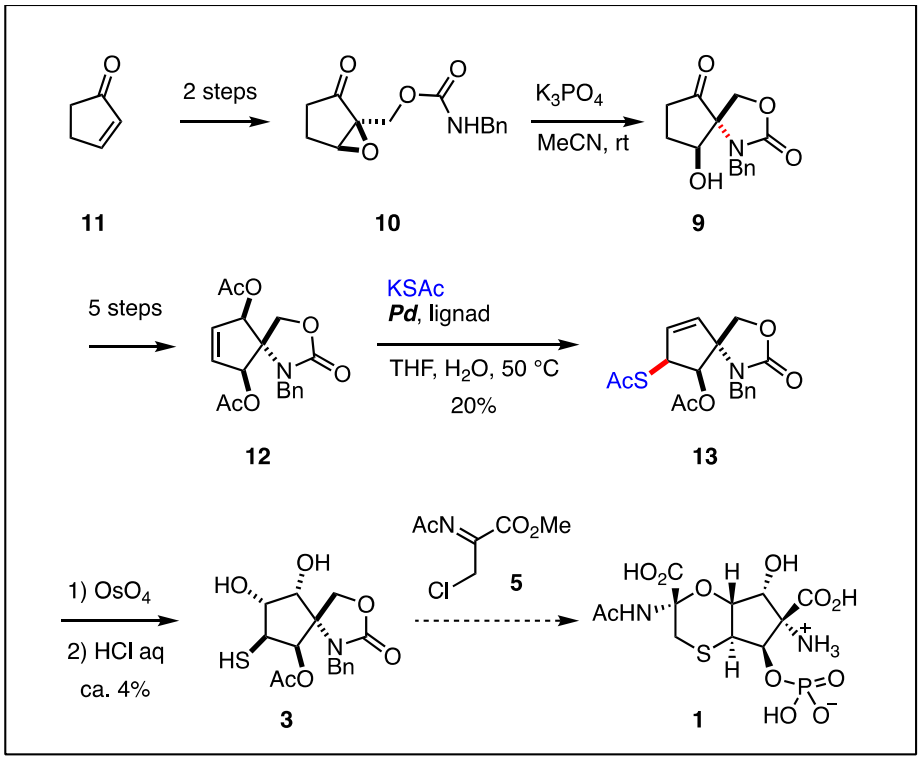
108　RNAポリメラーゼ阻害活性天然物の効率合成	大澤　歩

【目的】植物に対する細菌性毒素として単離された Tagetitoxin（TGT、**1**）は、ヌクレオチド三リン酸と非競合的に RNA ポリメラーゼ（RNAP）に結合することで転写過程にある複合体を安定化し、RNAP の機能を阻害する特異な活性を示すことから、その詳細な作用機序に興味が持たれるとともに、抗がん剤や抗菌薬としての利用が期待されている。一方、RNAP の基質となる核酸分子と TGT の化学構造を比較すると、5 員環部分に置換基の種類や立体配置に類似性が認められる。そこで本研究では、構造活性相関研究などへの利用を指向して、5 員環部分の誘導化が可能である効率合成法の開発を目的とし、TGT の全合成に取り組んだ。

【方法】5 員環部分の誘導化のために、以下の点を特徴とする合成戦略を立案した。すなわち、1. TGT の 1,4-オキサチアン環を合成の最終段階で構築し、5 員環部分を独立して修飾可能である点、2. あらかじめ構築した 5 員環炭素骨格に官能基を順次導入していくことで、5 員環上の官能基を適宜変更可能である点、および、3. 必要な官能基を順次導入していくと同時に、次の官能基化のための足掛かりを構築し、従来の合成法にみられるような酸化還元や保護基の脱着といった余分な工程を削減できる点である。これにより、反応剤を選択することで種々の官能基化が可能な「プログラム化された」誘導体合成が可能となる。

【結果】はじめに、市販のシクロペンテノン（**11**）を出発原料とし、2 工程でエポキシカーバメート **10** へと導いた。次に、得られた **10** をアセトニトリル中リン酸カリウムで処理すると、エポキシドの開環を伴う分子内求核置換反応が円滑に進行し、75%の収率で含窒素四置換炭素を有するヒドロキシケトン **9** を与えた。5 工程でメソ体のアリルビスアセテート **12** へと変換したのち、テトラヒドロフラン・水混合溶媒中、量論量のパラジウム錯体存在下、チオリン酸カリウムとともに 50℃に加熱すると、辻ーTrost 反応が進行し、ラセミ体のアリルチオアセテート **13** が低収率ながら得られた。次いで、オレフィン部位の酸化とで硫黄上のアセチル基の除去により 5 員環上の全ての不斉炭素中心を備えた中間体 3 の合成に成功した。

Tagetitoxin（**1**）の全合成および誘導化を指向した 5 員環中間体 3 の合成



108. RNA ポリメラーゼ阻害活性天然物の効率合成

大澤　歩

京都大学 大学院工学研究科 材料化学専攻 有機材料化学講座 天然物有機化学分野

Key words：RNA ポリメラーゼ阻害剤，Tagetitoxin，不斉非対称化

緒　言

RNA ポリメラーゼ（RNAP）は、全ての生物に共通して存在し、RNA の伸長反応（転写）を触媒する重要なタンパク質である。RNAP を阻害する低分子は、抗がん剤や抗菌・抗ウイルス剤として利用されている。植物に対する細菌性毒素である Tagetitoxin（TGT、**1**）（図 1）は、ヌクレオチド三リン酸と非競合的に RNAP に結合することで転写途中の複合体を安定化し、RNAP の機能を阻害する特異な活性を示すことから、その詳細な作用機序に興味が持たれてきた［1〜3］。しかしながら、TGT は官能基が密集した極めて複雑な分子構造ゆえ、単離されてから 40 年もの間、正確な分子構造すら明らかにされていなかった［2］。ごく最近、Baran らの全合成によって分子構造が完全に解明され、今後分子構造に基づいた作用機序解明および創薬研究への応用が大いに期待される［4］。また、X 線構造解析の結果から、TGT は RNAP の構造変化に重要なトリガーループ（TL）近傍に結合することが明らかとなっており、TGT が RNAP の構造変化へ関与する可能性にも興味が持たれる［5］。一方、TGT の全合成は、合成終盤に両鏡像異性体を分離して絶対立体配置の決定に利用する一例のみが知られているが、構造活性相関研究のための誘導化や大量供給に利用できる合成法が求められる。RNAP の基質となる核酸分子と TGT の化学構造を比較すると、5 員環部分に置換基の種類や立体配置に類似性が認められる。そこで本研究では、5 員環部分の誘導化が可能である効率合成法の開発を目指し、TGT の 5 員環部分の構築に成功したので報告する（図 1）。

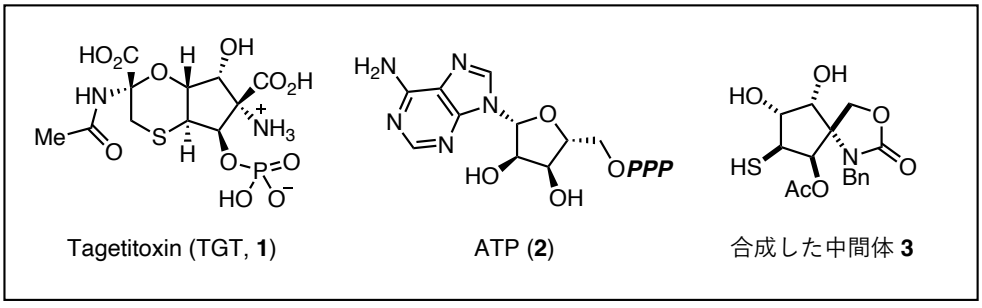


図 1. Tagetitoxin（TGT、**1**）、アデノシン三リン酸（ATP、**2**）および本研究で合成した化合物 **3** の化学構造
Tagetitoxin の 5 員環部分に着目すると、ATP の 5 員環部分の置換基の立体配置と類似性が見られる。

方　法

1. 合成計画

5 員環部分の誘導化のために、TGT の 1, 4-オキサチアン環を合成の最終段階で構築し、5 員環部分を独立して修飾可能な合成戦略を立案した（図 2）。まず、TGT の保護体 **4** の 1,4-オキサチアン環部はヒドロキシチオール **6** とクロロイミノエステル **5** を用いるアニュレーションによって一段階で構築できると考え、5 員環上の全ての不斉炭素中心を備えた **6** を鍵中間体として設定した。したがって、**6** の 5 員環上の官能基を適宜変更することで、簡便に誘導化が可能とな

るが、この目的のためには、5 員環炭素骨格をあらかじめ構築したのちに、官能基を順次導入していく手法が有効である。そこで、**6** の *cis*-1,2-ジオール部分は、オキサチアホスホラン環を含む 3 環性中間体 **7** のオレフィン部の酸化によって得られるものとし、**7** はアリルチオリン酸エステル **8** のカルボニル基をシリルトリフラートで活性化することで、C–S 結合の形成を伴う環化反応により立体選択的に合成できると期待した。**8** は含窒素四置換炭素を有するヒドロキシケトン **9** の変換によって導けると考えられる。**9** の含窒素四置換炭素は、エポキシドの開環を伴う分子内置換反応により、エポキシカーバメート **10** から立体選択的に構築できると予想した。このように、必要な官能基を順次導入していくと同時に、次の官能基化のための足掛かりを構築する戦略をとることで、官能基化を連続して行うことができるため、従来の合成法にみられるような酸化還元や保護基の脱着といった余分な工程を削減できる。さらに、導入済みの官能基を利用して高い立体選択性が期待できることに加え、シンプルな反応を組み合わせることで幅広い種類の官能基化へ適用可能となる。すなわち、反応剤を選択することで種々の官能基化が可能な「プログラム化された」誘導体合成が可能となる。

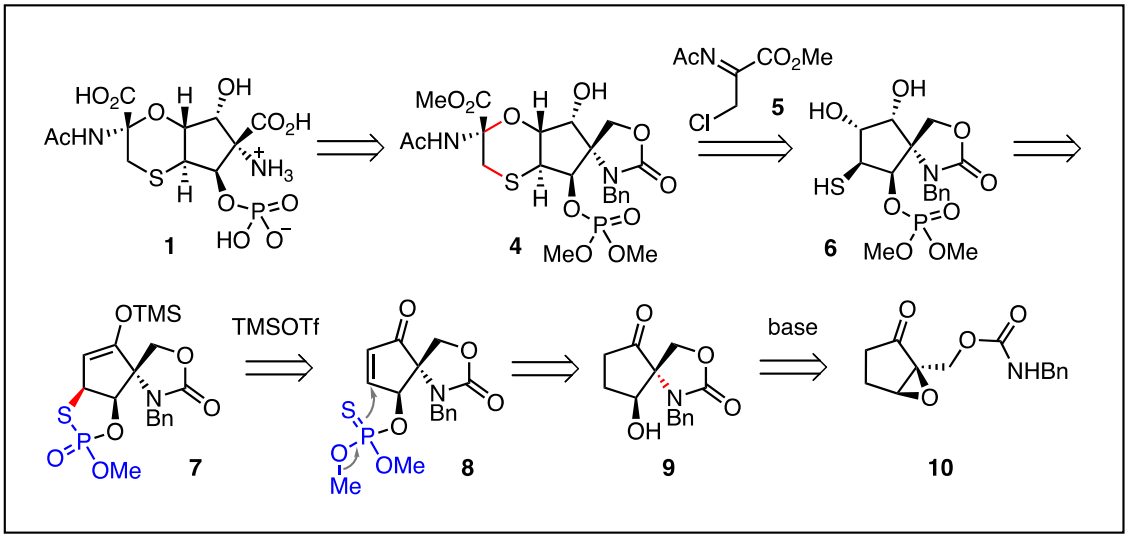


図 2.　Tagetitoxin の合成戦略

5 員環上置換基の誘導化を指向した Tagetitoxin の逆合成解析。

結果および考察

1.　含窒素四置換炭素の構築とチオリン酸エステル化

はじめに、市販のシクロペンテノン（**11**）を出発原料とし、2 工程でエポキシカーバメート **10** へと導いた。次に、得られた **10** をアセトニトリル中リン酸カリウムで処理すると、エポキシドの開環を伴う分子内求核置換反応が円滑に進行し、75%の収率で含窒素四置換炭素を有するヒドロキシケトン **9** を与えた。この時、塩基の選択が収率と再現性にきわめて重要であり、カリウム *tert*-ブトキシドなどの強塩基を用いると、基質は速やかに消失するものの収率が低下するか目的物は全く得られなかった［6］。この原因は、環化によって生じる **9** のアルコキシド体からレトロアルドール反応を経由する分解反応が進行したためと考えており、リン酸カリウムを用いた場合には、アルコキシドの速やかなプロトン化が進行したと考えられる。なお、生成物の構造は単結晶 X 線構造解析によって決定した。次に、得られた **9** のエノンへの酸化と水酸基のチオリン酸化を経て、チオリン酸エステル **8** の合成を試みた。しかしながら、種々の条件と合成経路を検討したものの、望む 8 は全く得られなかったため、チオリン酸エステルを経由する当初の合成計画を変更することとした。

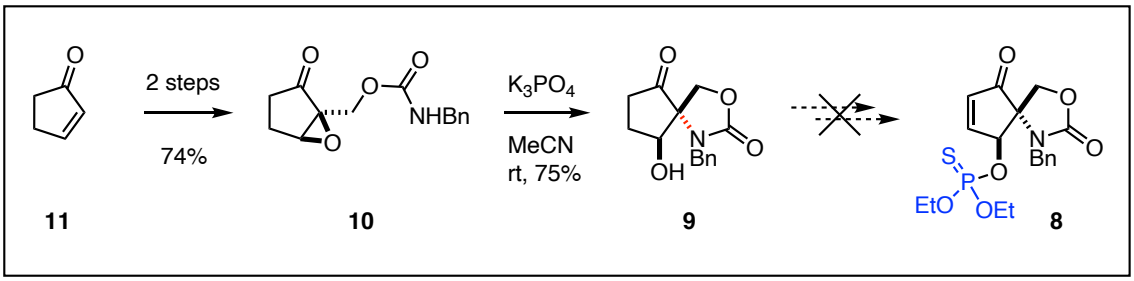


図 3. 含窒素四置換炭素の構築とチオリン酸エステルへの変換

エポキシドの開環を伴う分子内置換反応による含窒素四置換炭素の構築と、続くチオリン酸エステルへの変換の試み。

2. 不斉非対称化を利用した新規合成計画

新たに、辻ーTrost 反応による不斉非対称化を利用する合成計画を立案した（図 4）[7, 8]。すなわち、メソ体のアリルビスアセテート **12** に対し、不斉パラジウム触媒を作用させると、一方のアセトキシ基がエナンチオ選択的に脱離し、キラルなπアリルパラジウム中間体 **A** が生じる。続くチオアセテートイオンの求核攻撃では、位置選択性が問題となるが、立体的障害の大きい四置換炭素を避けるように反応が進行することで、望むアリルチオアセテート **13** が得られると考えた。

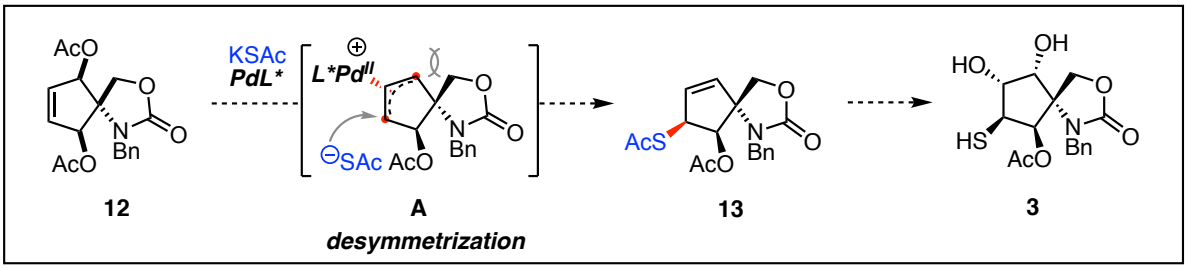


図 4. パラジウム触媒による不斉非対称化を利用する合成計画

不斉パラジウム触媒を用いた辻ーTrost 反応による不斉非対称化。

3. 非対称化による 5 員環部の不斉炭素中心の構築（ラセミ体による検討）

先に合成したヒドロキシケトン **9** から 5 工程でメソ体のアリルビスアセテート **12** へと変換した（図 5）。得られた **12** を、テトラヒドロフラン・水混合溶媒中、量論量のパラジウム試薬および配位子の存在下、チオリン酸カリウムとともに 50℃に加熱すると、望む辻ーTrost 反応が進行し、ラセミ体のアリルチオアセテート **13** が低収率ながら得られた。なおこの時、四置換炭素の隣接位で置換反応が進行した位置異性体 **14** は全く観測されなかった。

次に **13** のオレフィン部位を四酸化オスミウムで酸化し立体選択的に *cis*-1,2-ジオールとしたのち、塩酸で処理することで硫黄上のアセチル基のみが除去されたヒドロキシチオール **3** を与えた。このように、5 員環上の全ての不斉炭素中心を備えた中間体 **3** の合成に成功した。現在、不斉配位子を用いた不斉非対称化ならびに、**3** とクロロイミノエステル **5** の反応を検討しており、TGT へと導く計画である。

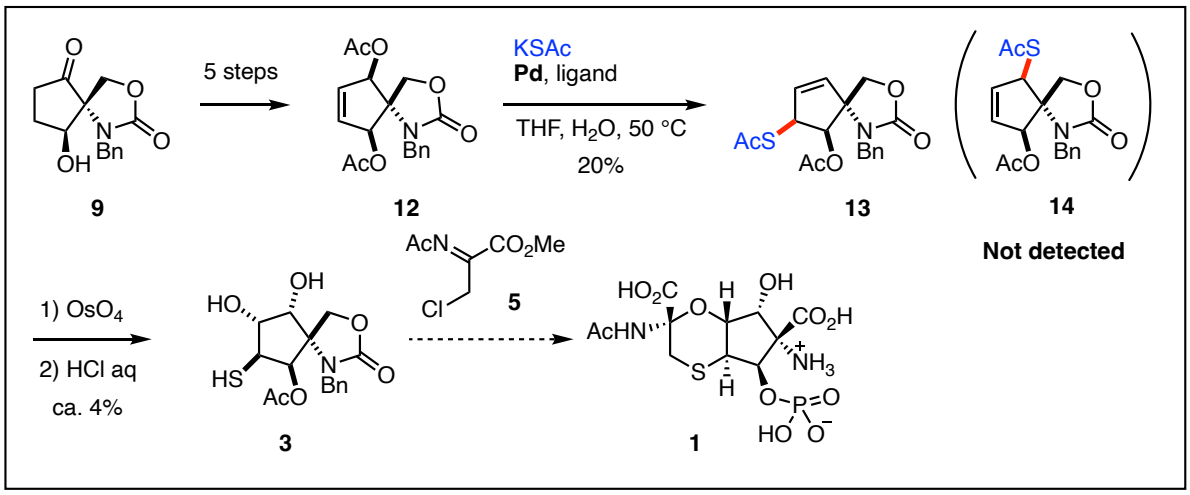


図 5. ラセミ体での非対称化と中間体 **3** の合成

パラジウム錯体を用いたメソ化合物の非対称化による硫黄官能基の導入と続く骨格の酸化。

共同研究者・謝辞

本研究は、京都大学大学院工学研究科中尾研究室で行われたものであり、中尾教授と学生諸氏に深く感謝申し上げる。

文　献

1) Mitchell RE, Durbin RD. Tagetitoxin, a toxin produced by Pseudomonas syringae pv, tagetis: purification and partial characterization. Physiol Plant Pathology. 1981;18(2):157–168. DOI: 10.1016/s0048-4059(81)80037-9

2) Aliev, AE, Karu K, Mitchell RE, Porter MJ. The Structure of Tagetitoxin. Org Biomol Chem. 2015;14(1):238–245. PMID: 26517805 DOI: 10.1039/c5ob02076j.

3) Yuzenkova Y, Roghanian M, Bochkareva A, Zenkin N. Tagetitoxin Inhibits Transcription by Stabilizing Pre-Translocated State of the Elongation Complex. Nucleic Acids Res. 2013;41(20):9257–9265. PMID: 23935117 DOI: 10.1093/nar/gkt708.

4) He C, Chu H, Stratton TP, Kossler D, Eberle KJ, Flood DT, Baran PS. Total Synthesis of Tagetitoxin. J Am Chem Soc. 2020;142 (32):13683–13688. PMID: 32687336 DOI: 10.1021/jacs.0c06641.

5) Artsimovitch I, Svetlov V, Nemetski SM, Epshtein V, Cardozo T, Nudler E. Tagetitoxin Inhibits RNA Polymerase through Trapping of the Trigger Loop. J Biol Chem. 2011;286(46):40395–40400. PMID: 21976682 DOI: 10.1074/jbc.M111.300889.

6) Minami N, Ko SS, Kishi Y. Stereocontrolled Synthesis of D-Pentitols, from D-Glyceraldehyde Acetonide. J Am Chem Soc. 1982;104(4):1109–1111. DOI: 10.1021/ja00368a040.

7) Trost BM, Vranken DLV, Bingel C. A Modular Approach for Ligand Design for Asymmetric Allylic Alkylations via Enantioselective Palladium-Catalyzed Ionizations. J Am Chem Soc. 1992;114(24):9327–9343. DOI: 10.1021/ja00050a013.

8) Divekar S, Safi M, Soufiaoui M, Sinou D. Palladium-Catalyzed Synthesis of Allylic Thioacetates. A Convenient Access to Allylic Thiols. Tetrahedron. 1999;55(14):4369–4376. DOI: 10.1016/S0040-4020(99)00129-5.