

学 位 論 文 題 名

Studies on the Regio and the facial-selectivities of Nucleophilic Substitution and Addition Reactions at the 2' and 3'-Positions of 2'-Deoxy-2'-methylene Pyrimidine Nucleosides

2' -デオキシ-2' -メチレンピリミジンヌクレオシド類の2' -または3' -位への求核置換および付加反応における位置および面選択性に関する研究

学位論文内容の要旨

Abstract

This thesis is divided into two parts dealing with developments of new strategies for the synthesis of sugar modified nucleosides as potential antitumor and antiviral agents. The first part consists of studies on the chemical reactivity of the allyl alcohol moiety of 2'-deoxy-2'-methylenecytidine (DMDC), a potent antitumor agent, and the utilization of the observed regioselectivity of nucleophilic substitution reactions for the synthesis of analogues of DMDC. Namely, (3'*S*)-3'-amino-2',3'-dideoxy-2'-methylene pyrimidines, (3'*R*) and (3'*S*)-2',3'-dideoxy-3'-fluoro-2'-methylene pyrimidines, and 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-2'-*C*-fluoromethyl pyrimidine nucleosides. In the second part, a practical methodology for the geometrical conversion of the easily accessible (*Z*)-2'-cyanomethylene-2'-deoxy pyrimidine nucleosides into their *E*-congeners was addressed. The efficacy of this methodology was verified and utilized to convert (*Z*)-2'-*tert*-butoxycarbonylmethylene-2'-deoxy-uridines into their *E*-congeners.

Part I: It was envisioned that DMDC exhibits its antitumor effects by the consequences of the incorporation of its 5'-triphosphate derivative (DMDC-TP) into DNA. That is, the structural features of the resulting allyl phosphate ester would result in: 1) An intramolecular rearrangement of the allyl phosphate moiety would lead to a structural changes of the DNA strand. 2) An intermolecular nucleophilic attack at the terminus of the *exo*-methylene group of the allyl phosphate ester (assuming that an Enz-SH or Enz-NH₂ would attack in an S_N2' manner), and consequently result in a chain termination of the DNA strand. To verify the aforementioned proposed mechanism: first; the mode of reaction of the probes; 2'-deoxy-2'-methylene-5'-*O*-trityluridines and 2'-deoxy-3'-*O*-methanesulfonyl-2'-methylene-5'-*O*-trityluridines with various nitrogen, oxygen, sulfur, and halogen nucleophiles were investigated. It was found that the regioselectivity of the nucleophilic substitution reactions is dependent on the nature of the nucleophile: soft and borderline nucleophiles reacted in S_N2' manner, while harder nucleophiles preferred the S_N2 reactions. Second; for structural-activity relationship correlations, inversion of the configuration at the 3'-position of DMDC as well as substitution of the 3'-hydroxyl by an amino and fluoro groups were performed. The aforementioned

regioselectivity was verified and utilized for the synthesis of 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-2'-phenyl-selenomethyl-5'-*O*-trityluridines. An oxidative [2,3]-sigmatropic rearrangement of the latter compounds in the presence of *tert*-butylcarbamate provided an access to (3'*S*)-3'-amino-2',3'-dideoxy-2'-methyleneuridines.

Part 2: The enzymatic studies on the mechanism of action of DMDC have revealed that the 5'-triphosphate of DMDC (DMDCTP) inhibits DNA polymerases from *E. coli* and the 5'-diphosphate of DMDC (DMDCDP) inhibits ribonucleoside diphosphate reductase (RDPR) from *E. coli*. Based on the proposed mechanism of inactivation of RDPR by DMDCDP, a suitably placed radical acceptor at the 2'-position in the plane of the sugar ring might result in potential inactivation of RDPR and consequently inhibit DNA synthesis. Therefore, (*E*) and (*Z*)-2'-(alkoxycarbonyl, carboxy, and cyano)-methylene-2'-deoxy pyrimidines were synthesized. As an example, Wittig reaction of 1-[3,5-*O*-(1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-*erythro*-pentofuran-2-ulosyl]-uracil with $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCN}$ afforded exclusively (*Z*)-2'-cyanomethylene-2'-deoxy-3,5-*O*-(1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)uridine. The corresponding *E*-isomer was accessed from its *Z*-congener through a sequence of stereoselective addition of thiophenol to the cyanomethylene moiety and subsequent stereoselective oxidative *syn*-elimination of the resulting sulfoxide. The diastereofacial selectivity of the phenylthiolate addition was found to be influenced by the nucleobase participation, steric effects of the sugar protecting groups, and the thiolate counter cation. The α -facial selectivity of the phenylthiolate addition to the cyanomethylene moiety was achieved by manipulation of the sugar protecting groups, that is maximizing the steric hindrance at the β -face concomitant with minimizing it at the α -face. Oxidative *syn*-elimination of (2'*S*)-2'-cyanomethyl-2'-deoxy-2'-thiophenoxy-5'-*O*-(triisopropylsilyl)uridine resulted in the corresponding (*E*)-2'-cyanomethylene derivative selectively in high yield. The applicability of the successive addition and oxidative *syn*-elimination reactions to convert the configuration of (*Z*)-2'-alkoxycarbonylmethylene derivative to their corresponding *E*-congener, was investigated. However, an unusual β -facial selective addition of thiophenol to (*Z*)-2'-deoxy-2'-ethoxycarbonylmethylene-3,5-*O*-(1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)uridine was observed. A chelation of the lithium counter cation between the 2-carbonyl moiety of the nucleobase and the ethoxy moiety of the 2'-ethoxycarbonylmethylene moiety is thought to be the origin of this unusual β -facial selectivity. The desired α -facial selectivity was achieved upon introducing a bulky *tert*-butoxy group at the alkoxycarbonylmethylene moiety and the use of a relatively softer potassium counter cation. Oxidative *syn*-elimination of (2'*S*)-2'-*tert*-butoxycarbonylmethylene-2'-deoxy-2'-thiophenoxy-5'-*O*-(triisopropylsilyl)uridine resulted in the corresponding (*E*)-2'-*tert*-butoxycarbonylmethylene derivative exclusively. The (*E*) and (*Z*)-2'-carboxymethylene-2'-deoxyuridines were achieved by acid catalyzed hydrolysis of the corresponding *tert*-butoxycarbonylmethylene derivatives.

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

Studies on the Regio-and the Facial-selectivities of Nucleophilic Substitution and Addition Reactions at the 2'-and 3'-Positions of 2'-Deoxy-2'-methylene Pyrimidine Nucleosides

2'-デキオシ - 2'-メチレンピリミンジヌクレオシド類の2'-または3'-位への求核置換および不可反応における位置および面選択性に関する研究

難治性がんに対する治療薬の開発は極めて重要な課題である。申請者は、現在固形がんの治療薬として開発されている2'-deoxy-2'-methylenecytidine (DMDC)の活性発現に必要な構造部分の決定と、構造-活性相関を明らかにするために、糖部構造に着目し、位置選択的な反応および立体選択的な反応についての研究を行った。

1. DMDCの糖部に対する位置選択的な求核置換反応

DMDCの抗がん性発現の一つの機序は、代謝物である5'トリリン酸体 (DMDCTP)によるDNAポリメラーゼの阻害である。DMDCTPがDNA中に取り込まれて鎖伸長阻害剤として働きDNA合成を阻害する。糖部3'位に水酸基の代わりにアミノ基、フッ素基を導入すればDMDCよりも強力なDNA鎖伸長阻害剤となりうるとの仮説のもとに置換反応を検討した。その結果、糖部アリルアルコールの2'位ビニル基末端からはソフトな求核試薬が反応 (SN2'反応) し、3'位水酸基とはハードな求核剤が置換反応 (SN2反応) を起こすことを明らかにした。窒素求核剤は比較的ソフトであるために、望みとしないSN2'反応のみが起こり目的物を直接合成することができなかった。従って、まず、ソフトなセレン求核剤をビニル基末端に導入し、その後N-クロロスクシイミドとt-ブチルカーバメイトと処理して[2,3]-シグマトロピック転位反応でアミノ基を3'位に導入した。一方、フッ素イオンは比較的ハードなために3'位での置換反応が容易に起こることが予想されたが、フッ素化剤と

してDASTを用いた場合は望みとする3'フッ素体と2'フルオロメチル体の両方が得られた。この場合、2'フルオロメチル体は S_N2' 反応が起こった結果ではなく、分子内での求核置換反応(S_Ni' 反応)により得られたと考えることによりうまく説明できる。これら合成した化合物は抗がん性を示さなかったことから、DMDCが作用を発現するには2'位メチレン基、3' α 位水酸基の存在が不可欠であることが明らかになった。

2. (2'Z) 置換オレフィン体の選択的 (2'E) 置換オレフィン体への変換反応

DMDCの抗がん性発現のもう一つの機序は、DNA合成の律速酵素であるリボヌクレオチドレダクターゼ(RR)の阻害であると考えられている。RRはDMDC 5'ジリン酸体の3'位の水素原子をラジカル的に引き抜き、生成する3'炭素ラジカルがアリルラジカルとなり安定化されるからである。このラジカルをさらに安定化するためには、2'位に電子吸引基を持つE-オレフィン体を合成すればよいのではないかとの仮説に基づき、シアノ基およびカルボキシ基を持つDMDC誘導体を以下のように合成した。

2-1) (E)-2'-シアノメチレン体の合成

2'ケト体に安定イリドを反応させても望まないZ体のみが得られた。そこで、このZ体にフェニルチオ基を α 選択的に付加させ酸化的シン脱離反応によりE体に変換することを試みた。フェニルチオ基の付加反応を種々検討した結果、 α 選択的な反応をするためには、糖部保護基を変換することにより糖部のコンホメーションを変え α 面の立体的な込み合いを最小限にすればよいことを明らかにした。ここで得られた α 付加体の酸化的シン脱離反応により、望みの幾何異性体であるE体を合成することができた。

2-1) (E)-2'-カルボキシメチレン体の合成

先の2'ケト体から容易に得られる(Z)-2'-エトキシカルボニルメチレン体に対するフェニルチオ基の付加反応は、フェニルチオレートのカウンターカチオンがピリミジン環2位カルボニル基と2'位に付くエトキシカルボニル基との間でキレーションし、もっぱら β 側から進行した。 α 付加体は、a)試薬を酸素原子間でキレーションしにくいカリウム塩にすること、b)基質のエチルエステルを嵩高い t -ブチル基に変えることにより達成できた。ここで得られた α 付加体の酸化的シン脱離反応により望みの幾何異性体であるE体を合成することができた。

以上のように本研究は、新しい抗がん性ヌクレオシドDMDCの糖部アリルアルコール部に対する位置選択的および立体選択的な反応を開発する中で化学反応性を明らかにするとともに、構造-活性相関に関する知見を得たものであり、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。