

学 位 論 文 題 名

新規イミダゾール，イミダゾアゼピン及び

デアザプリンヌクレオシド類の合成

— プリンヌクレオチド生合成阻害剤の分子設計 —

学位論文内容の要旨

がんやウイルス感染症の制圧を目的とした化学療法剤の開発は今なお、あらゆる分野からのアプローチが続けられており、核酸化学の領域においても核酸系代謝拮抗剤という立場からその開発に古くから取り組んできている。しかしこの分野においても特効薬と呼ぶに相応しい薬物を得るには至っておらず、これまでに集積されたがん細胞やウイルスに関する知識に基づきさらに優れた核酸塩基やヌクレオシド誘導体の合成が必要とされている。

がんやウイルスの増殖を効果的に抑制しようとする場合、標的となる酵素の一つにプリンヌクレオチド *de novo* 合成経路中のIMP デヒドロゲナーゼ (IMPDH) があげられる。この酵素はグアニンヌクレオチドの代謝調節を行なう重要な酵素であり、増殖の速いがん細胞においてはこの酵素活性が正常細胞と比較して10倍以上になっていることが報告されている。またウイルス感染症、とくに未だ効果的な治療薬の少ないRNAウイルスに対してもIMPDH阻害剤は優れた活性を示すことが知られている。

一方、グアニンヌクレオチドの代謝調節にたずさわるもう一つの酵素であるGMP シンターゼについてはその阻害剤の報告がほとんど行なわれていないのが現状である。

著者はプリンヌクレオチド生合成経路の中で重要な両酵素の新規阻害剤の合成を目的として本研究を開始し、5-アルキニルイミダゾールヌクレオシド類、及び6-hydroxy-1- β -D-ribofuranosyl-5,6-dihydroimidazo[4,5-c]azepin-4(1*H*)-one (**6**)をそれぞれIMPDH、及びGMP シンターゼ阻害剤としてデザインし、その合成を天然ヌクレオシドである5-amino-4-imidazolecarboxamide riboside (**1**)を共通の出発原料として行なうことを計画した。

目的とした化合物を合成するためには**1**より得られる5-iodo-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (**2**)に対してパラジウム触媒を用いた炭素-炭素結合成を行えばよいと考えられる。さらにこの方法によりイミダゾール5位での炭素官能基化の方法が確立できれば3-デアザグアノシン (**3**)の改良合成法も確立できると考えた。**3**は既知化合物であるが、本研究で著者が標的酵素としたIMPDHを阻害し、広範囲な抗ウイルス活性を示すことから注目されている化合物である。しかしその合成法に関してはグリコシル化法が主流であり、簡便な合成法は報告されておらず、**1**からの改良合成に関する研究も併せて行なった。

まずヨード体 **2** は**1**の糖部水酸基をアセチル化後、ジヨードメタン中亜硝酸イソアミルと処理

し2行程 (69%)で合成した。

末端アセチレン類とのクロスカップリングについては条件を検討した結果、ガラス封管中、 $(\text{PhCN})_2\text{PdCl}_2$ を用いアセトニトリル溶媒で100℃で行なった場合最もよい結果を与え、5-(3-hydroxy-1-propyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (**4**)をはじめとし、各種の5-アルキニルイミダゾールヌクレオシドを合成した。しかしTMSアセチレンとの反応では1,2-bis[4-amide-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazol-5-yl]acetyleneが得られるのみであった。そこで5-(2-trimethylsilyl-1-ethyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (**5**)についてはtrimethyl[(tributylstannyl)ethynyl]silaneを用いて塩基非存在下で反応を行ない合成した。以上合成した5-アルキニル体はメタノール性アンモニアにより糖部保護基を除去した。

合成した5-アルキニルイミダゾールヌクレオシド類の中で特に5-ethynyl-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (EICAR)に白血病細胞のみならず固形がん細胞に対しても非常に優れた細胞増殖抑制活性が観察された。またEICARは種々のRNAウイルスに対しても*in vitro*で、現在臨床使用されているribavirinの10~100倍の阻害活性を示した。

著者はEICARの作用機序解明の一助としてEICARデオキシ誘導体、ならびにアグリコンの合成も行なった。さらに種々の5位炭素置換イミダゾール誘導体を合成し構造活性相関を検討した。

一方、GMP シンターゼ阻害剤としてデザインした**6**は以下の方法で合成した。(E)-1-tributylstannylprop-1-en-3-olを**2**とカップリングさせ (E)-5-(3-hydroxy-1-propenyl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (**7**)を合成した。**7**はジオメトリーを保持したままBaMnO₄による酸化、糖部水酸基の脱保護を行ない、さらに高圧水銀ランプによる光照射を行ない**6**を合成した。

また**3**の合成についてはさきに合成したEICARより合成した。即ち、EICARの糖部水酸基を*tert*-ブチルジメチルシリル基で保護した後、含水エタノール中ジメチルアミンと処理し、続いてヒドロキシアミンを作用させ5-(2-hydroxyiminoethyl)-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (**8**)を合成した。**8**はフェニルイソシアネートを用いて脱水、閉環を行ない、糖部シリル基を除去し**3**へと変換した。併せて著者は3-デアザ-イノシン、-アデノシンの合成も行なった。

さらに著者は合成した3-デアザプリンヌクレオシドの塩基部3位にハロゲンを導入した化合物の合成を行なった。この化合物はNMR実験の結果からグリコシル結合回りのコンホメーションが*anti*配座を優先している化合物であることが明かとなった。著者はハロゲン体の中で3-クロロ-3-デアザグアノシンを2',3'-環状リン酸体に変換し、RNase T₁との相互作用の検討を行ない、その結果から3-デアザプリンヌクレオシドの塩基部3位にハロゲンを導入した化合物がグリコシル結合回りのコンホメーションが*anti*配座に固定されたモデル化合物として非常に有用であることを見いだした。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 松 田 彰
副 査 教 授 大 塚 栄 子
副 査 助 教 授 周 東 智
副 査 助 教 授 井 上 英 夫

学 位 論 文 題 名
新規イミダゾール、イミダゾアゼピン及びデアザプリン
ヌクレオシド類の合成
ープリンヌクレオチド生合成阻害剤の分子設計ー

がんやウイルス感染症の制圧を目的とした化学療法剤の開発は極めて重要な課題である。申請者はプリンヌクレオチド *de novo* 合成経路の中でグアニンヌクレオチドの代謝調節を行なうIMP デヒドロゲナーゼ およびGMP シンターゼの新規阻害剤の合成を天然ヌクレオシドである 5-amino-4-imidazolecarboxamide riboside (AICAR)を共通の出発原料として行なった。

(1) 5-アルキニルイミダゾールヌクレオシド類の合成と生物活性

AICARの糖部水酸基をアセチル化後、ジヨードメタン中亜硝酸イソアミルと処理し 5-iodo-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (1)を合成した。末端アセチレン類とのクロスカップリングは、 $(\text{PhCN})_2\text{PdCl}_2$ を用いアセトニトリル中で100°Cで行なった場合最もよい結果を与えた。この条件下、各種5-アルキニルイミダゾールヌクレオシドを合成することに成功した。また、5-(2-trimethylsilyl-1-ethyn-1-yl)-体の合成は trimethyl[(tributylstannyl)ethynyl]silaneを用い塩基非存在下で行なった。以上合成した5-アルキニル体はメタノール性アンモニアにより脱保護基した。

合成した5-アルキニルイミダゾールヌクレオシド類の中で特に5-ethynyl-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (EICAR)に白血病細胞のみならず固形がん細胞に対しても非常に優れた細胞増殖抑制活性が観察された。また EICARは種々のRNAウイルスに対しても *in vitro*で、現在臨床使用されている ribavirinの10~100倍の阻害活性を示した。これらの作用が、IMP デヒドロゲナーゼの阻害に基づくことも明らかにした。

(2) イミダゾアゼピンヌクレオシドの合成

GMP シンターゼ阻害剤としてデザインした 6-hydroxy-1- β -D-ribofuranosyl-5,6-dihydro-imidazo[4,5-*c*]azepin-4(1*H*)-one (2)は以下の方法で合成した。

(*E*)-1-tributyl-stannylprop-1-en-3-olを1とカップリングさせ(*E*)-5-(3-hydroxy-1-propenyl-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (3)を合成した。3はジオメトリーを保持したままBaMnO₄による酸化、糖部水酸基の脱保護を行なった後に高圧水銀ランプによる光照射を行ない2に変換した。

(3) 3-デアザプリンヌクレオシド類の合成

イミダゾール5位のアセチレン部分を用いて3-デアザプリンヌクレオシド類の合成を行なった。さきに合成したEICARの糖部水酸基をシリル保護した後含水エタノール中ジメチルアミンと処理し、続いてヒドロキシアミンを作用させ5-(2-hydroxyiminoethyl)-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (4)を合成した。4の脱水、閉環反応を行ない、糖部シリル基を除去し3-デアザグアノシンへと変換した。同様な方法を用いて3-デアザイノシン、-アデノシンの合成も行なった。3-デアザプリンヌクレオシドはいずれも既知化合物であるが広範囲な抗ウイルス活性を示すことから注目されている化合物である。本合成法は従来の合成法に比して短工程かつ糖部変換体にも応用可能な優れた方法と言える。

(4) 3-ハロゲノ-3-デアザプリンヌクレオシドの立体構造解析とRNase T₁との相互作用

3-デアザプリンヌクレオシドの塩基部の化学反応性についてはほとんど知られていない。3-デアザプリンヌクレオシド類にN-ハロゲノスクシイミドを作用させると収率良く3位ハロゲノ体が合成できることが明らかになった。NMR実験から、3-位ハロゲノ置換基の立体障害によりグリコシル結合回りのコンホメーションがanti配座を優先していることが明らかになった。ハロゲノ体の中で3-クロロ-3-デアザグアノシンを2',3'-環状リン酸体に変換し、RNase T₁との相互作用を検討した。本化合物はグリコシル結合回りのコンホメーションがanti配座に固定されたモデル化合物として非常に有用であることを見いだした。

以上のように本研究は、プリンヌクレオチド生合成に関与する酵素阻害剤の分子設計を行ないAICARからの合成を達成するとともに、その作用がIMPデヒドロゲナーゼの阻害に基づくことを明らかにした。さらに、EICAR誘導体から3-デアザプリンヌクレオシドへの新しい合成法を確立し、博士(薬学)の学位を授与するに足る内容を持つものと認定した。