

博士(薬学) 野々村 正彦

学位論文題名

ディールス-アルダー反応を用いる
双環糖アデノシン誘導体の合成研究

学位論文内容の要旨

cAMPは細胞内セカンドメッセンジャーであり、細胞外の情報を細胞内に伝達し、細胞応答を引き起こす。一方、cAMPはその役割を終えると直ちにホスホジエステラーゼ(PDE)によって5'-AMPへ加水分解され、不活性化される。従ってPDEを特異的に阻害することができれば、cAMPを介する様々な薬理作用が期待できる。

近年、オクトシル酸、グリゼオール酸等のPDE阻害作用を有するスクレオシドアナログが天然より単離されている。これらは通常のスクレオシド糖部に第二の環が縮合し、その環上にカルボキシル基を有している。これらはその骨格構造からcAMPの炭素アナログであり、第二の環上に存在するカルボキシル基の負電荷がcAMPリン酸部に相当すると考えられている。グリゼオール酸に関しては糖部の化学修飾が盛んに行われ、そのPDE阻害活性発現には2つのカルボキシル基、特に7'-位カルボキシル基が必須であることが明らかにされた。この知見を基に著者は新規PDE阻害剤として双環糖アデノシンである(3S, 4S, 6R, 7R, 8S)-3,4-dicarboxy-7-hydroxy-8-(adenin-9-yl)-9-oxabicyclo[4.3.0]-nona-1-ene(1)と(3R, 4S, 6R, 7R, 8S)-3,4-dicarboxy-7-(hydroxy)-8-(adenin-9-yl)-9-oxabicyclo[4.3.0]-nona-1-ene(2)を設計した。これらは2つのカルボキシル基が自由度の少ないシクロヘキセン環上にvicinalの置換様式で存在するため、その α -位の立体配置に依存して空間的に固定される。従って、2つのカルボキシル基の様々な立体配置を有する誘導体を合成することで、PDEとの結合に好適な化合物を見いだせるものと推定した。さらに、cAMPはPDEと相互作用する際、グリコシル結合回りの配座がアンチ型を取っていると推定されていることから、1、2をアンチ配座に固定したS-シクロ型化合物(3S, 4S, 6R, 7S, 8S)-3,4-dicarboxy-7,8'-epithio-8-(adenin-9-yl)-9-oxabicyclo[4.3.0]-nona-1-ene(3)と(3R, 4S, 6R, 7S, 8S)-3,4-dicarboxy-7,8'-epithio-8-(adenin-9-yl)-9-oxabicyclo[4.3.0]-nona-1-ene(4)はさらに強力なPDE阻害活性が期待できると考え、合わせて合成することにした。

これら標的化合物(1-4)はcAMP類似の構造を有する。従って、4S、6Rの立体配置のものを選択的に合成しなければならない。著者は双環糖部をアデノシン由来のジエンを用いるDiels-Alder反応により一挙に構築することにした。

Diels-Alder反応を行う際、3つの立体選択性、即ち、位置選択性、endo/exo選択性及び面選択性が問題となるが、特にこの系では、面選択性を解決することが重要と考えられ、ジエン体に対して塩基部と同じ側を β -面、逆面を α -面とすると、ジエノフィルの付加を α -面から進行させることができれば目的とする α -付加体が得られる。糖ジエンのDiels-Alder反応については多く

の報告があるが、その面選択性はジエンの立体障害に依存することが知られている。スクレオシド糖部でのDiels-Alder反応は報告例がないが、近年Diels-Alder反応の立体制御に関する有用な知見が種々報告されており、反応条件を検討することで著者の系においても立体選択性の問題を解決することができるものと考えた。望みのDiels-Alder付加体(α -endo体)が得られれば、3位カルボキシル基の異性化により種々の立体配置を有する目的の双環性アデノシン誘導体に変換できるものと考えた。

まず、 N^6 -benzoyl-2',3'-O-isopropylideneadenosineより導いた(2S, 3R)-2-(N^6 -benzoyl-adenine-9-yl)-3-(tert-butyldimethylsilyloxy)-4-[(E)-2-methoxycarbonyl]-2,3-dihydrofuran(5)をジエンとして用い、無水マレイン酸とトルエン中で2時間加熱還流した結果、5は一般に知られている糖ジエンの場合ほど反応性が高くなかったので、100当量のジエノフィルを用いて加熱条件下でのDiels-Alder反応を検討した。ジエノフィルとしては、無水マレイン酸、N-エチルマレイミド、マレイン酸ジエチル、フマル酸ジエチル及びアクリル酸メチルを用いてそれらの立体選択性を検討した。そのうち、標的化合物を得るのに必要なアクリル酸メチルとの反応では、79%の環化付加体を得ることができた。得られた環化付加体は4種の異性体混合物(α -endo、 α -exo、 β -endo、 β -exo体)であることがわかった。立体構造はNOESYスペクトルにより決定した。ルイス酸存在下では反応が進行しなかった。

加熱条件下ではDiels-Alder反応産物の生成は確認されたものの、exo体の生成が著しく選択的に α -endo体を得ることができなかつた。これらを抑えることを期待して、最近Diels-Alder反応において収率、選択性の向上に有効であることが報告されている超高压下での反応を検討した。DMSO中5とアクリル酸メチルとの反応を室温下、1.1万気圧で行うと91%の高収率で環化付加体が得られた。また、得られた環化付加体はendo体のみであり、 α -endo体(6)と β -endo体が1対1の比で生成し、面選択性はないものの90%以上の高収率で目的とする環化付加体を得ることができた。

このように得たDiels-Alder反応の α -endo体(6)について、その3位の異性化を検討した。さらに、(2S, 3R)-2-(adenine-9-yl)-3-(tert-butyldimethylsilyloxy)-4-[(E)-2-methoxycarbonyl]-2,3-dihydrofuran(7)のDiels-Alder反応によって得た α -endo体(8)を加水分解し、目的とする1、2を得た。また、8と同時に生成した β -endo体(9)も加水分解し、立体配置の異なる双環糖アデノシン10、11を得た。同様の手法を用いてS-シクロ型化合物3、4の合成も行った。

最後に、合成した双環糖アデノシン(1、2、3、4、10、11)のPDE阻害活性を検討したが、残念ながら期待した活性を有するものを見いだすことはできなかつた。しかし、これらはグリゼオール酸の糖部誘導体として現在知られている化合物とは骨格の異なるシクロヘキセン誘導体であり、グリゼオール酸の合成展開に一石を投じることができたと考えている。

学位論文審査の要旨

主査 教授 松田 彰
副査 教授 橋木 俊一子
副査 助教授 周東 夫
副査 講師 中島 誠

学位論文題名

ディールス-アルダー反応を用いる 双環糖アデノシン誘導体の合成研究

cAMPは細胞内セカンドメッセンジャーであり、細胞外の情報を細胞内に伝達し、細胞応答を引き起こす。一方、cAMPはその役割を終えると直ちにホスホジエステラーゼ（PDE）によって5'-AMPへ加水分解され、不活性化される。従ってPDEを特異的に阻害することができれば、cAMPを介する様々な薬理作用が期待できる。申請者は上記の考えのもとに新規PDE阻害剤として分子中にcAMPのリン酸の負電荷に対応するカルボキシル基を持つ双環糖アデノシン誘導体を分子設計しアデノシンを出発原料としディールス-アルダー反応を用いて効率的な合成法を確立した。

1) 糖部にジエン構造を持つアデノシン誘導体の合成

分子設計した化合物を効率良く合成するには糖部にジエン構造を持つアデノシン誘導体を合成し、それに対してディールス-アルダー反応を行えば良いと考えられた。この際、目的とする化合物を得るにはジエノフィルが糖部ジエンの α -面から環化付加しなければならない。糖ジエンに対するディールス-アルダー反応は数多く知られており、その選択性についても保護基の立体障害で理解できる場合が多いが、スクレオシド糖部での反応は報告例がなく、まず基礎的な検討から始める必要があった。そこで、アデノシンの糖部を適当に保護した後、5'-水酸基を酸化し

methoxycarbonylmethylenetriphenylphosphoraneを作用させ、さらに塩基で処理し目的としたジエン体（1）を合成した。さらに、ディールス-アルダー反応の面選択性を検討するために8,2'-シクロアデノシンから同様の条件下で糖部ジエン体（2）も合成した。

2) ジエン体に対する種々のジエノフィルの熱的条件下での反応

ジエン体（1）に対し無水マレイン酸、N-エチルマレイミド、マレイン酸ジエチル、フマル酸ジエチル及びアクリル酸メチルを用いトルエン中で加熱し、それらの反応の立体選択性を検討した。無水マレイン酸との反応では望みとする α -endo体のみ得られたが、N-エチルマレイミドの場合は β -endo体と β -exo体の混合物が得られた。マレイン酸ジエチルの場合は環化付加体は得られず、フマル酸ジエチルとの反応では環化付加体が得られるものの β -付加体のみであった。一方、標的化合物を得るのに必要なアクリル酸メチルとの反応では、環化付加体は得られたが4種の異性体の混合物（ α -endo、 α -exo、 β -endo、 β -exo体）であることがわかった。しかし、ジエン体（2）との反応では予想どおりendo体のみが生成したが面選択性は見られなかった。このように熱的条件下での反応では生成物の熱力学的不安定さからレトロディールス-アルダー反応が起こり混合物や望みとしない立体化学を持つ化合物を与えることが明らかになった。

3) ジエン体に対する種々のジエノフィルの超高压下での反応

加熱条件下では環化反応産物の生成は確認されたものの、exo体の生成が著しく選択的に α -endo体を得ることができなかつた。そこで、最近、ディールス-アルダー反応で収率、選択性の向上に有効であることが報告されている超高压下での反応を検討した。DMSO中ジエン1とアクリル酸メチルとの反応を室温下、1.1万気圧で行うと91%の高収率で環化付加体が得られた。また、得られた環化付加体はendo体のみであり、 α -endo体と β -endo体が1対1の比で生成し、面選択性はないものの90%以上の高収率で目的とする環化付加体を得ることができた。一方、同様の条件下、ジエン2を用いた場合には目的とする α -endo体のみが選択的に得られた。

4) 保護基の除去と6'-位の立体化学の反転

3で述べた方法により合成した α -endo体について、6'-位の異性化および脱保護を検討し、当初予定したすべての化合物をNa塩として単離精製した。これらについてイヌ気管から精製したIII型PDEに対する阻害活性を検討した。一部の化合物について10 μ Mの濃度で活性が認められたが対照薬に比べ強いものではなかつた。

以上のように本研究ではヌクレオシド糖部ジエン体を合成しディールス-アルダー反応の選択性を熱的条件下、超高压条件下で検討し、環化付加体の選択性について明らかにした。今回合成した化合物にPDE阻害活性が認められなかつたものの、ヌクレオシド糖部ジエン体に対するディールス-アルダー反応は本研究が初めてであり、その合成的意義は大きく博士（薬学）の学位を授与するに足る内容を持つもの認定した。