

様式 C-19 (記入例)

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 21 年 5 月 2 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19090106
 研究課題名(和文) 分岐糖構造を有する 4'-チオヌクレオシドの新規合成法の開発とその生物活性
 研究課題名(英文) Regioselective Pummerer reaction of 4'-thionucleoside S-oxide: Synthesis of 1'-or 4'-substituted 4'-thionucleoside and its biological activity
 研究代表者
 原口 一広 (HARAGUCHI KAZUHIRO)
 昭和大学・薬学部・准教授
 研究者番号：10218638

研究成果の概要：4'-チオヌクレオシド S-オキシドの位置選択的な Pummerer 反応を基盤とすることにより、1'位あるいは 4'位にアセトキシ基を有するヌクレオシド誘導体を合成した。アセトキシ体はルイス酸の存在下、有機シリコン試剤を反応させることにより、1'位あるいは 4'位に炭素鎖の分岐した新規誘導体へ変換することに成功した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医師薬学

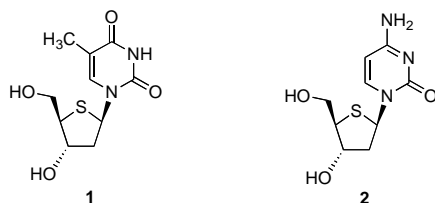
科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：ヌクレオシド、チオ糖、Pummerer 転位反応、抗ウイルス活性

1. 研究開始当初の背景

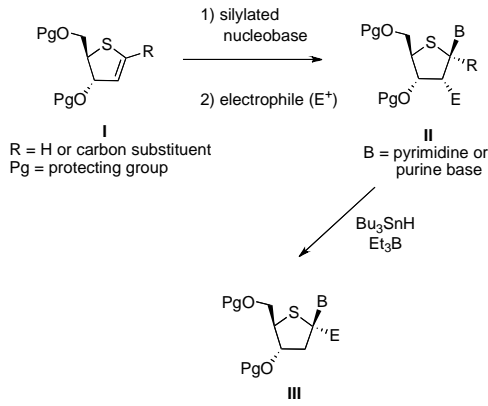
核酸の構成成分であるチミジンや 2'-デオキシチミンのフラノース環の酸素原子が硫黄原子で置き換わった 4'-チオチミジン

Figure 1



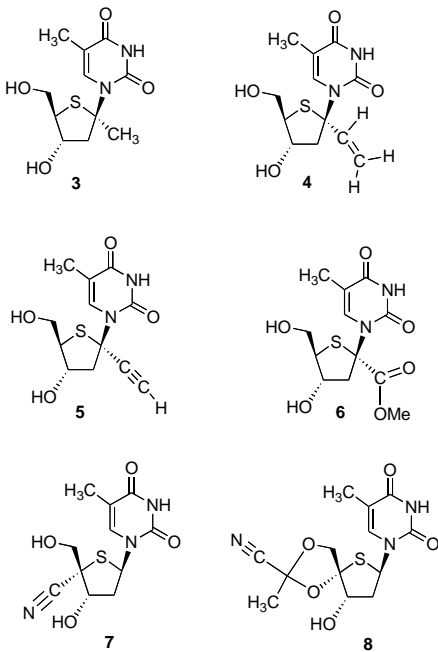
(1) や 2'-デオキシ-4'-チオシチジン (2) が顕著な生物活性を示すことが見出されて以来、4'-チオヌクレオシドは新しいタイプの核酸系代謝拮抗剤を開発するためのリード化合物として注目を集めるようになった。4'-チオヌクレオシドの中で、炭素置換基が分岐した 4'-チオフラノース部分を有する誘導体の合成例は極めて限られており、特に生物活性が期待される アノマーを立体選択的に合成した例は知られていなかった。申請者らは、4'-チオフラノイドグリカル (I) と核酸塩基との求電子的なグリコシル化反応により、4'-チオヌクレオシドの アノマー (I or II) の選択的な合成に成功した (Scheme 1)。

Scheme 1



本手法により合成した新規誘導体の中で、1'-*C*-メチル-4'-チオチミジン(3)が血管新生阻害作用を示すことを見出した。しかしながら、この合成法では合成可能な誘導体に制限があり、例えば、ビニル体(4, R = CH=CH₂)、エチニル体(5, R = C≡CH)あるいはメトキシカルボニル体(6, R = CO₂Me)の合成は困難であった(Figure 1)。一方、IIIから誘導した4'-置換-4'-チオチミジンの中で、4'-シアノ体(7)に強力な抗HIV活性が見出されたが、シリコン試剤との置換反応において、5'位のアセトキシ基が関与した分子内閉環が進行し、スピロ体(8)の副生が認められた。

Figure 2

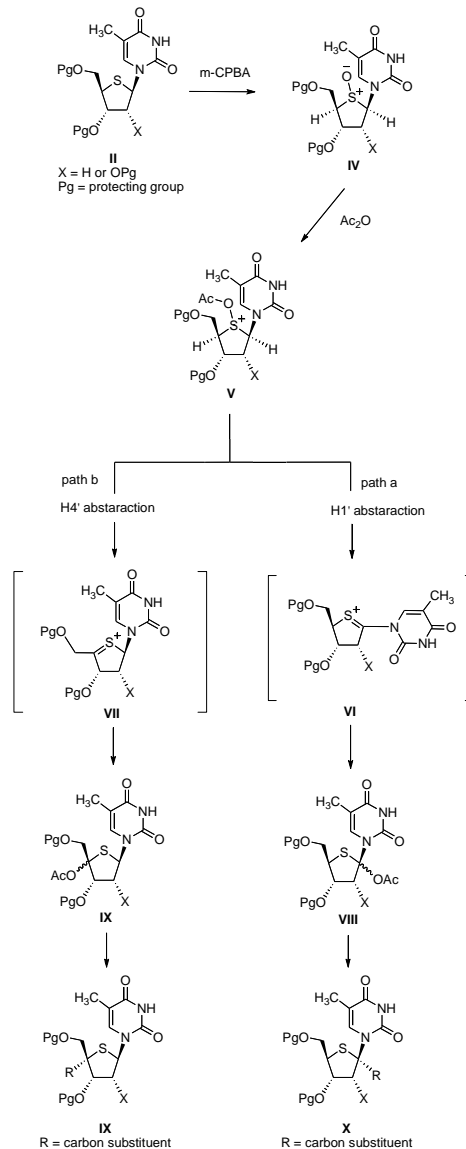


2. 研究の目的

顕著な生物活性が認められた1'位あるいは4'位に置換基を有する4'-チオヌクレオシドのより優れた合成法の開発を目指して、申請者らはPummerer転位反応を基盤とした新

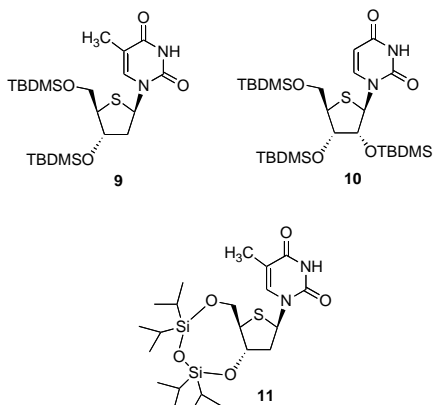
規合成法を企図した(Scheme 2)。即ち、チオヌクレオシドIIから容易に誘導可能な*S*-オキシドIVを無水酢酸で処理することにより生成するスルホニウムイオンVの1'位(path a)あるいは4'位(path b)からのプロトンの引抜きが進行すれば、それぞれ二次的な中間体VIおよびVIIが生成する。最後に、アセテートイオンの求核的付加反応が進行すると、脱離基(アセトキシ基)を有する鍵中間体VIIIあるいはIXが得られる。アセトキシ体VIIIおよびIXは求核試剤との置換反応のみならず、トリブチルスチル基(Bu₃Sn-)を導入した後、リチウム-スチル交換反応を経由して生成するリチオ体と求電子剤との反応を利用することにより、1'位あるいは4'位に炭素置換基が分岐したXおよびXIを合成することが可能である。この考えに基づき、保護基の異なる4'-チオヌクレオシド誘導体9、10および11の*S*-オキシドのPummerer

Scheme 2



転位反応を検討することにした (Figure 3)。本研究では、位置選択的なPummerer転位反応を利用することにより1'位あるいは4'位に置換基を有する4'-チオヌクレオシドの新規な合成手法を開発すると共に、合成した核酸誘導体の抗ウイルス活性および抗腫瘍活性を系統的に調べることを目的とする。

Figure 3

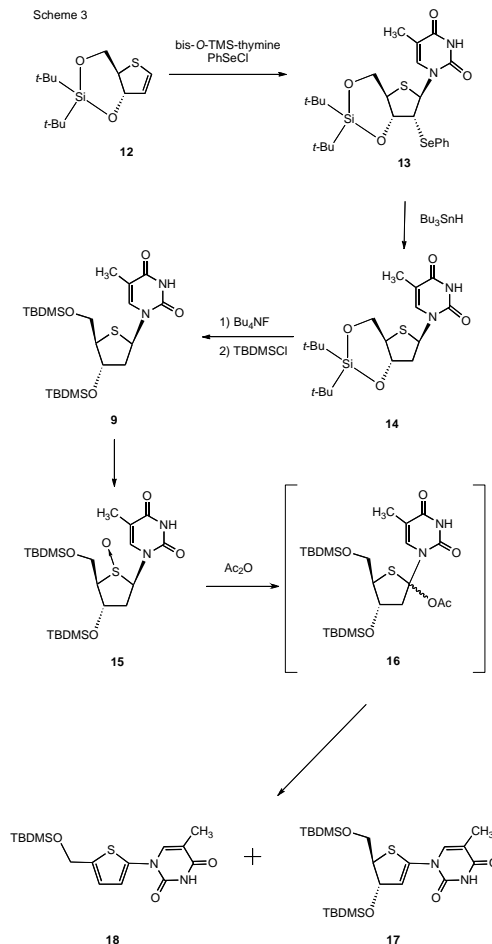


3. 4. 研究の方法・研究成果

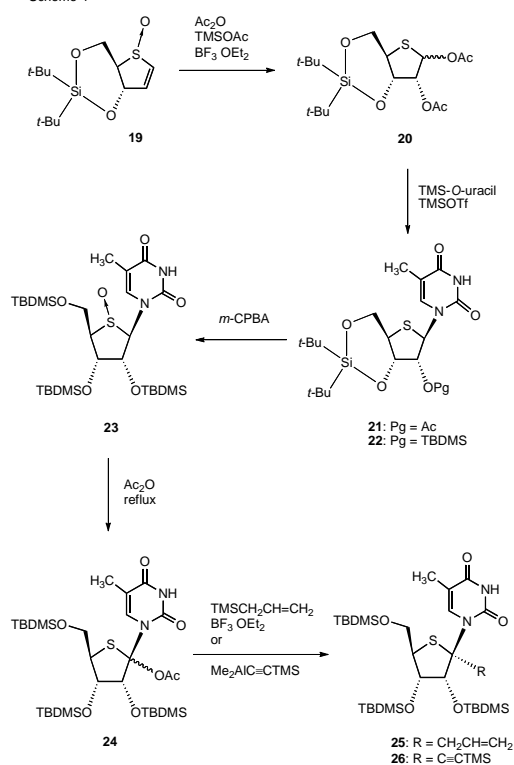
(1) 1'-アセトキシ-4'-チオヌクレオシドの合成と1'-置換誘導体への変換およびその生物活性に関する研究 (Scheme 3、Scheme 4)

3,5-ジ-*O*-(*t*-ブチルシリレン)-4-チオフラノイドグリカル (12) をフェニルセレンニルクロリドの存在下、シリル化したチミンと反応させることによりグリコシル化成績体 13 を得た。化合物 13 のフェニルセレンニル基をラジカル還元した後、14 の水酸基の脱保護 / TBDMS 化により、3',5'-ビス-*O*-TBDMS-4'-チオチミジン 9 を合成した。得られた 9 は *m*-CPBA による酸化を経て、スルホキシド 15 へ変換した。スルホキシド 15 を無水酢酸と加熱還流下、反応させたところ位置選択的な "Pummerer" 転位が進行し 1'-アセトキシ-4'-チオチミジン誘導体 16 が生成した。しかしながら、16 は不安定であり、加熱条件下で酢酸の脱離が進行し、1',2'-不飽和ヌクレオシド 17 および芳香化した 18 へ変換されることが明らかとなった。そこで、4'-チオウリジン誘導体を用いて検討することにした。4-チオフラノイドグリカル *S*-オキシド (19) の additive Pummerer 転位反応により 20 を合成した。得られた 20 とウラシルとの Vorbrüggen 法によるグリコシル化により 4'-チオウリジン誘導体 21 を得た後、21 を 2'-*O*-TBDMS 体 22 へと変換した。ヌクレオシド 22 を *m*-CPBA により酸化したところ、対応する *S*-オキシド 23 がジアステレオマーの混合物として得られた。スルホキシド 23 を先と同

Scheme 3



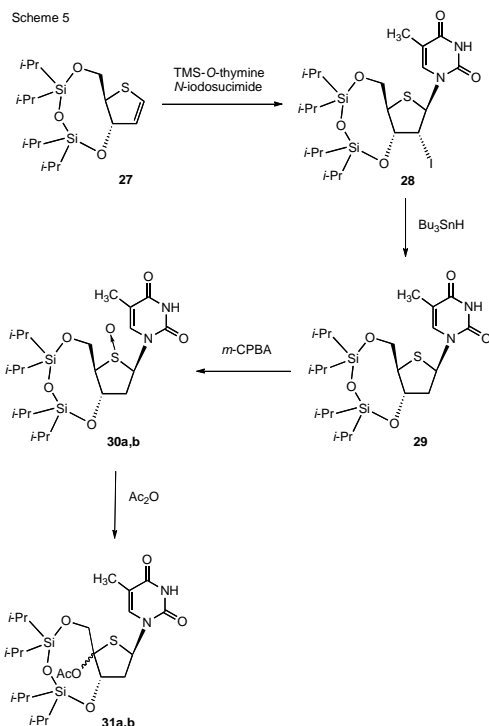
Scheme 4



様の条件下、無水酢酸とのPummerer反応と
 ころ、目的とする1'-アセトキシ体24を得
 ることができた。アセトキシ体24を塩化メ
 チレン中、BF₃·OEt₂の存在下、アリルト
 リメチルシランとの反応を行なった。その結
 果、目的とする1'-C-アルル体25を得るこ
 とができた。一方、Me₃SiC≡C*Li*とMe₂AlCl
 から調製したMe₂AlC≡CSiMe₃を24と反
 応させたところ、アノマー位でのエチニル
 化が進行し、目的とする1'-C-エチニル体
 26を得ることができた。

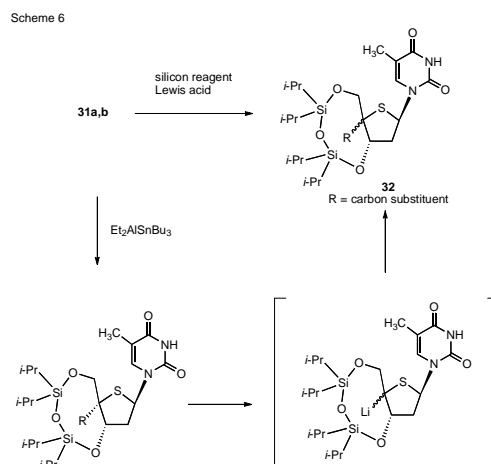
(2) 4'-アセトキシ-4'-チオチミジンの合成と
 4'-置換誘導体への変およびその生物活性に
 関する研究 (Scheme 5、Scheme 6)

Pummerer 転位反応の基質となるスルホキ
 シド30は3,5-O-(1,1,3,3-テトライソプロピ
 ルジシロキサン-1,3-ジイル)-4-チオフラノ
 イドグリカル(27)から合成した(Scheme
 5)。即ち、*N*-ヨードコハク酸イミド(NIS)
 の存在下、27とシリル化したチミンとのグ
 リコシル化反応を行い、グリコシル化成績
 体28を得た。化合物28はヨウ素置換基のラ
 ジカル還元により29へと変換した。化合物
 29を塩化メチレン中、*m*-CPBAで処理した
 ところ、(*R*)-オキシド(30a)と(*S*)-オキシ
 ド(30b)がそれぞれ15%ならびに58%で
 得られた。主成績体として得られた30aを
 無水酢酸中、110 °Cで加熱したところ、
 4'位の位置選択的な水素原子の引抜きを
 伴うPummerer 反応が進行し、4'-アセト
 キシ体3



1a と 31b のジアステレオマーの混合物が
 74%で得られた。

4'-アセトキシ体31をルイス酸の存在下、
 アリルトリメチルシランなどの有機シリコ
 ン試剤と反応させることにより、目的とす
 る4'-炭素置換-4'-チオチミジン32を得るこ
 とができた (Scheme 6)。また、4'-アセトキ
 シ体31とEt₂AlSnBu₃との反応により得ら
 れる4'-トリブチルスタニル体33をリチウ
 ムス交換反応により、4'-リチオ体34とし、
 引き続き炭素求電子剤との反応を利用す
 ることにより、32を得ることができた。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に
 は下線)

(雑誌論文)(計10件)

Haraguchi, K.; Sumino, M.; Tanaka, H. "An
 Alternative Synthetic Method for
 4'-C-Ethynylstavudine by Means of Nucleophilic
 Substitution of 4'-Benzoyloxythymone
 Nucleoside" *Nucleosides, Nucleotides and
 Nucleic Acids*, **26**, 835-839 (2007).

Tanaka, H.; Kubota, Y.; Takeda, S.;

Haraguchi, K. "Synthetic Use of Epoxy-sugar
 Nucleosides" *Nucleosides, Nucleotides and
 Nucleic Acids*, **26**, 547-554 (2007).

Haraguchi, K.; Matsui, H.; Takami, S.;

Tanaka, H. "Additive Pummerer Reaction of
 3,5-O-(di-*t*-butylsilylene)-4- thiofuranoid
 glycol and Stereoselective Synthesis of

β-Anomer of 4'-Thioribonucleosides" *Nucleic Acids Research Symposium*, **51**, 143-144 (2007).

Krishnamurthy, N.; Haraguchi, K.;
Greenberg, M. M.; David, S. S. "Efficient Removal of Formamidopyrimidines by 8-Oxoguanine Glycosylases" *Biochemistry*, **47**, 1043-1050 (2008).

Kubota, Y.; Kunikata, M.; Ishizaki, N.; Haraguchi, K.; Odanaka, Y.; Tanaka, H. "Synthesis of 4'-Benzoyloxycorycepin from Adenosine" *Tetrahedron*, **64**, 2391-2396 (2008).

Haraguchi, K.; Shimada, H.; Tanaka, H.; Hamasaki, T.; Baba, M.; Gullen, E. A.; Dutschman, G. E.; Cheng, Y.-C. "Synthesis and Anti-HIV Activity of 4'-Substituted 4'-thiothymidines: A New Entry Based on Nucleophilic Substitution of the 4'-Acetoxy Group" *J. Med. Chem.*, **51**, 1835-1893 (2008).

Kumamoto, H.; Haraguchi, K.; Ida, M.; Tanaka, H.; Hamasaki, T.; Baba, M. "Synthesis and Antiviral Evaluation of (±)-4'-Ethynyl-5'-difluoro-carbocyclic-d4T analogue" *Nucleic acids Symposium Series*, **52**, 609-610 (2008).

[学会発表](計5件)

原口一広、堀井周文、吉村祐一、有賀史子、田所綾、田中博道、日本薬学会 第127年会(2007) "4'-チオフラノイドグリカルを利用する4'-チオ-C-ヌクレオシドの合成研究"

窪田豊、國方真由美、石崎伸英、大石亜佑美、原口一広、田中博道、日本薬学会 第128年会(2008) "トリメチルアルミニウムを用いる4'-ベンゾイルオキシコルジセピンの求核置換反応"

H. Kumamoto, K. Haraguchi, M. Ida, H.

Tanaka, T. Hamasaki and M. Baba、第35回国際核酸化学シンポジウム(第6回国際核酸化学シンポジウム)(2008)(京都)

"Synthesis and antiviral evaluation of (±)-4'-ethynyl-5'-difluoro-carbocyclic-D4T analogue"

原口一広、屋敷千穂、島田央、田中博道、S. K. Jang、第17回抗ウイルス化学療法研究会(2007)(徳島) "2'位にアジド基ならびにメトキシ基を有する2'-デオキシ-4'-チオリボヌクレオシドの合成とその抗HCV活性"

原口一広、島田央、田中博道、濱崎隆之、馬場昌範、Elizabeth A. Gullen、Ginger E. Dutschman、Yung-Chi Cheng、第18回抗ウイルス化学療法研究会(2008)(鹿児島) "4'位にシアノ基およびエチニル基を有する4'-チオチ

ミジンの合成とその抗HIV活性"

K. Haraguchi, H. Shimada, H. Tanaka International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry (ASMC07) (2007) (St. Petersburg, Russia) "Nucleophilic Substitution of

4'-Acetoxy-4'-thionucleosides: a new access to 4'-substituted 4'-thiothymidines"

K. Haraguchi, H. Shimada, H. Tanaka, T. Hamasaki, M. Baba, E. A. Gullen, G. E. Dutschman, and Y.-C. Cheng International Symposium on Medicinal Chemistry (ISMC07) (2008) (Vienna, Austria)

"Synthesis and anti-HIV activity of 4'-substituted 4'-thiothymidines: a new entry based on nucleophilic substitution of 4'-acetoxy Group"

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)
なし

取得状況(計0件)
なし:

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原口 一広 (HARAGUCHI KAZUHIRO)

昭和大学・薬学部・准教授

研究者番号: 10218638

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし