

## 学位論文題名

# アデノシンからネプラノシン A への変換と その誘導体の合成, および生物活性について

## 学位論文内容の要旨

ネプラノシン A はヌクレオシド類縁体であるが、これまでの核酸系代謝拮抗剤とは異なり、5'位リン酸化を受けないまま、アデノシルホモシステインヒドロラーゼを阻害し、生理活性を示す。このような興味深い生理活性を示すことからネプラノシン A および誘導体の、医薬品としての開発が盛んに行なわれているが、まだその目的は達成されていない。筆者は、このネプラノシン A に着目し、以下のような研究を行なった。

ネプラノシン A 誘導体をネプラノシン A から合成することを計画したが、ネプラノシン A 自体が供給不足であることから、はじめに天然に大量に存在するアデノシンからのネプラノシン A 合成を検討した。

9-(2,3-*O*-Isopropylidene-D-ribofuranosyl)-6-methoxypurine を、DIBALH により 1'-環内酸素部分で還元的に切断し、5'位の水酸基を保護、残る 4'位水酸基をケトンに変換し、9-[5-[1-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl]-3,4-*O*-isopropylidene-L-ribofuranosyl]-6-methoxypurine を得た。これに対し、TMSC(Li)N<sub>2</sub>を反応させると、ケトンへ求核付加しすぐに  $\beta$ -TMS アルコキシドの  $\beta$ -脱離により二重結合が生じ、さらに分子上窒素が脱離して、アルキリデンカルベンが発生する。アルキリデンカルベンは分子内で C-H 結合に対し挿入反応がおこり、ネプラノシン A と同様のシクロペンテン環を形成することが出来た(34%)。この時、1'位において核酸塩基がイソプロピリデン基と同じ側を向いた異性体( $\alpha$  体)と、その反対の異性体( $\beta$  体)の 2 種類が生成し、その比は  $\alpha : \beta = 1 : 5$  であり、望みとする  $\beta$  体を主生成物として得た。 $\beta$  体が主生成物として得られたのは、C-H 挿入反応が起こる際の、イソプロピリデン基と核酸塩基の反発の結果であると推定した。

Adenosine から同様に導いた 9-[(2*S*,3*S*)-(5-*t*-Butyldimethylsilyloxy-2,3-isopropylidenedioxy-4-pentanone)-1-yl]adenine を基質として同様の条件に付したところ、目的とする 9-[(1*S*,2*S*,3*R*)-2,3-Isopropylidenedioxy-4-(*t*-butyldimethylsilyloxy-methyl)-4-cyclopenten-1-yl]adenine を 17% の収率で得た。収率に問題はあっても、ここに非常に短工程でアデノシンからネプラノシン A に導くことができた。この方法は、天然ヌクレオシドを炭素環ヌクレオシドへ変換した最初の例となった。

続いて、活性の改善を目的としてネプラノシン A からの 6'位増炭体の合成を行なった。ネプラノシン A の 6'位修飾体が、不活性化・副作用の原因となるア

デニン塩基の脱アミノ化や、6'位リン酸化を妨げつつ、アデノシルホモシステインヒドロラーゼに対する阻害活性を残していることから、ネプラノシン A の 6'位をアルデヒドとしたのちに、安定イリドを反応させることによって、6'位のさらなる増炭を試みた。

その結果、酸化と Wittig 反応を段階的に行なうと、アルデヒドの不安定性のため収率が低くなるが、安定イリド共存下酸化反応を行なうと、ほぼ定量的に目的とする増炭体を得ることができた。この増炭体から、いくつかの誘導体を合成した。

不安定なアルデヒドを単離することなく増炭反応が行なえることがわかったため、そのほかの基質についても、同様の反応を行なったところ、ほとんどの 1 級のアリルアルコール、またはそれに準ずる活性アルコール(ベンジルアルコール、シクロプロピルアルコール)で収率よく反応の進行することを見出した。

アデノシルホモシステインヒドロラーゼ阻害剤が抗マラリア活性を示すことから、今回合成したネプラノシン A 誘導体、およびこれまでに当研究室で合成された誘導体のマラリアに対する *in vitro* での増殖抑制活性を検討したところ、今回合成したものには、増殖の様子に変化はなかったが、以前に当研究室で合成された、6'位にメチル基、およびエチニル基を導入した RMNPA、RENPA が優れた増殖抑制活性を持つことがわかった。その  $IC_{50}$  は  $1.0-1.9 \times 10^{-7}$  M であり、抗マラリア薬としてよく使用されている Quinine とほぼ同等の効果を持つことがわかった。加えてネプラノシン A には殺細胞作用が見られるのに対し、RMNPA、RENPA ではそのような作用は観察されなかったことから、毒性が緩和されていることがわかった。

そこで RMNPA、ネプラノシン A について *in vivo* での抗マラリア活性を測定した。マウスにマラリア原虫を感染させ、ネプラノシン A、RMNPA を 1 日四回投与し、4 日後の結果をみたところ、*in vivo* においても強力な増殖抑制活性を持つことがわかった。特にネプラノシン A では 10 mg/kg 投与すると、毒性のためネズミは死亡してしまうが、RMNPA では死亡したネズミはなく、*in vivo* においても毒性が軽減されていることがわかった。

マラリア原虫は、生体内でさまざまな形態をもっているが、特に血液中で輪状体-栄養体-分裂体-輪状体と生活サイクルが観察されている。ネプラノシン A 誘導体は、どの形態時に阻害するのかマラリア感染マウスを用いた実験で観察したところ、分裂体が蓄積しており、分裂体から輪状体の形成時を阻害していることがわかった。

マラリア原虫に対し *in vivo* においても優れた増殖抑制効果を示した RMNPA の合成法の改良を試み、これまで 6'位にメチル基を選択的に導入できなかったところを、2',3'-Di(*t*-butyldimethylsilyl)-*N*<sup>6</sup>-benzoylneplanoin A-6'-aldehyde に対し、 $MeTiCl_3$  を用いる事によって 6'位に *S* 選択的にメチル基を導入することが出来、これを光延反応を用いて、6'位水酸基を反転することにより、望みとする 6'R メチル体に導くことが出来た。

# 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 井 上 英 夫  
副 査 助 教 授 周 東 智

学 位 論 文 題 名

## アデノシンからネプラノシンAへの変換と その誘導体の合成, および生物活性について

最近、生体の重要な代謝過程の一つであるメチル化反応の制御に中心的な役割を担うアデノシルホモシステインヒドロラーゼが、RNAウイルスに対する化学療法の標的酵素として注目されている。

ネプラノシンAはヌクレオシドアナログであるが、これまでの核酸系代謝拮抗剤とは異なり、5'位リン酸化を受けないまま、アデノシルホモシステインヒドロラーゼを阻害し、生理活性を示す。このような興味深い生理活性を示すことからネプラノシンAおよび誘導体の、医薬品としての開発が盛んに行なわれているが、まだその目的は達成されていない。新妻 諭は、このネプラノシンAに着目し、以下のような研究を行なった。

ネプラノシンA誘導体をネプラノシンAから合成することを計画したが、ネプラノシA自体が供給不足であることから、はじめに天然に大量に存在するアデノシンからのネプラノシンA合成を検討した。

9-(2,3-O-Isopropylidene-D-ribofuranosyl)-6-methoxypurineの糖部5員環のDIBALHによる還元的に切断を経て、アシクロ型ヌクレオシドである9-[5-[1-O-tert-Butyldimethylsilyl]-3,4-O-isopropylidene-L-ribul-oxyl]-6-methoxy

purineへ変換した。これに対し、 $\text{TMSC}(\text{Li})\text{N}_2$ を反応させると、ケトンへ求核付加しすぐに $\beta$ -TMSアルコキシドの $\beta$ -脱離によりし、さらに窒素分子が脱離して、アルキリデンカルベンが発生する。アルキリデンカルベンは分子内でC-H結合に対し挿入反応がおこり、ネプラノシンAと同様のシクロペンテン環を形成することが出来た。この時、塩基部立体配置の異なる $\alpha$ 体と $\beta$ 体の2種類が生成し、その比は $\alpha : \beta = 1 : 5$ であり、望みとする $\beta$ 体を主生成物として得た。 $\beta$ 体が主生成物として得られたのは、C-H挿入反応が起こる際の、イソプロピリデン基と核酸塩基の反発の結果であると推定した。

アデノシンから同様に導いた9-[(2S,3S)-(5-t-Butyldimethylsilyloxy-2,3-isopropylidenedioxy-4-pentanone)-1-yl]adenineを基質として同様の条件に附したところ目的とする9-[(1S,2S,3R)-2,3-Isopropylidenedioxy-4-(t-butyldimethylsilyloxymethyl)-4-cyclopenten-1-yl]adenineを得た。収率に問題はあつたものの、ここに非常に短工程でアデノシンからネプラノシンAに導くことができた。この方法は、天然ヌクレオシドを炭素環ヌクレオシドへ変換した最初の例となつた。

続いて、活性の改善を目的としてネプラノシンAからの6'位増炭体の合成を行なつた。ネプラノシンAの6'位修飾体が、血中での不活性化・副作用の原因となるアデニン塩基の脱アミノ化や、6'位リン酸化を妨げつつ、アデノシルホモシステインヒドロラーゼに対する阻害活性を保持することが知られていることから、ネプラノシンAの6'位をアルデヒドとしたのちに、安定イリドを反応させることによって、6'位のさらなる増炭を試みた。

その結果、酸化とWittig反応を段階的に行なうと、アルデヒドの不安定性のため収率が低くなるが、安定イリド共存下酸化反応を行なうと、ほぼ定量的に目的とする増炭体を得ることができた。この増炭体から、

いくつかの誘導体を合成した。

不安定なアルデヒドを単離することなく増炭反応が行なえることがわかったため、そのほかの基質についても、同様の反応を行なったところ、ほとんどの1級のアリルアルコール、またはそれに準ずる活性アルコール(ベンジルアルコール、シクロプロピルアルコール)で収率よく反応の進行することを見出した。

アデノシルホモシステインヒドロラーゼ阻害剤が抗マラリア活性を示すことから、今回合成したネプラノシンA誘導体、およびこれまでに当研究室で合成された誘導体のマラリアに対するin vitroでの増殖抑制活性を検討したところ、6'位にメチル基、およびエチニル基を導入したRMNPA、RENPAが優れた増殖抑制活性を持つことがわかった。そのIC<sub>50</sub>は1.0-1.9×10<sup>-7</sup> Mであり、抗マラリア薬としてよく使用されているキニーネとほぼ同等の効果を持つことがわかった。加えてネプラノシンAには殺細胞作用が見られるのに対し、RMNPA、RENPAではそのような作用は観察されなかったことから、毒性が緩和されていることがわかった。

続いて、RMNPAとネプラノシンAについてin vivoでの抗マラリア活性を測定した。マウスにマラリア原虫を感染させ、ネプラノシンA、RMNPAを1日四回投与し、4日後の結果をみたところ、in vivoにおいても強力な増殖抑制活性を持つことがわかった。特にネプラノシンAでは10 mg/kg投与すると、毒性のためネズミは死亡してしまうが、RMNPAでは死亡したネズミはなく、in vivoにおいても毒性が軽減されていることがわかった。

さらに、マラリア原虫に対しin vivoにおいても優れた増殖抑制効果を示したRMNPAの合成法の改良を検討した。その結果MeTiCl<sub>3</sub>を用いる6'位への立体選択的メチル基導入が、MeTiCl<sub>3</sub>を用いることで進行すること

を見い出し、RMNPAの効率的合成法を開発することが出来た。

以上の成果は、ヌクレオシドの医薬化学に大いに寄与するもので、博士（薬学）の学位を授与するに値するものと判断した。