

Title	イノシン型シクロヌクレオシドの合成研究
Author(s)	村岡, 全子
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/31744">https://hdl.handle.net/11094/31744</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	村岡全子
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 3788 号
学位授与の日付	昭和 52 年 1 月 19 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	イノシン型シクロヌクレオシドの合成研究
論文審査委員	(主査) 教授 池原 森男 (副査) 教授 枅井雅一郎 教授 田村 恭光 教授 佐々木喜男

## 論文内容の要旨

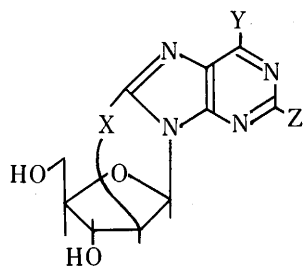
### 緒 論

Nucleosideは生物の遺伝をつかさどる核酸の構成要素であると同時に、生物の酵素反応に必要な、補酵素の構成成分でもある。また nucleoside 自体或は他の成分と結合して抗生物質としても発見されている。Nucleosideはこのように生物にとり重要な働きをする物質の主要成分であり、その誘導体の合成は antimetabolite としての新化学療法剤開発のため興味を持たれている。

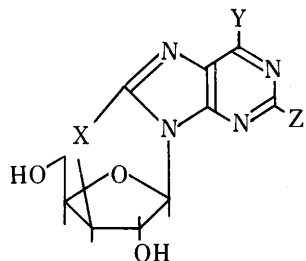
Inosinic acidは核酸の生体内代謝経路において生理的に重要なものであるが、化学合成に於いて、hypoxanthineから誘導される 6-mercaptopurine<sup>1)</sup>(6MP)とその nucleoside<sup>2)</sup>は制癌作用を有し、6-methylmercaptopurine<sup>3)</sup>は種々の 6MP耐性細胞に対して交叉耐性をもたないことが見出されている。また、天然の抗生物質の中 adenosine analogとして nucleotide代謝を阻害すると考えられている nebularine<sup>4)</sup>は purine核に置換基を持たない nucleosideの構造を持つことが inosine よりの合成で決定<sup>5)</sup>されている。

これら inosine系化合物の新しい誘導体の合成は、それらの構造と活性との関係を解明する上で興味あるものとする。

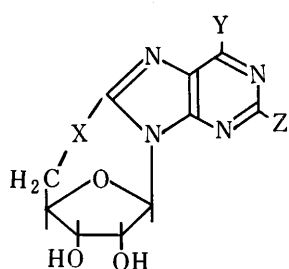
池原等は<sup>6-15)</sup>次に示す purine-8-cyclonucleoside即ち、塩基部 9 位と糖部 1' の glycosylbond の他に塩基部の 8 位と糖部 2' 位, 3' 位及び 5' 位を X 原子(S, O, N)を介して第 2 の結合をもつ一連の化合物を合成し、それらの物理化学的性質について多くの興味ある報告をしている。



- (1) X=S, Y=NH<sub>2</sub>, Z=H
- (2) X=S, Y=(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>N, Z=H
- (3) X=O, Y=NH<sub>2</sub>, Z=H
- (4) X=O, Y=(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>N, Z=H
- (5) X=O, Y=O, Z=NH<sub>2</sub>
- (6) X=N, Y=NH<sub>2</sub>, Z=H
- (7) X=CH<sub>3</sub>N, Y=NH<sub>2</sub>, Z=H

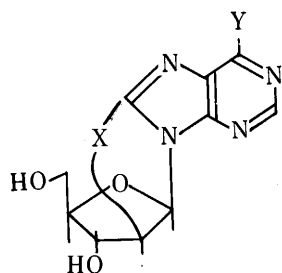


- (8) X=S, Y=NH<sub>2</sub>, Z=H
- (9) X=S, Y=(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>N, Z=H
- (10) X=O, Y=NH<sub>2</sub>, Z=H
- (10) X=O, Y=(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>N, Z=H

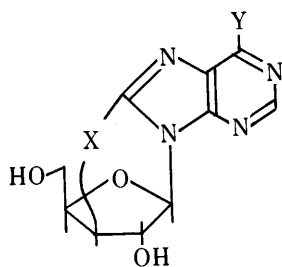


- (12) X=S, Y=NH<sub>2</sub>, Z=H
- (13) X=O, Y=NH<sub>2</sub>, Z=H

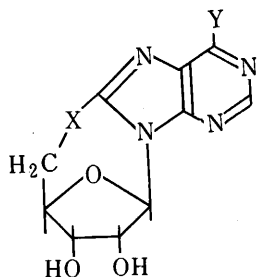
今回この purine cyclonucleoside 合成研究の一環として次に示す inosine, thioinosine, methylthioinosine 及び nebularine の S-cyclonucleoside と O-cyclonucleoside の合成を試み、これらの物理化学的性質について検討した。



- (14) X=S, Y=OH \*8, 2'-S-cycloinosine
- (17) X=S, Y=SH 8, 2'-S-cyclothioinosine
- (20) X=S, Y=CH<sub>3</sub>S8, 2'-S-cyclomethylthioinosine
- (23) X=S, Y=H 8, 2'-S-cyclonebularine
- (26) X=O, Y=OH 8, 2'-O-cycloinosine
- (29) X=C, Y=SH 8, 2'-O-cyclothioinosine
- (31) X=O, Y=CH<sub>3</sub>S8, 2'-O-cyclomethylthioinosine
- (33) X=O, Y=H, 8, 2'-O-cyclonebularine



- (15) X=S, Y=OH 8, 3'-S-cycloinosine
- (18) X=S, Y=SH 8, 3'-S-cyclothioinosine
- (21) X=S, Y=CH<sub>3</sub>S8, 3'-S-cyclomethylthioinosine
- (24) X=S, Y=H 8, 3'-S-cyclonebularine
- (27) X=O, Y=OH 8, 3'-O-cycloinosine
- (30) X=O, Y=SH 8, 3'-O-cyclothioinosine
- (32) X=O, Y=CH<sub>3</sub>S8, 3'-O-cyclomethylthioinosine
- (34) X=O, Y=H 8, 3'-O-cyclonebularine



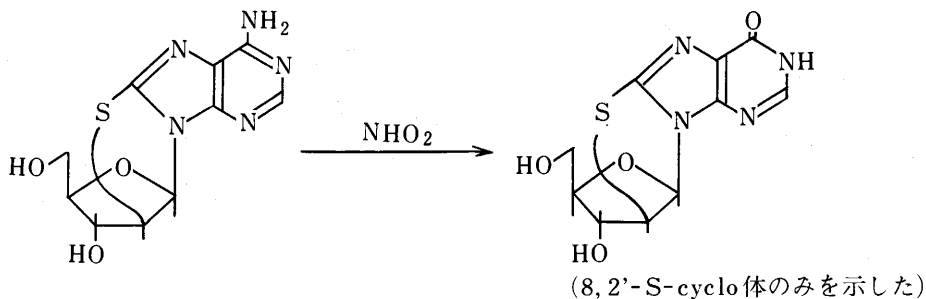
- (16) X=S, Y=OH 8,5'-S-cycloinosine  
 (19) X=S, Y=SH 8,5'-S-cyclothiinosine  
 (22) X=S, Y=CH<sub>2</sub>S 8,5'-S-cyclomethylthiinosine  
 (25) X=S, Y=H 8,5'-S-cyclonebularine  
 (28) X=O, Y=OH 8,5'-O-cycloinosine

\* (14)の正式名は8,2'-Anhydro-8-mercapto-9-β-D-arabinofuranosylhypoxanthineであるが、以下8,2'-S-cycloinosineのように略す。

## 本 論

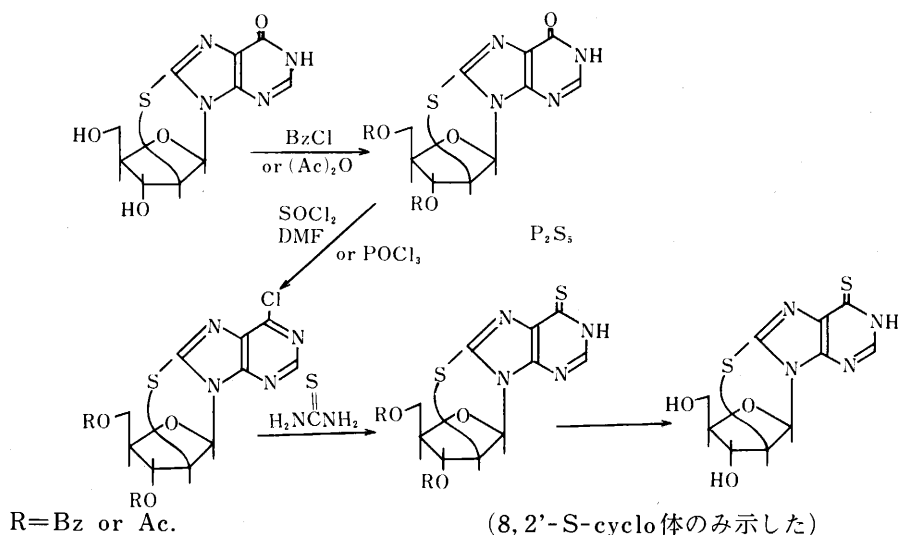
### 第1章 Inosine Thiinosine, Methylthiinosine及びNebularineのS-Cyclonucleoideの合成 第1節 S-Cycloinosine<sup>16)</sup>の合成

S-Cycloinosine(14, (15)及び(16)は対応するS-cycloadenosine(1), (8)及び(12)を酢酸中、亜硝酸バリウムにより deamination して73~77%収率で得た、(14, (15)は山崎<sup>17)</sup>らの別途合成したものと同定した。各生成物は元素分析UV吸収並びにMassスペクトル、NMRより構造を確認した。



### 第2節 S-Cyclothiinosine<sup>16)</sup>の合成

前節で得たS-cycloinosine(14, (15)及び(16)より対応するS-cyclothiinosine(17), (18)及び(19)を2方法より合成同定した。糖部の水酸基の保護をし、

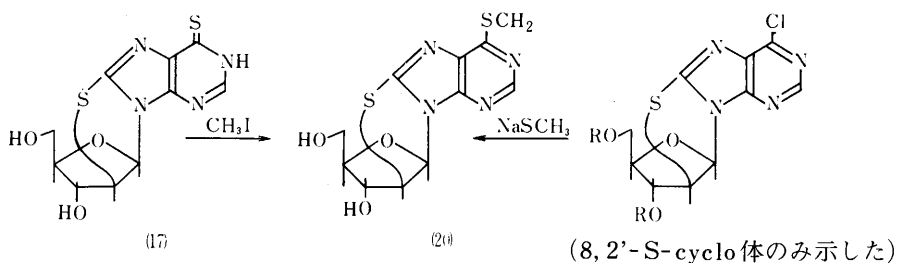


i) Fox等<sup>2)</sup>の6MPの五硫化磷によるthiationの条件を検討しピリジン中、4当量の五硫化磷と4当量の水を用い、76~86%の収率でS-cyclobenzoylthioinosineを得た。

ii) SOCl<sub>2</sub>-DMFによるVilsmeier試薬<sup>18)</sup>又は(n-Bu)<sub>3</sub>N存在下POCl<sub>3</sub><sup>19)</sup>による6位のクロル化後チオ尿素<sup>20)</sup>を作用させ70~86%でS-cycloacetylthioinosineとし、脱保護し同定した。

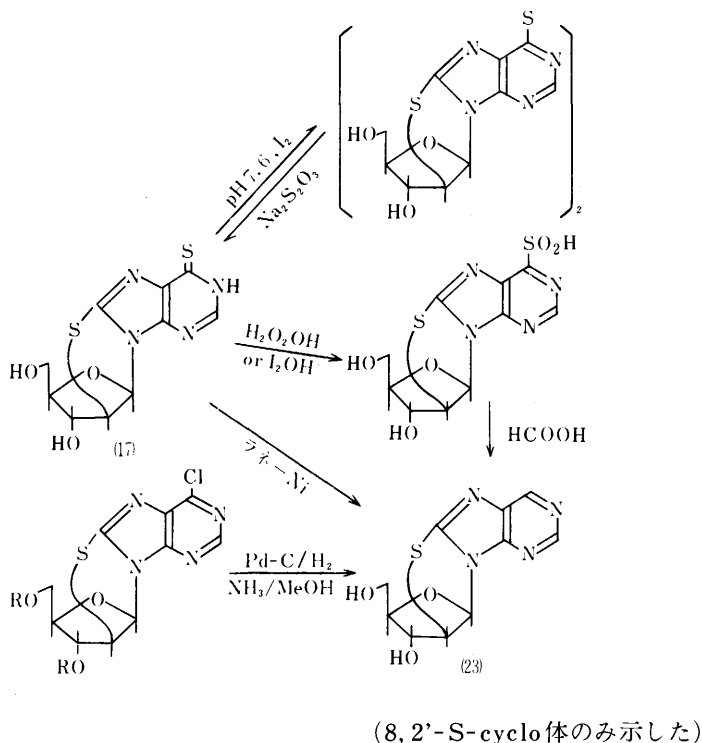
### 第3節 S-Cyclomethylthioinosineの合成

S-cyclomethylthioinosine(20,21)及び(22)はJohnson<sup>21)</sup>らによる6MPのCH<sub>3</sub>IによるS-methyl化の条件を用い、S-cyclothioinosine(17,18,19)をCH<sub>3</sub>IによりS-methyl化した、又S-cyclo-6-chloro体にNaSCH<sub>3</sub>を作用させて得たものと同定した。



### 第4節 S-Cyclonebularine<sup>22)</sup>の合成

Doerr等<sup>23)</sup>は6MPをpH 7.6でのI<sub>2</sub>の作用ではdisulfide、アルカリ条件下I<sub>2</sub>の作用でpurine-6-sulfinateを経て、蟻酸処理によりpurineを得ている。又アルカリ条件下過酸化水素の作用ではhypoxanthineと6-sulfinate, 6-sulfonateの混合物を生ずると報告している。



S-cyclonebularine(23), (24) 及び(25)は(17), (18) 及び(19)の S-cyclothioinosine を酸化又は還元反応により合成同定した。

i) (17), (18) 及び(19)を5当量のアルカリに溶解し, 2当量の I<sub>2</sub>の作用で6-sulfinateとし, 蟻酸処理して49~70%の収率で S-cyclonebularine を得た。

ii) 1当量のアルカリに, 2当量の過酸化水素の酸化では, 6-sulfinateの他に S-cycloinosine と 3', 5' 体では thioether bondの酸化体と考えられる微量の副産物を伴う混合物を得た。

iii) ラネー-Niによる還元反応では, S-cyclothioinosine とはげしく還元すると対応する deoxynebularine迄還元されるが, 反応過程に S-cyclonebularine を生ずることが認められ, 還元は6位の SH基, 次いで thioether 結合の順に進むことが判った。

別途 S-cyclo-6-chloro 体の接触還元では thioether 結合の存在のため, 触媒活性が落ちいずれも低収率であった。

## 第2章 Inosine, Thioinosine, Methylthioinosine 及び Nebularine の O-cyclonucleoside の合成

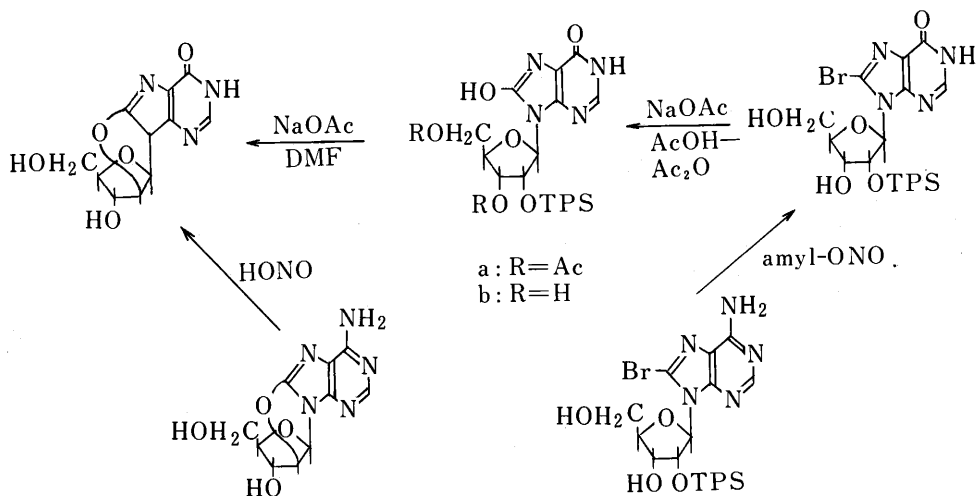
### 第1節 O-Cycloinosine<sup>24)</sup> の合成

O-cycloinosine(26), (27) 及び(28)は対応する O-cycloadenosine(3), (10) 及び(13)を酢酸中, 亜硝酸ナトリウムでdeaminationし, 42~76%の収率で得た。

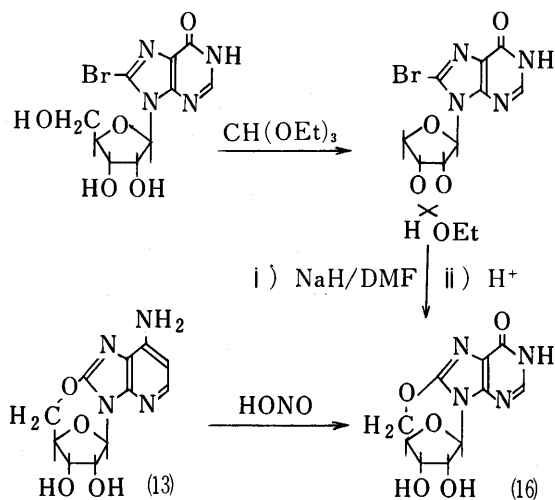
別途, 8-bromo-2'-O-TPS-adenosine を DMF 中 isoamylnitrite で deamination して得た, 8-bromo-2'-O-TPS-inosine を酢酸中, 無水酢酸, 酢酸ナトリウムで8位をoxy化し脱保護後, DMF 中, 酢酸ナトリウムでcyclizationして(26)を得, 同定した。

8, 3' 体は8, 2' 体と同様 deamination 後, 8-oxy 体を経て, cyclization し(27)とし同定した。

8, 5' 体は8-bromoinosine を 2'3'-OH を ethoxymethylidene 化後, DMF 中, 水素化ナトリウムで cyclization し脱保護して(16)を得, 同定した。



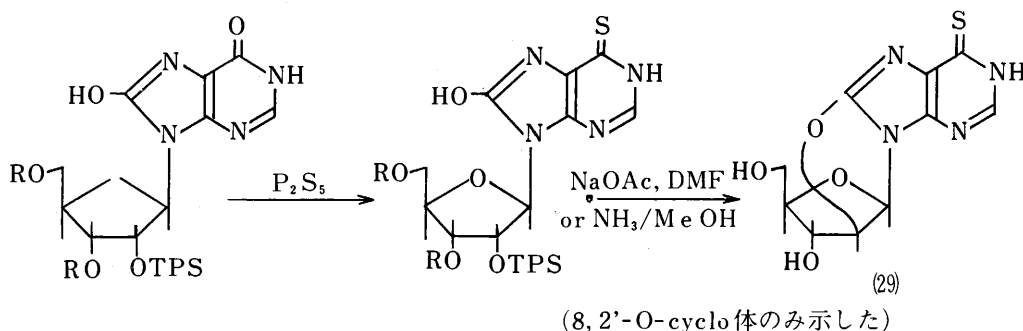
(8, 2'-O-cyclo 体のみ示した)



## 第2節 O-Cyclothioinosineの合成

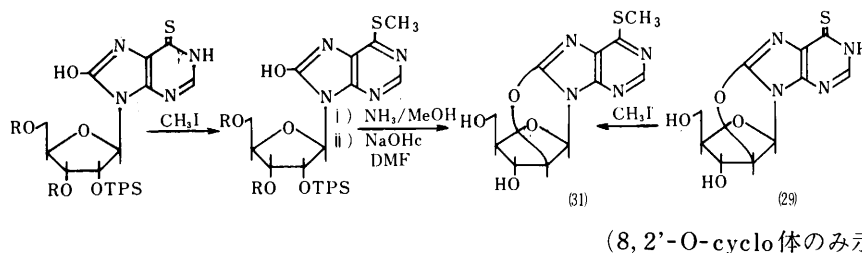
O-cyclonucleosideはS-cyclo体と比べその anhydro bondが弱く池原等は<sup>25,26,27)</sup>これら O-cyclo体に求核試薬を用い、開裂反応で種々の nucleoside analogへと導いている。

O-cyclinosineも五硫化燐による6位 thiation又Vilsmeier試薬によるchloro化を試みたがすべて開裂し8-oxy体となった。この為cyclization前に、8-oxy-2'-O-TPS-inosineと8-oxy-3'-O-TPS-inosineを五硫化燐でthiationし、inosine体と同様cyclizationして(29)及び(30)を得た。(29)はメタノーリックアンモニアでcyclizationして得たものとも同定した。



## 第3節 O-Cyclomethylthioinosine<sup>24)</sup>の合成

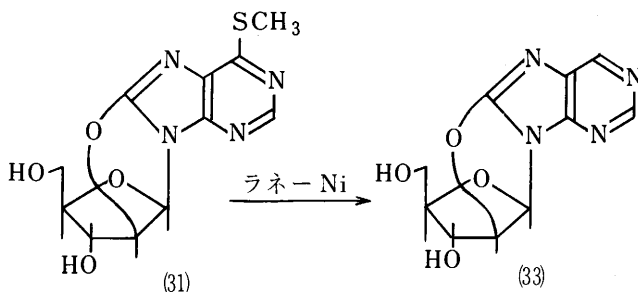
8, 2'-O-cyclomethylthioinosine(31)は、8-oxy-2'-O-TPS-thioinosineをCH<sub>3</sub>IでS-methyl化し、脱保護後、cyclizationして得た。又(29)をCH<sub>3</sub>IでS-methyl化して得たものと同定した。



8,3'体(32)は(31)と同様8-oxy-3'-O-TPS-thioinosineのS-methyl化後cyclizationして得た。又、(30)をS-methyl化して得たものと同定した。

#### 第4節 O-Cyclonebularineの合成

O-cyclonebularine(33)と(34)は対応する cyclomethylthioinosine(31)と(32)をラネーNiで脱硫して得た。



(8,2'-O-cyclo体のみ示した)

### 第3章 Inosine型 cyclonucleosideの物理的性質

#### 第1節 Inosine型Cyclonucleosideの Mass spectra

今回合成した化合物は特に不安定な O-cyclothioinosine(29)と(30)を除き、いずれも Molecular ion peak, 8-置換 base ion peakが顕著な強い peakとして現れ、先に池田<sup>29)</sup>、池原等<sup>13)</sup>により cycloadenosineについて述べられた fragmentation patternとよく一致した。この結果からこれらが purine系 cyclonucleosideの一般的 fragmentationの方式であることを更に実証することができた。

#### 第2節 Inosine型Cyclonucleosideの NMR spectra

上記 cyclonucleosideの NMRによる構造決定では、いずれも塩基部プロトンの帰属の他、糖部 anomeric protonが、8,2'-typeの cyclonucleosideでは H<sub>2</sub>との couplingにより coupling constant (J=5~6 Hz)を示し、8,3系、8,5'系では zero 又は非常に小さな値 (J=1~2 Hz)を示すことから8,2'-typeの cyclonucleosideはいずれも 2'-endo型、8,3', 8,5' typeは 3'-endo型をとることが認められ、先に池原等<sup>13,15,30)</sup>により cycloadenosineで示された conformationが purine系 cyclonucleosideに共通するものであることが確認できた。

#### 第3節 Inosine型 cyclonucleosideの UV及び CD spectra

池原等<sup>31)</sup>は先に adenosine系Cyclonucleosideの UVと CDに関してこれらの S-cyclo体は UV吸収の λ<sub>max</sub>は8,2'-S. から8,3'-S, 8,5'-S-cyclo体へと長波長に規則性をもつ shiftを示し、CDではこの λ<sub>max</sub>付近で正の Cotton effectを示し、その amplitudeは8,2' < 8,3' < 8,5'-S 体の順に増大することを、又 O-cyclo体の場合は、UV吸収 λ<sub>max</sub>の shiftの規則性は顕著ではないが CD spectraに於ける挙動は、S-cyclo体と同様であると述べている。

Inosineは UV吸収 λ<sub>max</sub>付近では小さな負の Cotton effectを示すと報告されている<sup>31)</sup>が、今回合成した cyclo nucleosideの中6位に置換基を持つ、cyclo-inosine thioinosine及び methylthioinosineはすべての UV吸収 λ<sub>max</sub>付近で正の Cotton effectを示し、その amplitudeも8,2' < 8,3'



8, 5' 体の傾向を示しこの傾向が、6 位置換基をもつ cyclonucleoside の一般性であることが示された。しかし、purine 核 6 位に置換基をもたない nebularine の S-cyclo 体では、その amplitude は  $8, 2'-S < 8, 3'-S < 8, 5'-S$  と正の方向に増大の傾向を示してはいるが、8, 2'-体は UV 吸収  $\lambda_{max}$  付近で負の小さな Cotton effect を示した。又、O-cyclonebularine では、8, 2'-O 体及び 8, 3'-O 体でその amplitude が逆転し、 $8, 3'-O < 8, 2'-O$  を示した。

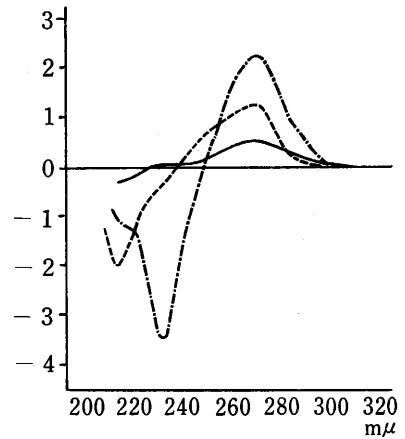
Nucleoside の CD は base と sugar の interaction により生ずる為 base の transition moment の向きが重要な役割を果しているが、Stewart<sup>33)</sup> 等は 9-methyladenine についてその transition moment が 4, 5-double bond と同じ方向に向いていることを実測している。nebularine は 6 位に置換基をもたないため、この transition moment の方向が異なっていると考えられ、このため、他の 6 位置換体とは異なり、特異な CD スペクトルを示したと推察される。

#### 結 語

Purine cyclonucleoside の合成研究の一環として、新たに inosine 型 cyclonucleoside 21 種を合成し、これらの物理的性質について検討した。

- 1) Inosine では、8, 2', 8, 3' 及び 8, 5' の S-cyclo 体と O-cyclo 体を合成した。

CD spectra of S-cycloinosines



0.01<sub>M</sub> phosphate buffer pH 7.0

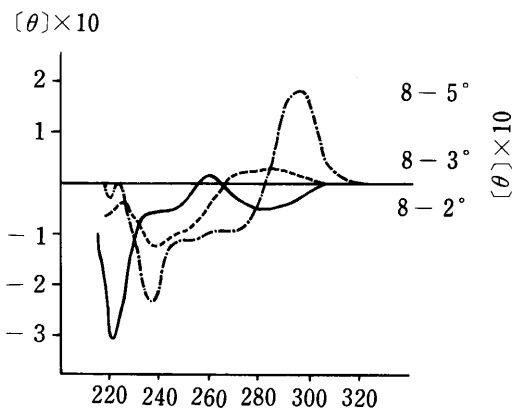
— : 8, 2'-S-cyclo

- - - : 8, 3'-S-cyclo

..... : 8, 5'-S-cyclo

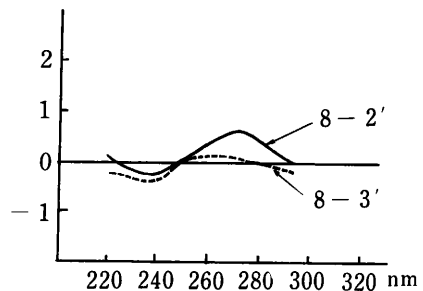
(6 位置換基を有する cyclonucleoside は、S-cycloinosine のみを示した。)

CD Spectra of S-Cyclo-Nebularines



0.01M Phosphate buffer pH 7.0

CD Spectra of O-Cyclo nebularines



- 2) Thioinosine, Methylthioinosine及びNebularineについては, 8, 2', 8, 3'及び8, 5'のS-cyclo体の他, 8, 2'-, 8, 3'-のO-cyclo体を合成した。
- 3) これらのcyclo体についてMass, NMR, UV及びCDからその物理的性質を検討し, cyclo体の構造を確認した。
- 4) 6位に置換基を持たないcyclonebularineに関して, その光学的性質に興味ある特異性を見出した。

#### 引用文献

- 1) a) G. H. Hitchings and C. P. Rhoads, *Am. N. Y. Acad. Soc.*, 60, 183, (1954).  
b) M. R. Atkinson and A. W. Murry, *Biochem. J.*, 94, 64 (1965).
- 2) J. J. Fox, I. Wempen, A. Hampton and I. L. Doerr, *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 1669 (1958).
- 3) L. L. Bennett, Jr., R. W. Brockman, H. P. Schnebli, S( Chubley, G. J. Dixon, F. M. Schabli, S. Chubley, G. J. Dixon, F. M. Schabel) Jr., E. A. Dulmage, H. E. Skipper, J. A. Montgomery, H. J. Thomas, *Nature*, 205, 1276 (1965).
- 4) M. P. Gordon, G. B. Brown, *J. Biol. Chem.*, 220, 927 (1956).
- 5) G. B. Brown, V. S. Weliky, *J. Biol. Chem.*, 204, 1019 (1953).
- 6) M. Ikehara and H. Tada, *Chem. Pharm. Bull.*, 15, 94 (1967).
- 7) M. Ikehara, H. Tada and M. Kaneko, *Tetrahedron*, 24, 3489 (1968).
- 8) M. Ikehara and M. Kaneko, *Tetrahedron*, 26, 4251 (1970).
- 9) M. Ikehara, M. Kaneko and R. Okano, *Tetrahedron*, 26, 5675 (1970).
- 10) M. Ikehara, M. Kaneko and M. Sagai, *Tetrahedron*, 26, 5757 (1970).
- 11) M. Ikehara and M. Kaneko, *Chem. Pharm. Bull.*, 18, 2401 (1970).
- 12) M. Kaneko, B. Shimizu and M. Ikehara, *Tetrahedron Letters* 3113 (1970).
- 13) M. Ikehara and K. Morisawa, *Chem. Pharm. Bull.*, 19, 2593 (1971).
- 14) M. Ikehara and T. Maruyama, *Tetrahedron*, 13, 1369 (1975).
- 15) M. Ikehara, *Accounts of Chem. Res.*, 2, 47 (1969).
- 16) M. Ikehara and M. Muraoka, *Chem. Pharm. Bull.*, 20, 550 (1972).
- 17) A. Yamazaki, M. Akiyama, I. Kumashiro and M. Ikehara, *Chem. Pharm. Bull.*, 21, 1143 (1973).
- 18) M. Ikehara, H. Uno and F. Ishikawa, *Chem. Pharm. Bull.* 12, 267 (1964).
- 19) M. Ikehara and H. Uno, *Ibid.*, 13, 221 (1965).
- 20) M. Ikehara and Y. Matsuda, *Chem. Pharm. Bull.*, 22, 1313 (1974).
- 21) J. P. Johnston, S. J. Clayton and J. A. Montgomery, *Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry* 1, 258
- 22) M. Ikehara and M. Muraoka, *J. Carbohyd. Nucleosides. Nucleotides*, 4, 1 (1977).
- 23) I. L. Doerr, I. Wempen, D. A. Clarke and J. J. Fox, *J. Org. Chem.*, 3401 (1961).

- 24) M. Ikehara and M. Muraoka, Chem. Pharm. Bull., 24, 672 (1976).
- 25) M. Ikehara, M. Kaneko and K. Okano, Tetrahedron, 26, 5675 (1970).
- 26) M. Ikehara and Y. Ogiso, Tetrahedron, 28, 3695 (1972).
- 27) M. Ikehara, T. Maruyama and H. Miki, Tetrahed, Lett., 4485 (1976).
- 28) X. A. Dominguez, I. C. Lopez and R. Franco, J. Org. Chem. 26, 1625 (1961).
- 29) M. Ikeda, Y. Tamura and M. Ikehara, J. Heterocycle. Chem. 7, 1377 (1970).
- 30) M. Ikehara and H. Tada. The Purine-Theory and Experiments. B. Pullman, The Israel Academy of Sciences and Humanities Jerusalem 1972, 455.
- 31) M. Ikehara, M. Kaneko, Y. Nakahara, S. Yamada and S. Uesugi, Chem. Pharm. Bull., 19, 1381 (1971).
- 32) D. W. Miles, R. K. Robins and H. Eying, J. Phys. Chem., 71, 3931 (1967).
- 33) R. F. Stewart and L. W. Jensen, J. Chem. Phys., 40, 2071 (1971).

### 論文の審査結果の要旨

プリンシクロヌクレオシド研究の一環として、8,2'-及び8,3'-O- (又はS) シクロヌクレオシドをイノシン, 6-チオイノシン, 6-メチル, チオイノシン及びネブラリンより合成し, 又, 8,5'-体についてはイノシン, 6-チオイノシン, 6-メチルチオイノシン, ネブラリンのS体及びイノシンのO体を合成し, 夫々元素分析その他により構造を確認した。此等シクロヌクレオシドはU.V.スペクトルに於て夫々8-OR, 8-SR体と類似するが, 8,2'→8,3'→8,5'の順に最大吸収が長波長に移動する。CDに於ては何れも吸収波長付近に正のコットン効果を示したが, その $[\theta]$ 値はネブラリンの場合を除き8,2'>8,3'>8,5'体の順に増大した。ネブラリンの場合はその波形及び順序に変化が見られ, 6位置換のない場合は, CDスペクトルの成因が異なることを見出した。Massスペクトルに於ては何れの場合も大きな分子イオンピークが観察され, これがシクロヌクレオシドの特徴であることを示した。NMRスペクトルに於てはH<sub>1'</sub>-2'のカップリングにつき8,2'体は大, 8,3', 8,5'≈0であることが判った。

これらの知見は甚だ興味あるもので, 学位論文請求に, 値するものとする。