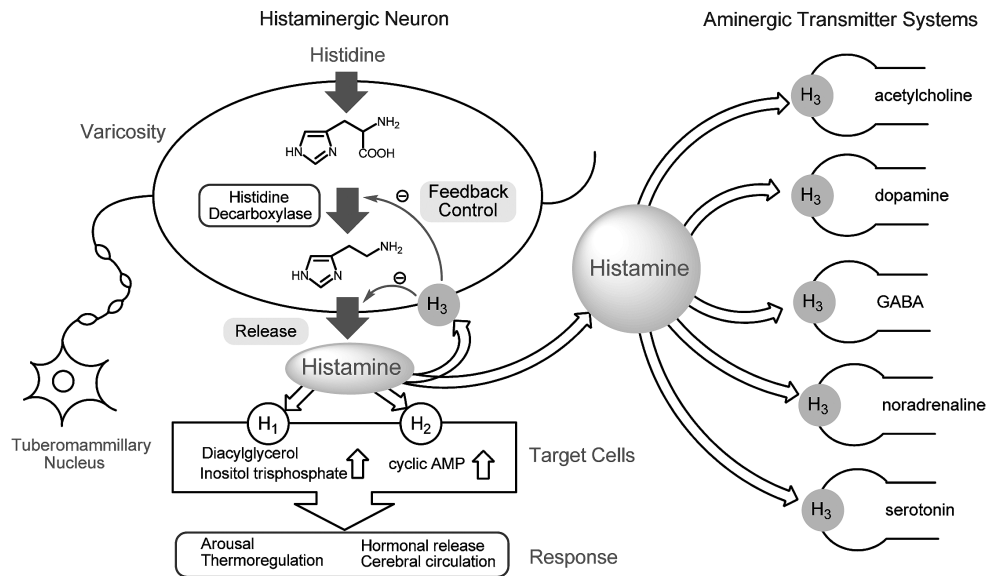


Fig. 5. A Schematic Representation of the Central Histaminergic Neurons

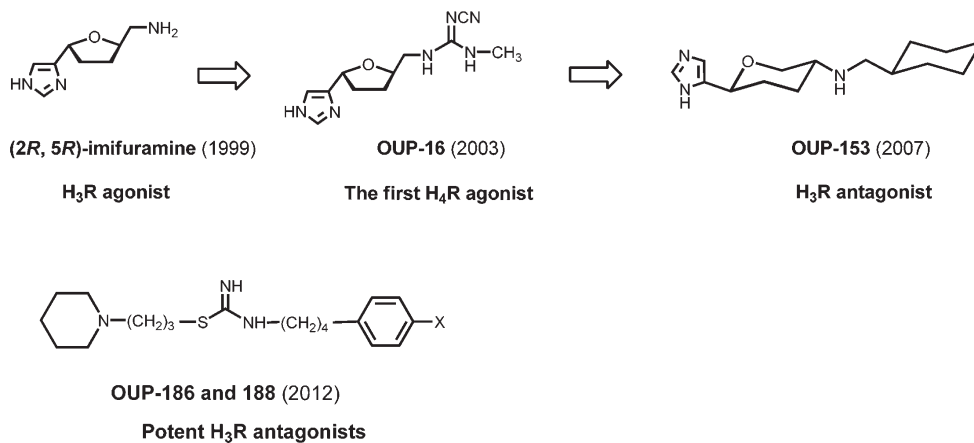


Fig. 6. H<sub>3</sub>R and H<sub>4</sub>R Ligands Developed at Our Lab.

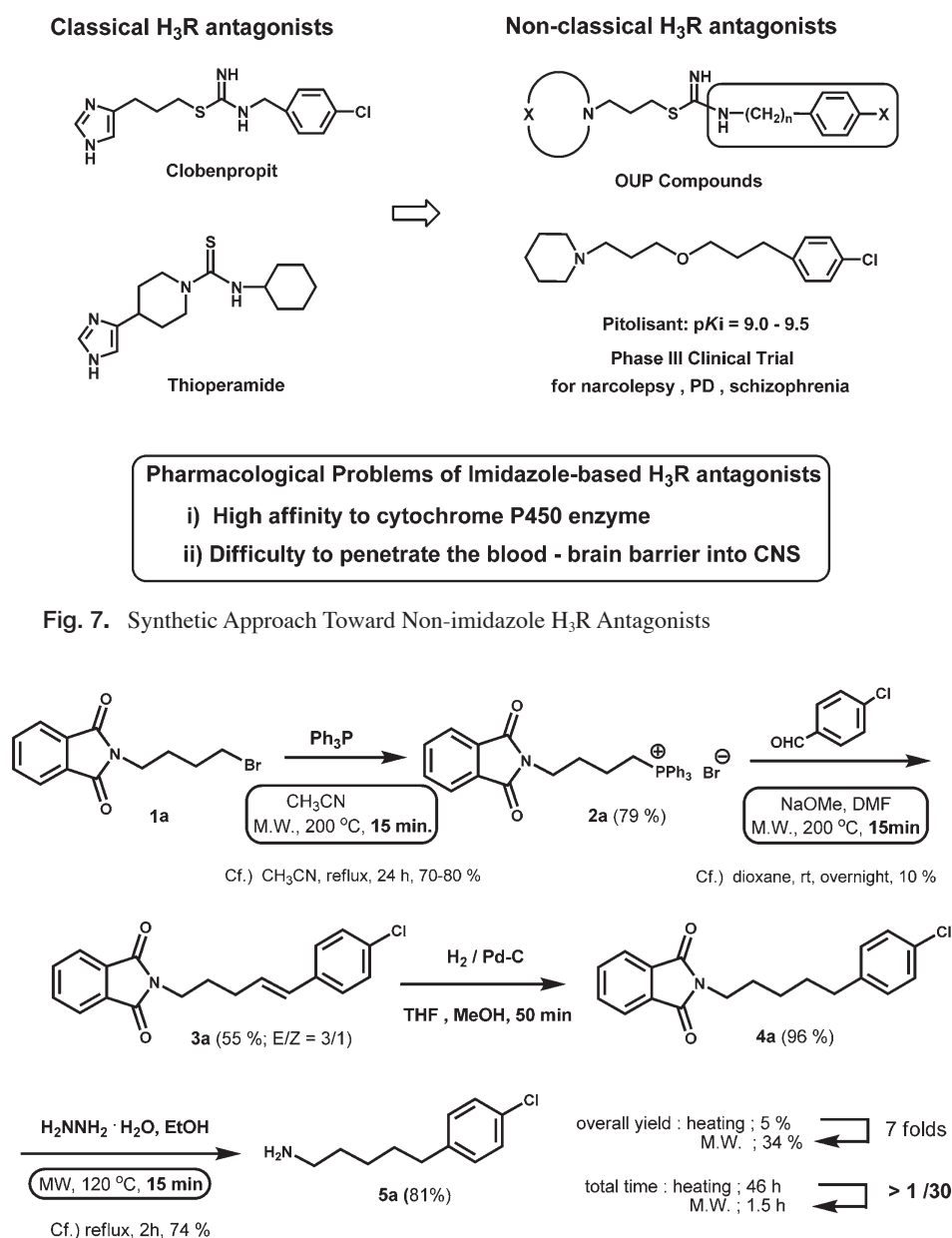
のトリベンジル化反応から合成したアンタゴニスト **OUP-153** は、生きたラットの脳を用いる微小脳透析法 (brain microdialysis) で、脳内ヒスタミンの遊離量を 180~200% に増加した。

これまで開発されてきた H<sub>3</sub>R リガンドの内、プロトタイプ of H<sub>3</sub>R アンタゴニストは、クロベンプロピット<sup>6)</sup> とチオペラミドが挙げられるが、これらは、いずれもヒスタミンの 4-アルキルイミダゾールの誘導体であった (Fig. 7)。しかし、イミダゾールは、チトクローム P-450 との親和

性が高く、酵素誘導、薬物-薬物相互作用を引き起こすことなどの問題がある。また、イミダゾールの高い親水性から、脳-血液関門の透過性や bioavailability の低下が予想される。そのため、最近の H<sub>3</sub>R と H<sub>4</sub>R リガンドの開発は、非イミダゾール系の開発が主流となっている。中でも、H<sub>3</sub>R アンタゴニスト pitolisant は、現在第 3 相臨床試験にあり、ナルコレプシー、パーキンソン病、統合失調症のための初の H<sub>3</sub>R 標的医薬品として期待されている (Fig. 7).<sup>7)</sup>

我々は、これまで最も強力な  $H_3R$  アンタゴニストでありながら優れた合成法のなかったクロベンプロピットの効率的合成法を最近報告した。<sup>8)</sup> そこで、この手法を用いてクロベンプロピットに基づく新しい非イミダゾール  $H_3R$  アンタゴニストの創製に着手することになった (Fig. 7, 右上). この OUP 化合物の合成法は、右半分のアリールアルキルアミンと左半分のヘテロ環状アルキル部を SCN で結びつける手法である. 最初は、種々のアリールアルキルアミン **5** の合成を行わなければならないが (Fig. 8), **5a** の合成では、出発物質の臭化ア

ルキルフルイミド **1a** から 4 工程の反応で MW を積極的に用いることにより全体の反応時間を通常の加熱方法に比べて 1/30 に短縮し、総収率も 7 倍となった (Fig. 8).<sup>9)</sup> これらの反応には、圧力センサーの完備されている MW 反応装置 Initiator (Biotage 社) を用いて溶媒沸点以上の高温高压条件下で反応を行っている. さらに、このようにして調整したアルキル鎖の異なるアミン **5** から、Fig. 9. で示す 3 工程でさまざまな OUP 化合物を合成した. *N*-アシル-*S*-アルキルイソチオウレア **7** には、切断しやすい C-S 結合が存在するが、ヒ



ドラジン-水和物により選択的に N-CO 結合を切断することが出来た。7 のピペリジン環がイミダゾールで  $n=1$  であればクロベンプロピットが合成できる (Fig. 9, 下)。クロベンプロピット合成では、ヒドラジンによる切断反応を室温では 17 時間 (69%) が, MW では, わずか 10 分で収率 51% であった (Fig. 9)。MW での反応の実験の様子, 数枚の写真で示した (Fig. 10)。

このようにして合成した多数の OUP 化合物は, イソチオウレアとクロルベンゼン間の炭素鎖の違いが  $H_3R$  アンタゴニスト活性に大きく影響を与えた (Table 2)。ヒト  $H_3R$  (h $H_3R$ ) では, 炭素鎖  $n=2$  から 3 で,  $pA_2$  値が 7.4 から 8.7 と約 10 倍増加し, さらに  $n=4$  では, 9.6 とさらに 10 倍強く

なった。一方,  $n=5$  では 8.0 に減少した。<sup>9)</sup> 我々は, **OUP-186** のヒト  $H_3R$  アンタゴニスト活性が, ピトリサント, クロベンプロピットに匹敵するため, **OUP-185**, **186**, **187** のラットの生きた脳を用いる *in vivo* マイクロダイアリシスでも, 高いヒスタミンの遊離が期待できると考えた。しかし, 驚いたことに, これらの化合物は, ラットの脳内のヒスタミン遊離に対して全く効果を示さなかった。ヒトとラットの  $H_3R$  で極端な作用の違いを示した例は, 我々の知る限り最初の例であった。また,  $H_3R$  における動物間種差は, これまであまりないとされていたため, **OUP-186** は, ヒトとラット  $H_3R$  の中心構造の違いを解明するプローブとして用いることが出来る可能性を示した。

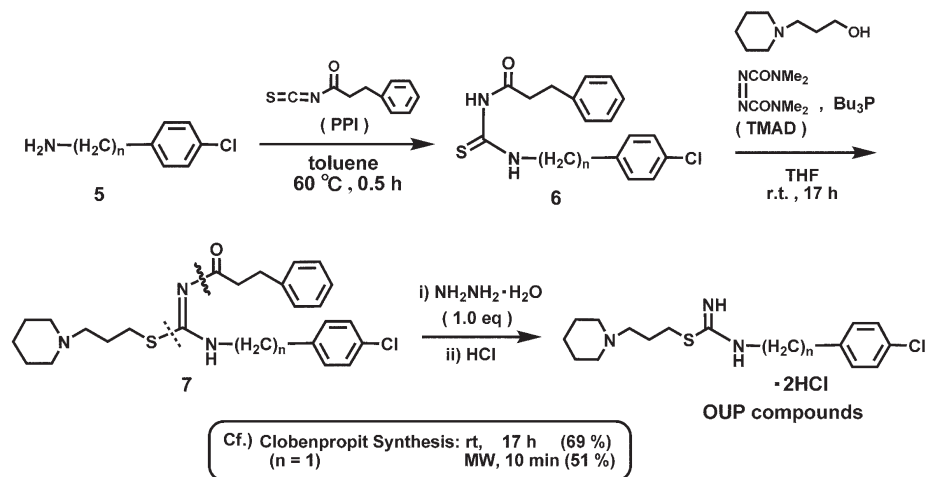
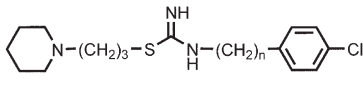


Fig. 9. Synthesis of OUP Compounds

Table 2. Pharmacological Activities of OUP-Compounds Against Rat and Human  $H_3R$

		<i>in vivo</i> rat brain microdialysis <sup>a)</sup>	<i>in vitro</i> $pA_2$ (h $H_3R$ )
<b>OUP-176</b>	$n = 1$	130-140 %	7.4
<b>181</b>	$n = 2$	150-160 %	7.4
<b>185</b>	$n = 3$	N.A. <sup>b)</sup>	8.7
<b>186</b>	$n = 4$	N.A.	9.6
<b>187</b>	$n = 5$	N.A.	8.0
-----			
<b>Pitolisant</b>		7.8 <sup>c)</sup>	9.0~9.5 <sup>c)</sup>
<b>Clobenpropit</b>		200 %	10.1

a) % of basal histamine release    b) N.A. : not active    c) reported  $pKi$  value

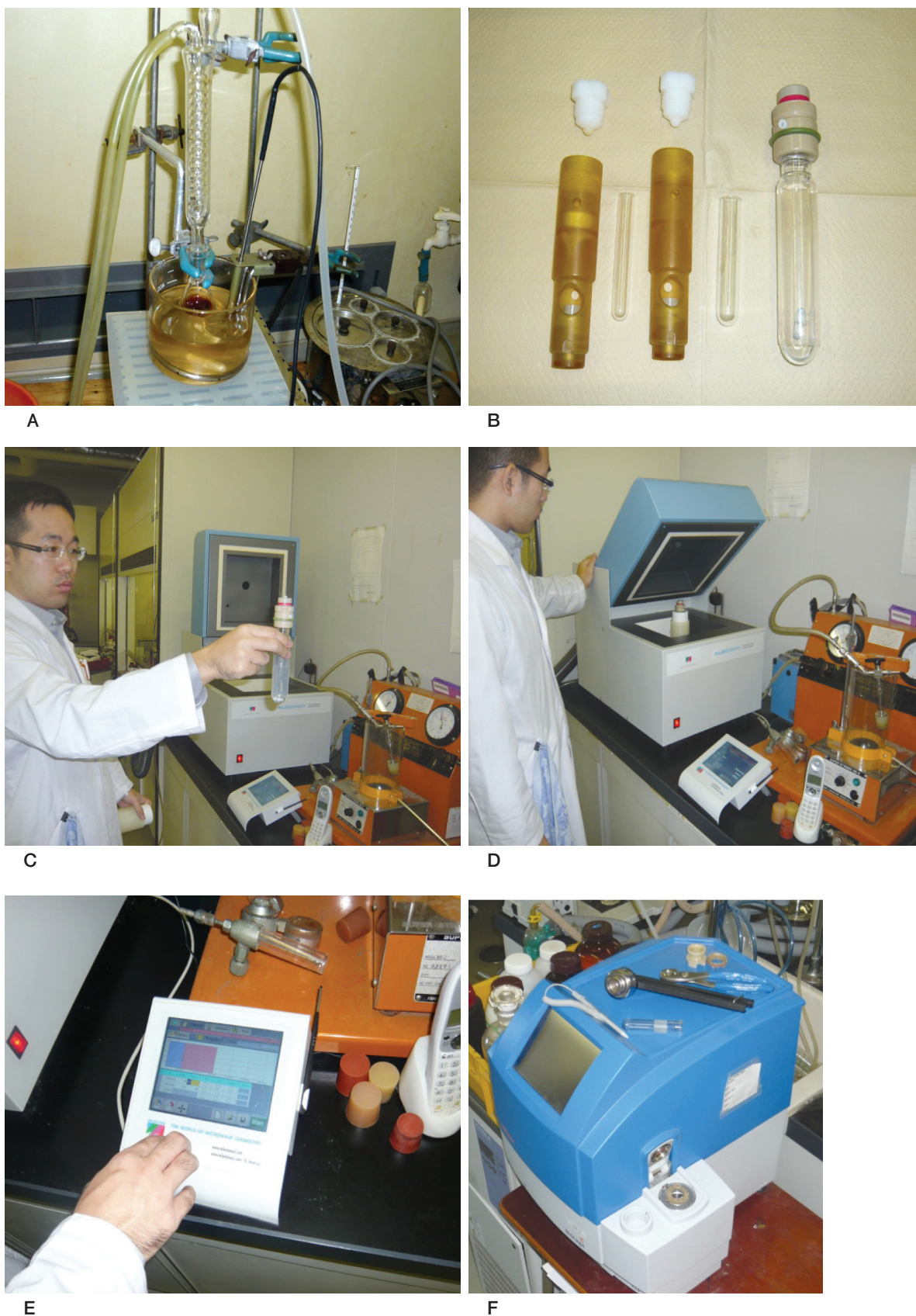


Fig. 10. MW 装置での反応. (A) オイルバスを用いる従来の加熱法; (B) MW 用耐圧反応容器 (右より 10–20 mL 用容器, 2–5 mL 用容器とホルダー, 1–2 mL 用容器とホルダー); (C) MultiSYNTH (Milestone 社) での反応容器のセッティング; (D) 防爆型反応容器のセッティング. (E) コントロールパネルでの反応条件の設定; (F) 我々の研究室のもう一台の MW 反応装置 Initiator (Biotage 社)



#### 4. 白金制癌剤のための5-アルキルテトラゾールの合成

シスプラチンに代表される白金制癌剤は、様々な癌に対する治療薬として用いられている。最近、米田らは、テトラゾラト架橋白金(II)二核錯体が、膵癌に対して顕著な *in vivo* 腫瘍抑制効果を確認したことから、<sup>10)</sup> さらに有効なリード化合物創製のために5-アルキルテトラゾールを架橋剤とする新規錯体の合成に関心を向けていた (Fig. 11)。5-アルキルテトラゾールは、後述のテトラゾール C-リボヌクレオシドホスホロアミダイト (Tez-PAs) 合成の基盤反応ともなるため、我々は一般的な合成法を調べることにした。一般に、5-アルキルテトラゾールは、アルキルニトリルにナトリウムアジド ( $\text{NaN}_3$ ) と塩化アンモニウムなどの反応で得ることが出来るとされている。しかし、実際に効率的に合成できるのは、電気吸引性基で活性化されたニトリルの場合だけで

あり、通常アルキルニトリルでは、反応は簡単に進まない。

一方、近年、Roh らによって、シクロヘキサンカルボニトリルに対して  $\text{NaN}_3 \cdot \text{Et}_3\text{N} \cdot \text{HCl}$  をニトロベンゼン中、MW 照射下、 $100^\circ\text{C}$ 、8 時間で、5-シクロヘキシルテトラゾールを 54% で得る報告があった (Table 3, run 10).<sup>11)</sup> 彼らは、MW 照射を長くは 12 時間も行っているが、これでは、耐圧ガラス反応器の疲労やキャップ部分の歪みを生じやすく、また、余剰マイクロ波によって機器の内部に異常を引き起こす可能性がある。さらに、テトラゾールの爆発性のために非常に危険なやり方と思われる。そのため、我々は、この反応を再検討の際に防爆型 MW 装置の MultiSynth を選択した。実際、我々もまだ手探りの段階では、同一反応容器の連続使用や MW 過剰照射によって噴出・爆発を起こしている。検討を重ねた末、2 時間を上限とし、 $\text{NaN}_3$  と  $\text{Et}_3\text{N} \cdot \text{HCl}$  をそれぞれ 3 等量、DMF 中、 $130^\circ\text{C}$ 、2 時間で 5-シクロヘキシル

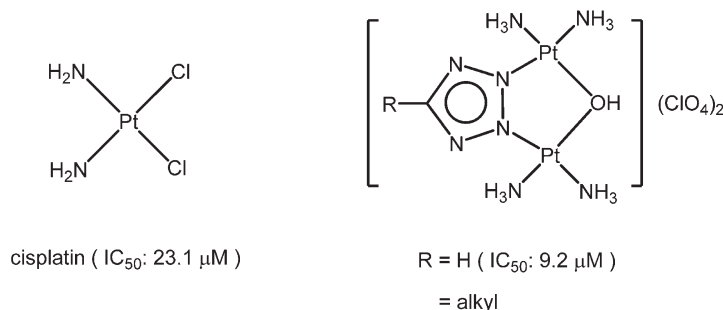


Fig. 11. Cisplatin and Tetrazolato-bridged Dinuclear Platinum (II) Complex

Table 3. Synthesis of 5-Cyclohexyltetrazole Under MW Irradiation

run	$\text{NaN}_3$ (eq)	$\text{Et}_3\text{N} \cdot \text{HCl}$ (eq)	solvent	temp ( $^\circ\text{C}$ )	time (h)	yield (%)
1	1.3	1.3	$\text{PhNO}_2$	100	1	2
2	2	2	$\text{THF}/\text{H}_2\text{O} = 4/1$	80	1	0
3	2	2	$\text{DMF}/\text{H}_2\text{O} = 7/3$	150	1	0
4	2	2	DMF	150	1	16
5	3	3	DMF	150	2	90
6	3	3	DMF	130	2	93
7	3	3	DMF	100	2	13
8	3	3	DMSO	130	1	10
10 <sup>1)</sup>	1.3	1.3	$\text{PhNO}_2$	100	8	54

1) ref. 11

テトラゾールが93%で得られることが判明した (Table 3, run 6). 次に, この反応条件の一般性を調べたところ, 1例 (Table 4, run 6) を除いていずれも高収率で5-置換テトラゾールが生成することを明らかとした (Table 4).<sup>9)</sup> これらの結果は, MW 反応の有効性を明確に示した.

## 5. C-リボヌクレオシドホスホロアミダイト合成: リボザイムの反応機構解明への応用<sup>3)</sup>

近年, 酵素に匹敵する触媒活性を示す RNA 触媒 (リボザイム) が発見された. リボザイムには自己切断活性を持つものと, 自己スプライシング活性を持つものがある. そのうち自己切断型にはハンマーヘッド, HDV, ヘアピン, VS, GImS の5種があり, それぞれ RNA の特定の部位のリン酸ジエステル結合の切断-連結反応を触媒している.<sup>12)</sup>

VS リボザイムは自己切断型の中で最大のもの (~150nt) で, 結晶構造の知られていない唯一の自己切断型リボザイムある. そのため, ごく最近まで明確な活性中心の特定がなされておらず,

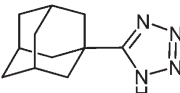
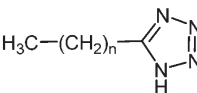
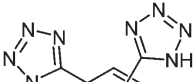
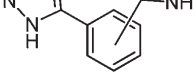
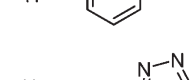
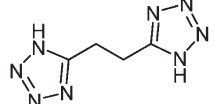
2, 3のグループにより A730 ループ内の A756 が活性中心として働いている可能性が示唆されていたに過ぎなかった (Fig. 12)

我々は, 酸-塩基触媒であるイミダゾール (pKa=7.1) に着目し, イミダゾールを直接リボザイムの重要塩基に置換したイミダゾール改変リボザイムを化学合成し, その触媒活性の回復により, リボザイムの核酸塩基が直接触媒反応に関与している事を証明する新しい chemogenetic method になると考えた. そこで, イミダゾール改変 VS リボザイムの合成ユニットとなるいくつかの新規イミダゾール C<sub>n</sub>-リボヌクレオシドホスホロアミダイト (Imz-C<sub>n</sub>-PAs: **8**, **9a-d**) を合成した (Fig. 13).<sup>13)</sup>

続いて, 共同研究者の Lilley らは, VS リボザイム (trans-acting 型) を用いて, PA **8** から, イミダゾール改変リボザイム (A756ImzVS) を合成し, その触媒活性を調べたところ基質の正しい位置でほぼ完全に切断 (K<sub>obs</sub>=0.01 min<sup>-1</sup>) および連結反応が起ることを示した (Fig. 14). この結果は, A756 が VS リボザイムの触媒反応に直接関与する事を強く支持し, イミダゾールを用いる新しい chemogenetic method を最初に発表する

Table 4. Synthesis of 5-Substituted Tetrazoles

$$\text{R-CN} \xrightarrow[\text{MW, 130}^\circ\text{C, 2 h, DMF}]{\text{NaN}_3 \text{ (3eq)}, \text{Et}_3\text{N}\cdot\text{HCl} \text{ (3eq)}} \text{R}-\text{C}_5\text{H}_3\text{N}_4$$

run	5-Tez	yield (%)		run	5-Tez	yield (%)
1		83 (8h; 32%) <sup>1)</sup>		7-16		n = 1 81
2		o-: 93 (6h; 90%) <sup>1)</sup>				= 2 95
3		m-: 81				= 3 63
4		p-: 99				= 4 85
						= 5 85
						= 6 93
6		34 (4h; 78%) <sup>1)</sup>	= 7 98			
			= 8 99			
			= 9 99			
			= 10 98 (12h, 60%) <sup>1)</sup>			

1) The contents in parentheses are the reaction times and yields carried out by Roh's procedure.

ことが出来た。<sup>13c, 14, 15)</sup> また、これはイミダゾールが擬核酸塩基として機能することを初めて示した例となった。

さらに、Lilley らは、VS リボザイムの切断および連結反応には A756 だけではなく基質ループの G638 が 2 番目の重要塩基であることを最近

報告した。<sup>16)</sup> それによると VS リボザイムの切断および連結反応は A756 と G638 が切断部位のリン酸ジエステル結合に並列して配置し、それらの相互作用による反応機構を提案した。Imz-C2-PA **9c** (n=2) からは、RNA 自動合成機で、95% 以上のカップリング収率で VS リボザイムの

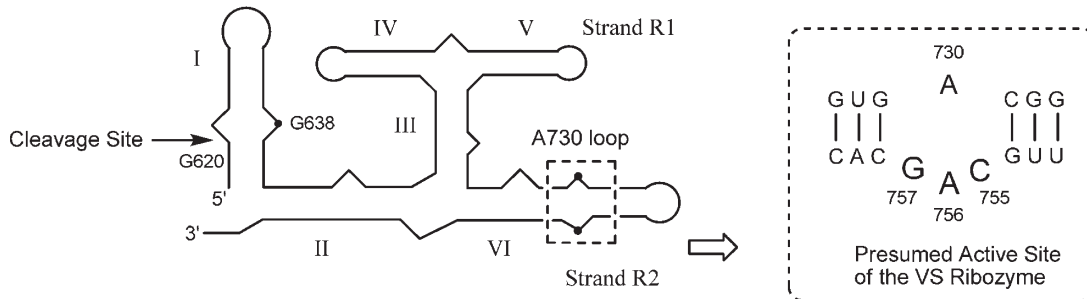


Fig. 12. Schematic of VS Ribozyme.

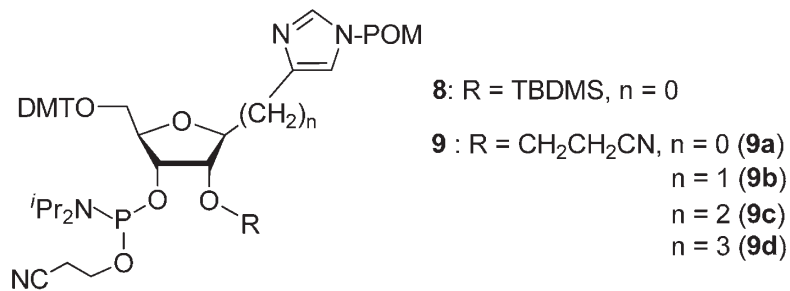


Fig. 13. Imz-Cn-PAs for Proving of RNA Catalysis

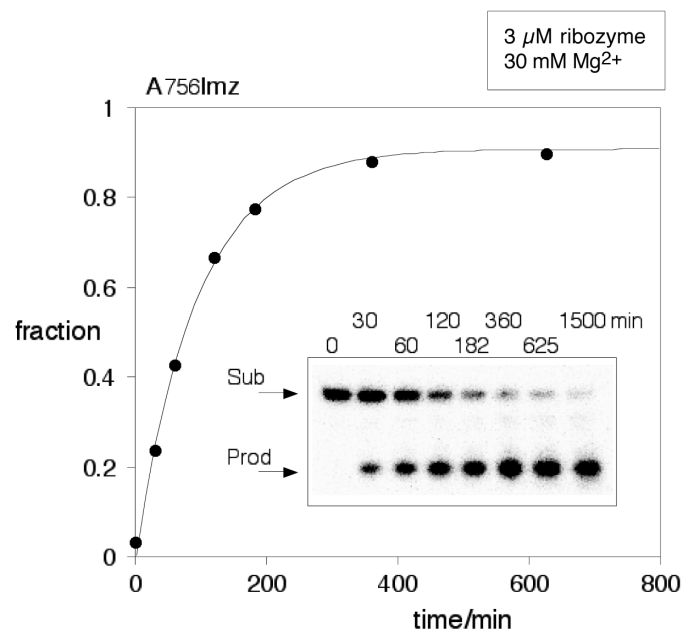


Fig. 14. Cleavage reaction of A756VSCoImz

G638 に導入することが出来、 $C_2$  スペーサーを持つ G638 $C_2$ Imz を得ることが出来た (Fig. 15). G638 イミダゾール改変体は、pH 依存的にベル型曲線を持つ切断活性を示し (Fig. 16), さらに、G638 $C_2$ Imz は G638 $C_0$ Imz に比べ速度定数が約 15 倍上昇した.<sup>13c)</sup> この結果、リボースとイミダゾール間に  $C_2$ -リンカーを加えることによって切断活性が著しく高まることが判明した。これは ribose-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-Imz タイプの PAs は、X 線結晶構造解析のない VS リボザイムの活性サイトの環

境を系統的に調べる事の出来るシリーズ化合物となると期待した。

イミダゾールを用いる事により、リボザイムの重要核酸塩基が直接接触媒反応に関与していることが明らかとすることが出来た。しかし、二核酸塩基が関与する場合においてどちらが酸であるか、あるいは塩基として作用するのかを決定することは出来ない。そこで、我々は、医薬品開発においてカルボン酸等価体として広く用いられているテトラゾール (pK<sub>a</sub>=4.5-5) に着目した。リボザ

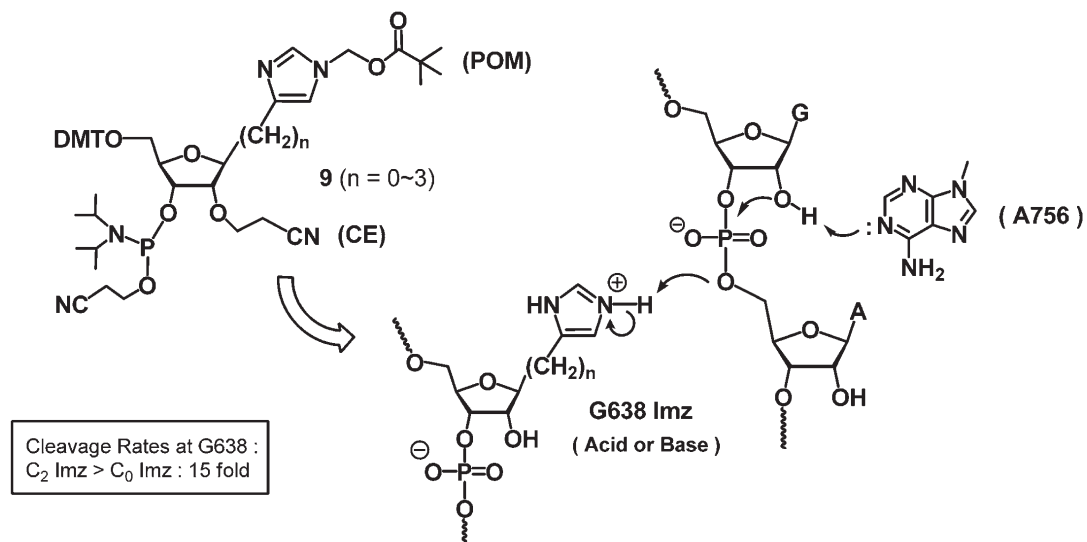


Fig. 15. Insertion of C<sub>n</sub>-Imidazoles into the G638 Position of VS Ribozyme for Probing of the General Acid and Base Catalysis

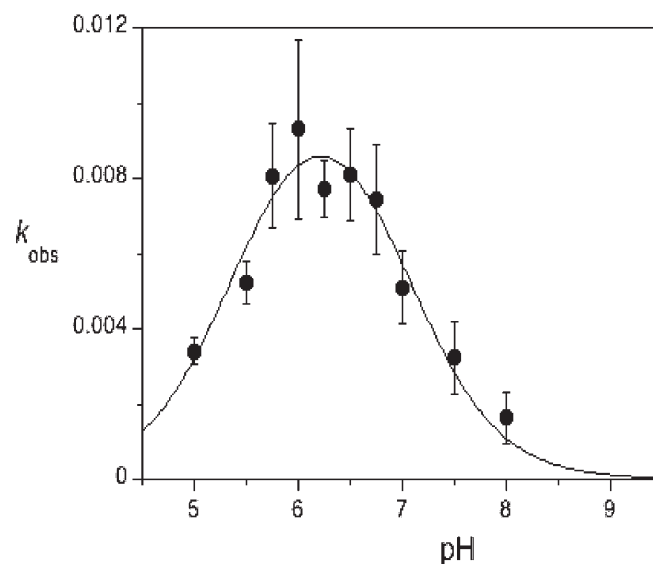


Fig. 16. pH Dependence of Cleavage Reaction of G638VSC<sub>2</sub>Imz.

イムの中心塩基を直接テトラゾールに置換することで、どちらの核酸塩基が酸として機能しているのかを特定する方法として、テトラゾール C<sub>2</sub>-PA (10) をデザインした。

テトラゾール C<sub>n</sub>-PAs (Tez C<sub>n</sub>-PAs) の合成での問題点は、不活性なニトリルから、如何に効率よくテトラゾールを構築するかであった (Table 5). 事実, D-リボフラノシルカルボニトリル 11a (n=0) のように隣接の電子吸引性酸素で活性化されている場合は、わずか2時間、オイルバスで 130°C 加熱で定量的にテトラゾール C-ヌクレオシド 12a (n=0) が生成したが (run 1), リボースとシアノ基間に一炭素増炭した 11b (n=1) では

130°C, 40 時間でもわずか 19% しかテトラゾール体 12b (n=1) が得られなかった (run 2). ここで、先の白金錯体のための MW を用いるテトラゾール合成の反応条件を適用すると、2 時間で 87% という高収率で 12b が生成した (Table 5, run 3). この MW の効果は、n=2, 3 の場合 (run 5, 7) でも見られ、目的のテトラゾール-C<sub>2</sub>-ヌクレオシド 12c (n=2) は 95% (run 5), 12d (n=3) を 87% 得た (run 7).<sup>17)</sup>

合成したテトラゾール-C<sub>2</sub>-ヌクレオシド 12c は、ピバロイルオキシメチル (POM) 基で、テトラゾール N を保護した。この時、12c を、POMCl-DBU とともに MW, 100°C, 30 分, DMF

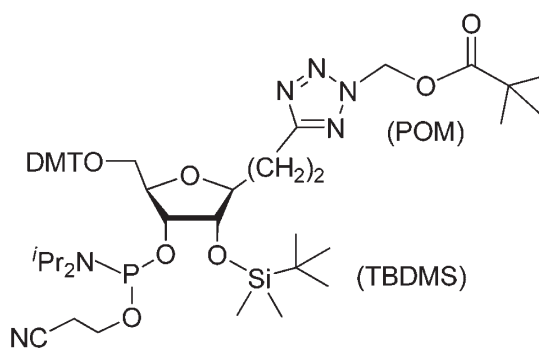
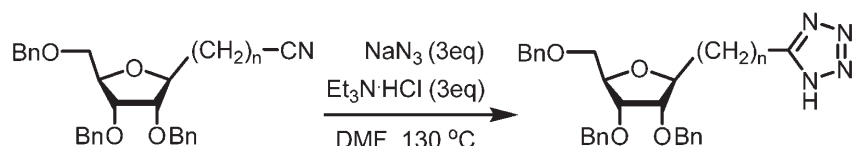


Fig.17. Tetrazole C<sub>2</sub>-PA10

Table 5. Synthesis of Tetrazole C<sub>n</sub>-Ribonucleosides



run	11	n	reaction condition	time (h)	12	yield (%)
1	11a	0	Δ	2	12a	quant
2	11b	1	Δ	40	12b	19
3			M.W.	2		87
4	11c	2	Δ	40	12c	57
5			M.W.	2		95
6	11d	3	Δ	40	12d	26
7			M.W.	2		87

Δ: oil bath heating

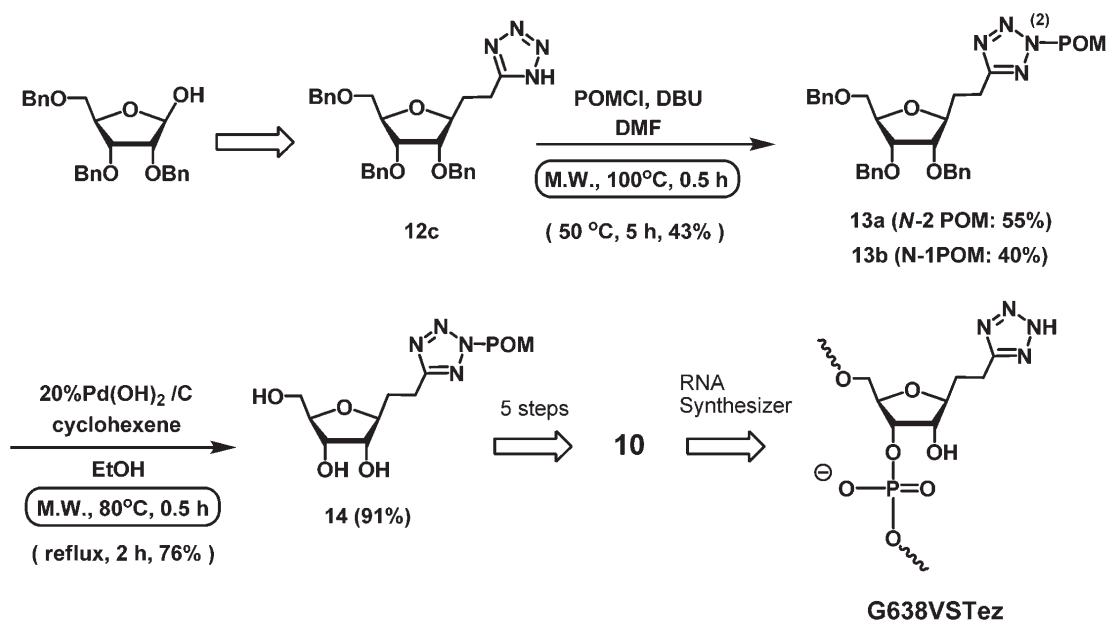


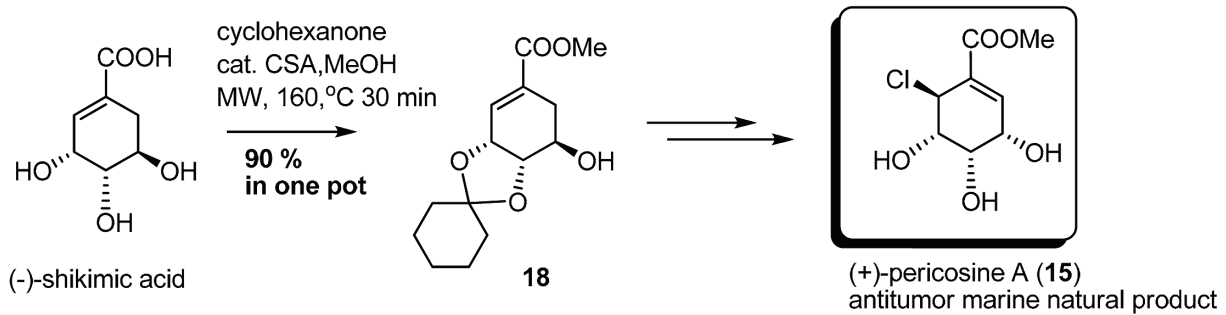
Fig. 18. Transformation from Tetrazole  $C_2$ -ribonucleoside to G638VSTez

中の処理は、 $N$ -2 POM 体 **13a** (55%) と  $N$ -1 POM 体 **13b** (40%) を与えた。13a のみが次の反応に使用されるため、13b は、アンモニア水で容易に脱 POM 化し、元の **12c** に戻すことが出来る。一方、12c のオイルバスで加熱は、13ab の収率は、5 時間、50 °C でわずか 43% であった。次の  $\text{Pd(OH)}_2\text{-C}$ 、シクロヘキセンを用いる脱ベンジル化も MW を使用するとトリアルコール体 **14** を 91% で得た。先に金属は、MW を反射すると述べたが、それは固体金属に対する一般論であり、この実験の様に  $\text{Pd(OH)}_2\text{-C}$  等の金属粉末の場合には、MW を使用することが可能で、効率的な合成が出来る。この様にして合成した Tez- $C_2$ -PA (**10**) は、RNA 合成機により 97% のカップリング収率で VS リボザイムの G638 に  $C_2$ -テトラゾールを導入することに成功した。<sup>17)</sup> この改変リボザイムを含むいくつかのテトラゾールリボザイムの触媒活性は、現在研究中である。

ここで紹介した Imz-及び Tez- $C_n$ -PAs は、RNA の任意の位置に  $C_n$ -イミダゾール及び  $C_n$ -テトラゾールを挿入できるため、リボザイムの反応機構の研究のみならず RNA の様々な機能を解明する実用的プローブとして応用できると期待している。

## 6. Pericosine A の合成研究

筆者らのグループは、顕著な生理活性を有する小サイズの天然物の全合成研究も行っている。Pericosine A-E は、海洋生物アメフラシから分離された真菌 *Periconia byssoides* OUPS-N133 の細胞毒性代謝物であり、これらのうち (+)-pericosine A (**15**) は、*in vivo* における抗腫瘍性が認められた他、protein kinase EGFR (上皮成長因子受容体) およびヒト・トポイソメラーゼ II に対する顕著な酵素阻害活性を示すこと報告されている (Fig. 19).<sup>18, 19)</sup> また、pericosine 類は、構造上、一種のカルバシユガーと見ることが出来るために抗菌作用、抗ウイルス作用、グリコシダーゼ阻害活性などの様々な生理作用も期待されるため、合成ターゲットとして魅力的な化合物群である。著者らの研究グループは、これまでに市販されているキナ酸あるいはシキミ酸を出発原料とする pericosine 類の合成をいくつか報告しており、<sup>19)</sup> 現在も新たなターゲット化合物の合成研究を行っている。この合成研究の中で MW を利用することを考えた。Fig. 19 に示したように出発物質であるシキミ酸のカルボキシル基と *cis* の相対配置を持つ 2 つの水酸基を保護する際、従来法<sup>20)</sup> では (Fig. 19 下)、最初メタノール中、カンファー



アメフラシ  
*Aplysia kurodai*



真菌  
*Periconia  
byssoides*  
OUPS-N133

#### Cf) Conventional heating (Song et al., 2003)

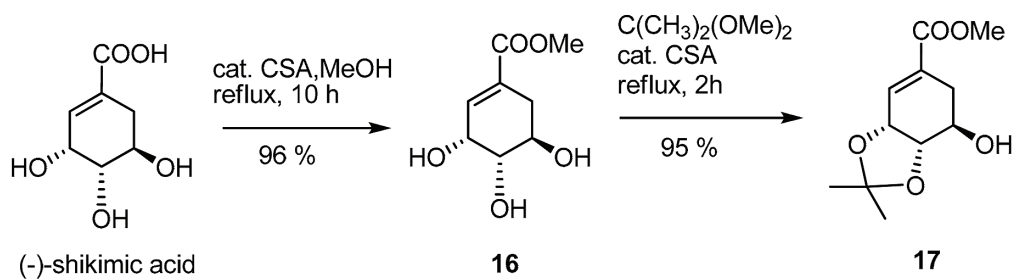


Fig. 19. 3, 4-Diol Protection of Shikimic Acid Using MW Toward Pericosine A

スルホン酸 (CSA) を酸触媒として 10 時間還流し、反応終了後、一端反応溶媒であるメタノールを留去してメチルエステル **16** を得た後、新たに触媒量の CSA を加え、2, 2-ジメトキシプロパンとともにアセトン中、2 時間環流して保護体 **17** が得られる。筆者らは、この原料合成での反応時間を削減するために、CSA を酸触媒とし、シキミ酸とシクロヘキサノンのメタノール溶液を MW で 160 °C、30 分間加熱することによって目的物 **18** をワンポット反応により、収率 90 % で得ることに成功した (Fig. 19 上)。この方法を用いて、既に (-)-**15** の合成に成功しており、<sup>21)</sup> 現在、(+)-**15** の短工程合成について検討を続けている。

## 7. Withasomnine 類の全合成研究

Withasomnine (**19a**) は、*Withania somnifera* (Solanaceae ナス科) をはじめとする数種の植物等より得られるピラゾールを含む天然アルカロイドであり、<sup>22)</sup> 中枢神経抑制作用、循環器系抑制作用および弱い鎮痛作用、<sup>23)</sup> TBL<sub>4</sub>、COX-1、COX-2 酵素阻害活性<sup>22f)</sup> を示すと報告されている (Fig. 20)。そのため **19a** は、これまでに様々な合成法が報告されてきた。<sup>24)</sup> 筆者らは、2005 年より続けてきたピラゾールの 4 位の直接官能基化の研究<sup>25)</sup> の中で withasomnine 類の全合成研究に着手し、その中で MW が威力を発揮しているのを、それについて簡単に紹介する。<sup>26)</sup>

Fig. 21 に示した4-ヨード-1*H*-1-トリチルピラゾール (**20**) から withasomnine 類までの合成経路の中で, MW を2度用いた. はじめは中間体 **25** から **26** への Claisen 転位反応である. この反応では, 当初, 反応溶媒を沸点の高い *N,N*-ジエチルアニリン (DEA; bp190°C) を用い MW 法と通常加熱の比較を行ったが, どちらも反応時間 60 分で収率 60 % 程度であった. MW の反応では, 反応液は赤く変色し, 副反応が起こった可能性を示唆した. そのため, 溶媒や反応温度, 時間の最適化を行ったところ, 溶媒に 1,2-ジメトキシエタン (DME) を用い 200°C (常圧では bp 85°C), 30 分間, MW 照射を行うと目的物 **26** の収率は 65 % で, 原料 **25** を 23 % 回収し,

副反応を抑えることが出来た. MW による短時間加熱が副反応を防いでいる例として捉えることができる (Fig. 22). また, この全合成の最終段階である前駆体 **30** から最終目的物 **19** への鈴木カップリング反応は, 触媒に酢酸パラジウム, リガンドとしてトリフェニルホスフィン, 反応溶媒 DME で 24 時間通常還流をすると収率 77 % で **19a** が得られた. 一方, MW 反応を行ったところ, Fig. 21 に示す最適反応条件下で **19a** を収率 88 % で得, 反応時間は 30 分に短縮された. この鈴木カップリングを用いて **30** に対して様々な市販されているアリールボロン酸を反応させ, 12 種の withasomnine 類を 90 % 前後の高収率で合成することに成功した. さらに, 合成された

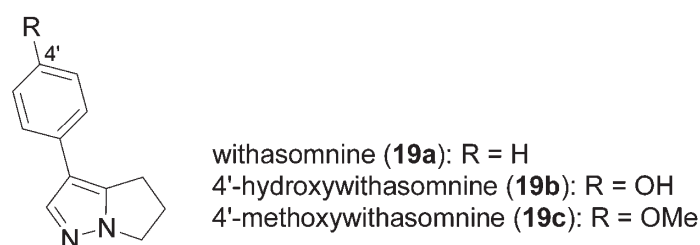


Fig. 20. Structures of Natural Withasomnines

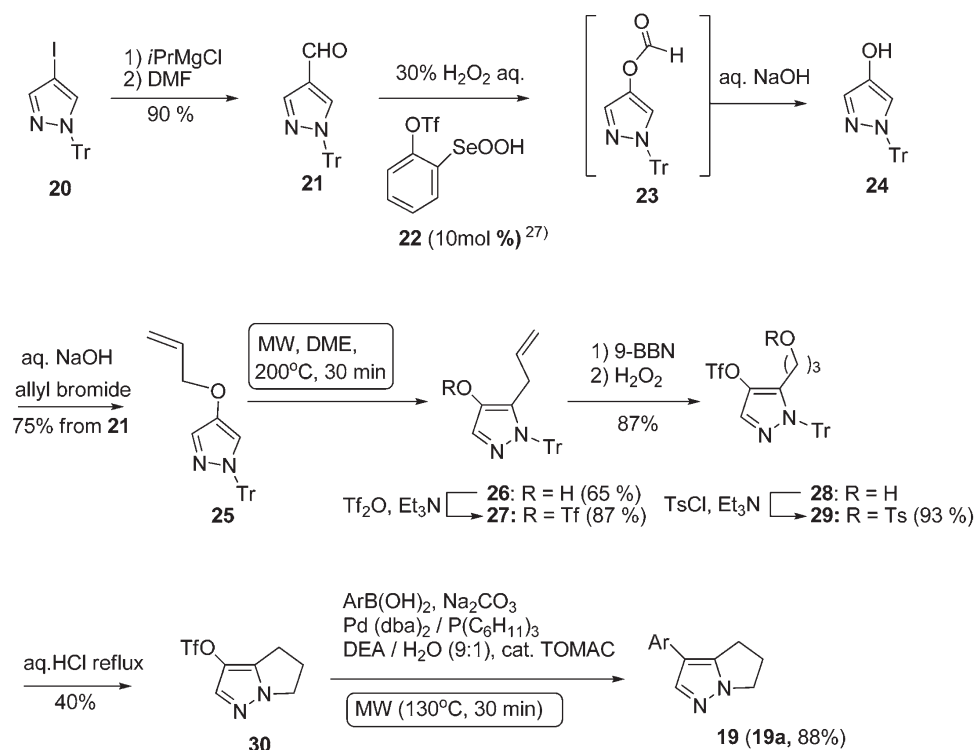


Fig. 21. Divergent Synthesis of Withasomnines



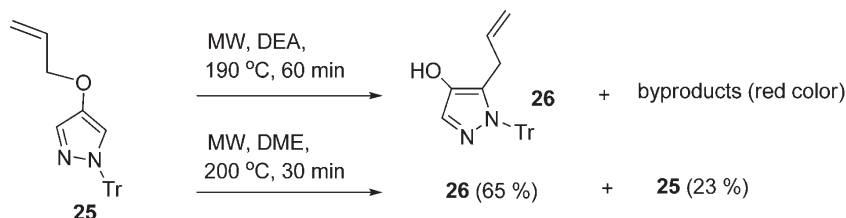


Fig. 22. Claisen Rearrangement of Intermediate 25 under MW

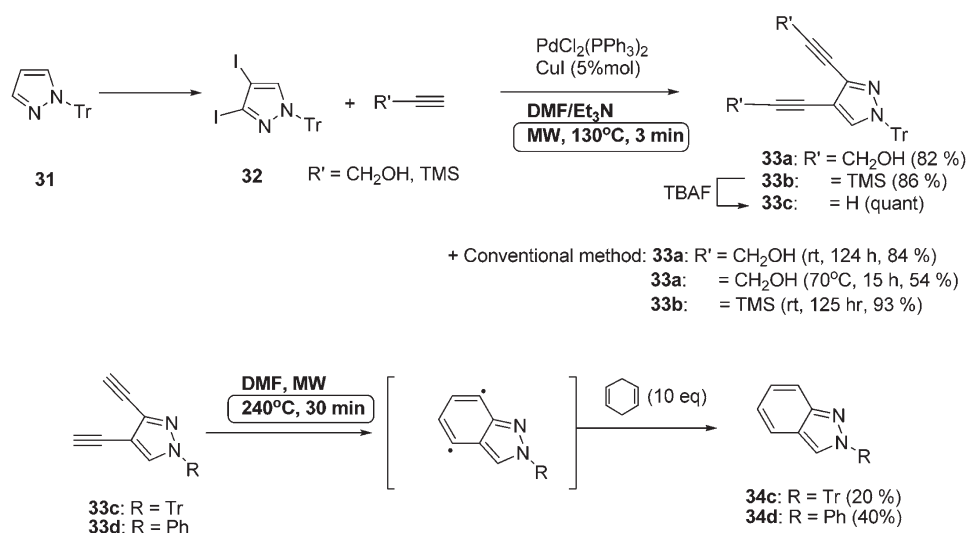


Fig. 23. Indazole Synthesis Using Double Sonogashira Coupling

withasomnine 類についてシクロオキシゲナーゼ (COX-1, 2) に対する酵素阻害活性試験を実施したところ, Ar=3-アミノフェニルのものに顕著な阻害活性 (IC<sub>50</sub>: 1.0×10<sup>-5</sup>, 2.7×10<sup>-6</sup>M) が認められ, これは非ステロイド性抗炎症剤・アスピリン (IC<sub>50</sub>: 4.6×10<sup>-5</sup>, 8.4×10<sup>-5</sup>M) を上回る結果となった。

## 8. ダブル園頭カップリングを用いるインダゾール類の合成

筆者らのピラゾールに関する MW 反応のもう 1 つの研究例としてダブル園頭カップリングを用いるインダゾール類の合成を挙げることにする (Fig. 23).<sup>25c)</sup> インダゾール骨格を含む化合物が様々な生理活性を示すことが知られており,<sup>28)</sup> その新規合成法の開発は重要である。1*H*-1-トリ

チルピラゾール (31) から誘導される 3, 4-ジヨード-1-トリチルピラゾール (32) とアルキン類とのダブル園頭カップリング反応を DMF 中, 室温で行ったところ, 33a を反応時間 124 時間で収率 84 %, 33b を 125 時間反応によって収率 93 % で得た。(また, 33a を得る反応で溶媒 DMF, 反応温度 70°C, 反応時間 15 時間において収率は 54 % であった。) これを MW 反応として行くと 130°C, わずか 3 分で 33a を収率 82 %, 33b を収率 86 % で得ることができ, 著しい反応時間の短縮に成功した。化合物 33b に TBAF に作用させることにより 2 つの TMS 基を外して得られたジイン 33c は, 1,4-シクロヘキセン存在下, DMF 中, 240°C, 30 分間, MW 照射を行うことによって Bergman-Masamune 環化反応を起こし, インダゾール 34c へと変換され (収率 20 %), また, 同様に 33d から 34d を収率 40 % で導くことができた。

## 9. おわりに

我々は、ここ数年、機能性分子の創製を目標に合成研究を続けてきた。本小文は、自分たちが実際に MW を用いた最近の反応例によって MW の有機合成反応の有用性を明らかとしたものである。MW 加熱の利点は、①反応時間の削減、②反応収率の向上、③副生成物の抑制、④立体異性選択性の変化、⑤廃棄物の削減などがある。ここでは、①～③に関して、充分理解していただけたいと思う。我々の研究は、MW を研究の中心としたものではなく、あくまでも加熱ツールとして日々の実験に使用している。そのため、MW の機能を充分理解していなかったり、あるいは不適切な反応例もあるならば識者のご指導を願いたい。MW の合成反応の全般については、MW の有機化学及びメディシナルケミストリーにおける優れた成書が最近も出版されているのでそちらを参照いただきたい。<sup>2)</sup>最後に、この小文が、これから MW を使用する方々の一助となるなら、それは筆者らの望外の喜びである。

最後に、機会ある毎に暖かく励ましていただいた大阪薬科大学、栗原拓史名誉教授及び名古屋市立大学、塩入孝之名誉教授に深く御礼を申し上げる次第です。

### REFERENCES

- 1) Harusawa S., Kawamura M., Araki L., Taniguchi R., Yoneyama H., Sakamoto Y., Kaneko N., Nakao Y., Hatano K., Fujita T., Yamamoto R., Kurihara T., Yamatodani A., *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 1245-1253 (2007).
- 2) Kappe C. O., Stadler A., and Dallinger D., "Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry," *Methods and Principles in Medicinal Chemistry* Vol. 52, eds. by Mannhold, R., Kubinyi, H., and Folkers, G., Wiley-VCH, 2012.
- 3) Araki L., Harusawa S., *YAKUGAKU ZASSHI*, **130**, 1707-1724 (2010), and references cited therein.
- 4) a) Harusawa S., Imazu T., Takashima S., Araki L., Ohishi H., Kurihara T., Yamamoto Y., Yamatodani A., *Tetrahedron Lett.*, **40**, 2561-2564 (1999); b) Harusawa S., Imazu T., Takashima S., Araki L., Ohishi H., Kurihara T., Sakamoto Y., Yamamoto Y., Yamatodani A., *J. Org. Chem.*, **64**, 8608-8615 (1999).
- 5) Hashimoto T., Harusawa S., Araki L., Zuiderveld O. P., Smit M. J., Imazu T., Takashima S., Yamamoto Y., Sakamoto Y., Kurihara T., Leurs R., Bakker R. A., Yamatodani A., *J. Med. Chem.*, **46**, 3162-3165 (2003).
- 6) Van der Goot, H., Schepers M. J. P., Sterk G. J., Timmerman H., *Eur. J. Med. Chem.*, **27**, 511-517 (1992).
- 7) Schwarz J.-C., *Br. J. Pharmacol.*, **163**, 713-721 (2011).
- 8) Yoneyama H., Shimoda A., Araki L., Hatano K., Sakamoto Y., Kurihara T., Yamatodani A., Harusawa S., *J. Org. Chem.*, **73**, 2096-2104 (2008).
- 9) 未発表データ。
- 10) Komeda S., Lin Y.-L., Chikuma M., *Chem. Med. Chem.*, **6**, 987-990 (2011).
- 11) Roh J., Artamonova, T. V., Vávrová, K., Koldobskii, G. I., Hrabálek, A., *Synthesis*, 2175-2178 (2009).
- 12) "Ribozymes and RNA Catalysis," Lilley D. M. J., Eckstein F., Eds., Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2008.
- 13) a) Araki L., Harusawa S., Yamaguchi M., Yonezawa S., Taniguchi N., Lilley D. M. J., Zhao Z., Kurihara T., *Tetrahedron Lett.*, **45**, 2657-2661 (2004); b) Araki L., Harusawa S., Yamaguchi M., Yonezawa S., Taniguchi N., Lilley D. M. J., Zhao Z., Kurihara T., *Tetrahedron*, **61**, 11976-11985 (2005); c) Araki L., Morita K., Yamaguchi M., Zhao Z., Willson T. J., Lilley D. M. J., Harusawa S., *J. Org. Chem.*, **74**, 2350-2356 (2009); d) Araki L., Zhao Z., Lilley D. M. J., Harusawa S., *Heterocycles*, **81**, 1861-1869 (2010); e) Harusawa S., Fujii K., Nishiura M., Araki L.,

- Usami Y., Zhao Z., Lilley D. M. J., *Heterocycles*, **83**, 2041-2055 (2011).
- 14) Zhao Z., McLeod A., Harusawa S., Araki L., Yamaguchi M., Kurihara T., Lilley D. M. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 5026-5027 (2005).
- 15) Willson T. J., Ouellet J., Zhao Z., Harusawa S., Araki L., Kurihara T., Lilley D. M. J., *RNA*, **12**, 980-987 (2006).
- 16) Willson T. J., McLeod A. C., Lilley D. M. J., *EMBO*, **26**, 2489-2500 (2007).
- 17) Harusawa S., Yoneyama H., Fujisue, D., Nishiura M., Fujitake, M., Usami Y., Zhao Z., McPhee, S. A., Willson T. J., Lilley D. M. J., *Tetrahedron Lett.*, **53**, 5891-5894 (2012)
- 18)a) Numata A., Iritani M., Yamada T., Minoura K., Matsumura E., Yamori T., Tsuruo T., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 8215-8218 (1997); b) Yamada T., Iritani M., Ohishi H., Tanaka K., Doi M., Minoura K., Numata A., *Org. Biomol. Chem.*, **5**, 3979-3986 (2007).
- 19)a) Usami Y., Mizuki K., *J. Nat. Prod.*, **74**, 877-881 (2011); b) Usami Y., Hatsuno C., Yamamoto H., Tanabe M., Numata A., *Chem. Pharm. Bull.*, **52**, 1130-1133 (2004); c) Usami Y., Ueda Y., *Synthesis*, 3219-3225 (2007); d) Usami Y., Horibe Y., Takaoka I., Ichikawa H., Arimoto M., *Synlett*, 1598-1600 (2006); e) Usami Y., Takaoka I., Ichikawa H., Horibe Y., Tomiyama S., Ohtsuka M., Imanishi Y., Arimoto M., *J. Org. Chem.* **72**, 6127-6134 (2007); f) Usami Y., Mizuki K., Ichikawa H., Arimoto M., *Tetrahedron: Asymmetry*, **19**, 1461-1464 (2008); g) Usami Y., Ohsugi M., Mizuki K., Ichikawa H., Arimoto M., *Org. Lett.*, 1598-1600 (2009); h) Usami Y., Suzuki K., Mizuki K., Ichikawa H., Arimoto M., *Org. Biomol. Chem.*, **7**, 315-318 (2009).
- 20) Song S., Jiang S., Singh G., *Tetrahedron: Asymmetry*, **14**, 2833-2838 (2003). (\*Retracted paper)
- 21) 宇佐美吉英, 岡田雄介, 鈴木健太郎, 藤野由依子, 日本薬学会第 130 年会講演要旨集 2, pp. 161, 岡山 (2010).
- 22)a) Schröter H.-B., Neumann D., Katrizky A, R., Swinbourne F. J., *Tetrahedron*, **22**, 2895-2897 (1966); b) Adesanya S. A., Nia R., Fontaine C., Paš M., *Phytochem.*, **35**, 1053-1055 (1994); c) Houghton P. J., Pandey R., Hawkes J. E., *Phytochem.*, **35**, 1602-1603 (1994); d) Aladesamni A. J., Nia R., Nahrstedt A., *Planta Med.*, **64**, 90-91 (1998); e) Ravikanth V., Ramesh P., Diwan P. V., Venkatewarlu Y., *Biochem. Syst. Ecol.*, **29**, 753-754 (2001); f) Wube A. A., Wenzig, E.-M. Gibbons S. A. K., Bauer R., Bucar F., *Phytochem.*, **69**, 982-987 (2008).
- 23)a) Hüller H., Peters R., Scheler W., Schmidt D., Stremmel D., *Pharmazie*, **26**, 361-364 (1971) ; b) Zubek A., *Pharmazie*, **24**, 382-384 (1969).
- 24) 宇佐美吉英, 市川隼人, 大阪薬科大学紀要, **6**, 71-84 (2012).
- 25)a) Ichikawa H., Ohno Y., Usami Y., Arimoto M., *Heterocycles*, **68**, 2247-2252 (2006); b) Ichikawa H., Nishioka M., Arimoto M., Usami Y., *Heterocycles*, **81**, 1509-1516 (2010); c) Ichikawa H., Ohfuné H., Usami Y., *Heterocycles*, **81**, 1651-1659 (2010); d) Usami Y., Ichikawa H., Harusawa S., *Heterocycles*, **83**, 827-835 (2011).
- 26)a) Ichikawa H., Watanabe R., Fujino Y., Usami Y., *Tetrahedron Lett.*, **52**, 4448-4451 (2011). b) Usami Y., Watanabe R., Fujino Y., Shibano M., Ishida C., Yoneyama H., Harusawa S., Ichikawa H., *Chem. Pharm. Bull.*, **60**, 1550-1560 (2012).
- 27) Ichikawa H., Usami Y., Arimoto M., *Tetrahedron Lett.*, **46**, 8665-8668 (2005).
- 28) Thangadurai A., Minu M., Wakode S., Agrawal S., Narasimhan B., *Med. Chem. Res.*, **21**, 1509-1523 (2012).