



Title	ピリンシクロヌクレオサイド燐酸エステルの研究
Author(s)	上杉, 晴一
Citation	大阪大学, 1971, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/27718
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【 3 】

氏名・(本籍)	うえ	すぎ	せい	いち
	上	杉	晴	一
学位の種類	薬	学	博	士
学位記番号	第	2298	号	
学位授与の日付	昭和46年3月25日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	ピリンシクロヌクレオサイド磷酸エステルの研究			
論文審査委員	(主査)			
	教授	池原	森男	
	(副査)			
	教授	堀井	善一	教授
		上原喜八郎	教授	田村
				恭光

論文内容の要旨

〔緒言〕

核酸の構成要素である nucleoside は、base と sugar とが、glycoside 結合したものである。nucleoside 分子の conformation の可変部は、主に sugar ring の puckering と glycoside bond のまわりの回転である。核酸はこのような nucleoside が phosphodiester 結合を介して連った重合体、即ち polynucleotide であり、その機能の発現のためには、一定の、ordered structure が必要である。

polynucleotide の conformation を安定化する要因は、主に base 間の重なり (stacking) と、相補的な base との間の水素結合である。これら 2 つの interaction を決定するのに、monomer unit 中の torsion angle は重要な役割をもつと思われる。従って、torsion angle の固定された、cyclonucleoside のリン酸エステルを monomer unit とする oligonucleotide を合成し、その性質を研究することにより、polynucleotide の conformation に対する torsion angle の影響を解明することが出来ると思われる。

そこで、著者は、8,2'-S-cycloadenosine を含む dinucleoside monophosphate 及び oligonucleotide を合成し、その性質を調べた。

〔第一章〕 8,2'-S-Cycloadenosine 5'-monophosphate の合成

第一節 Adenine nucleotide の 8 位のブロム化

リボ核酸 (RNA) を構成する種々の nucleoside のうち、adenosine のみは、水溶液中ブロムの条件で、全く反応しないとされていた。1964 年に至り、保護した adenosine の有機溶媒中のブロム化がなされたが、この方法を直接 nucleotide のブロム化に応用することは困難であった。

著者は、5'-AMP 水溶液に、NaOH 存在下、ブロム水を加えると、8 位にブロム化が行くことを見出した。条件を種々検討した結果、pH4 の buffer 中ブロム水により、殆んど UV 吸収の減少を伴わず

に、完全にブロム化が進行することが判った。

この反応により、保護していない、adenine nucleotide 及び nucleoside の直接的ブロム化が緩和な条件、高収率で、可能になった。

第二節 Adenine nucleotide の特異的 sulfonyl 化

従来、nucleotide の sulfonyl 化は例が少なく、2'あるいは3'位の水酸基の sulfonyl 化に関しては報告がなかった。

著者は、Schotten-Baumann法で、5'-AMP等のトシル化を試み、初めて5'-nucleotideのトシル化に成功した。しかも、この際得られる monotosylate は、殆んど2'-O-トシル体のみであることが判った。

第三節 8,2'-S-cyclonucleotide の合成

5'-AMPのトシル体をpH4の条件でブロム化すると8-bromo-5'-AMPをトシル化したものと同じものが得られる。これをDMF-H₂O中、NaSHと反応させると、ブロムがSHに置換され、同時に閉環して、S-cyclonucleoside 5'-monophosphateが得られる。これをDowex1のカラムクロマトグラフィーで単離した。5'-AMPより通算して約20%~25%の収率である。

このcyclonucleotideを、alkaline phosphataseで扱い、リン酸基を落し、cyclonucleosideとしてDowex1(OH⁻型)のカラムクロマトグラフィーで分析すると、8,2'-S-cycloadenosineのみで、8,3'-S-cycloadenosineは検出されなかった。これによりトシル化は、2'-OH基に起っていたことが判る。

同様の経路で、adenosine 3',5'-cyclic monophosphateより出発し、対応する8,2'-S-cyclo体も合成した。

[第二章] 8,2'-S-Cycloadenosine を含む、dinucleoside monophosphate の合成

池原等の方法により、5'-O-trityl 8,2'-S-cycloadenosine を合成し、これより、N₆-dimethylaminomethylene-8,2'-S-cycloadenosine 3'-monophosphate 及び N₆, O_{3'}-dibenzoyl-8,2'-S-cycloadenosine に導き、両者をpyridine中DCCで縮合し、カラムクロマトグラフィーを行って、8,2'-S-cycloadenosine のdinucleoside monophosphate (A^SpA^S) を単離した。

[第三章] 8,2'-S-Cycloadenosine 5'-monophosphate の重合反応

8,2'-S-cycloadenosine 5'-monophosphate の6位のアミノ基をbenzoyl基で保護し、Khorana等の方法に従って、重合を行い、DEAE-celluloseのカラムクロマトグラフィーにより、鎖長の異なる、oligonucleotide を分離した。リン酸の定量により鎖長を決定した。

[第四章] 8-置換purine nucleoside、及びその5'-monophosphate、5'-pyrophosphateの合成並びにC,Dによる、conformationの研究

種々の8-置換purine nucleoside、その5'-monophosphate、P₁ P₂-dinucleoside 5'-pyrophosphate を合成した。nucleotide は、8,3'-S-cycloadenosine 誘導体以外は、凡て、5'-AMPあるいは5'-GMPから合成した。

これらの化合物のC,D及びNMRによる研究の結果、adenosine 誘導体はanti型のconformationをとっているが、8,2'-S-cycloadenosine のtorsion angleとはかなり異っていること、8-bromo-adenosine 誘導体はsyn型をとっていることが判った。

[第五章] 8,2'-S-cycloadenosine を含む oligonucleotide の構造と性質

第一節 Dinucleoside monophosphate $A^S p A^S$ の構造と性質

$A^S p A^S$ の CD から、分子中の 2 つの base は左巻きに stack していることが予想された。 Mn^{2+} をてん加した NMR スペクトルより、このことが確認された。

第二節 Oligonucleotide $(pA^S)_n$ の構造と性質

CD スペクトルの pattern は、 $n \geq 3$ においても $A^S p A^S$ のそれによく似ているので、左巻きの構造が考えられる。UV 吸収の ϵ 、及び CD の $[\theta]$ の温度依存性が異なるので、adenylyl (3'→5') adenosine $A p A$ の構造のくずれ方とは、異なる mechanism が働いていることが判った。

[結 語]

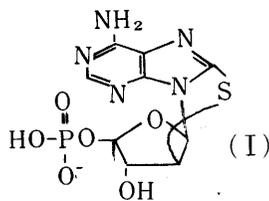
- (1) adenine nucleotide の緩和で直接的な、8 位のブロム化に成功した。この方法は nucleoside にも応用され、好結果を得ている。
- (2) nucleoside 5'-monophosphate の 2'-OH 基の特異的トシル化に成功した。
- (3) 以上の反応により、8,2'-S-cycloadenosine 5'-monophosphate を、5'-AMP から容易に合成し得るようになった。
- (4) 8,2'-S-cycloadenosine を含む、oligonucleotide $A^S p A^S$ 及び $(pA^S)_n$ を合成した。
- (5) 主に nucleotide level の反応を用いて、cycloadenosine, 8-置換 purine nucleoside の 5'-monophosphate 及び dinucleoside 5'-pyrophosphate を合成した。

次いで、これらの CD を測定することにより、その水溶液中における立体構造について知見を得た。

- (6) $A^S p A^S$ 並びに $(pA^S)_n$ の物理化学的性質を調べることにより、その構造を明らかにし、polynucleotide の conformation 及びその熱安定性に対する torsion angle の影響について新知見を得た。

論文の審査結果の要旨

プリンサイクロヌクレオサイドは塩基部と糖部が固定したヌクレオサイドである。核酸の性質解明の為、その磷酸エステル (I) を合成し 3'-5' ギヌクレオシドフosphate、5, 5'-ピロフosphate 及びポリヌクレオチドへ導き、各々の性質を主に UV, NMR, CD によって検討した。



ギヌクレオシドフosphate に於ては 2 つの塩基は強固に stack して居り、その螺線軸の回転方向は、一般の核酸のそれとは反対に左巻となっていることが判明した。

又、ピロフosphate に於ては、塩基と糖部の固定位置が stacking に不利であり、unstacked form であることが判った。ポリヌクレオチドも又、ギヌクレオシドフosphate の基本構造の繰り返しであり、高い T_m 及び、左巻き構造が確認され、ラセン軸の回転が糖の Enantiomerism によらないこと及び、stacking の強さが、糖と塩基の回転の阻害によることを明らかにした。