

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究 C

研究期間：2009～2011

課題番号：21590119

研究課題名（和文） 新規ヌクレオシド誘導体の合成と核酸医薬への展開

研究課題名（英文） Synthesis of Novel Nucleoside Derivatives Applicable to Nucleic Acids Medicine

研究代表者

吉村 祐一 (YOSHIMURA YUICHI)

東北薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：00230813

研究成果の概要（和文）：新規抗 HIV 性ヌクレオシドの開発と高親和性かつ高安定性核酸医薬の開発を目指し、新規ヌクレオシド誘導体のデザインと合成を行った。標的分子としてデザインした化合物は、2,6-ジオキサビシクロ[3.2.0]ヘプタン誘導体、ジヒドロピラン誘導体、ジヒドロチオピラン誘導体を疑似糖部として有する新規ヌクレオシド誘導体である。これらヌクレオシド誘導体のうち、ジヒドロチオピランを疑似糖部とするシチジン誘導体が HIV 増殖に対して阻害効果を示した。

研究成果の概要（英文）：To develop nucleoside derivatives applicable to nucleic acids medicine with high affinity and stability and to search new anti-HIV agents, we designed and synthesized novel nucleoside derivatives. The target compounds were nucleosides having 2,6-dioxabicyclo[3.2.0]heptane, dihydropyran and dihydrothiopyran derivatives as pseudosugar moieties. Among the compounds synthesized, dihydrothiopyranlycytosine showed significant anti-HIV activity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：6804

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, 抗 HIV 活性, 光延反応, Pummerer 反応, イソヌクレオシド, 炭素環ヌクレオシド

1. 研究開始当初の背景

核酸医薬に関しては、RNA 干渉やアプタマーといった新たに発見された概念が短期間のうちに新薬開発に応用され、既にアプタマー医薬が認可されるなど、その進歩には目覚ましいものがある。その一方で、核酸医薬の安定性などの問題はいまだ解決されたとは言えず、その使用法は限定されたものとなっている。核酸医薬の安定性で最も大きな障害となるのが血液中に存在するヌクレアーゼ

などの酵素による鎖切断である。その対策として、修飾ヌクレオシドを導入し、酵素水解に対する抵抗性を持ったアンチセンス・アプタマーの研究が盛んに行われ一定の成果をあげている。申請者は従来の抗腫瘍性・抗ウイルス性ヌクレオシドの探索研究に加え、核酸医薬への展開を目指した新たな機能性ヌクレオシドユニットの設計と合成に取り組むこととした。

2. 研究の目的

報告者は、1) 新規抗 HIV 性ヌクレオシドの探索、2) 核酸医薬への応用を目指したヌクレオシドユニットの開発、の2点を目的として、新規ヌクレオシド誘導体のデザインと合成を行った。このような目的を満たす標的化合物の設定が必要となるが、この点については、近年の報告者の研究結果を元に、その構造活性相関研究の延長で達成できるものと考えた。

3. 研究の方法

報告者は、最近、Fig. 1 に示した双環性ヌクレオシド **1** ならびに炭素環ヌクレオシド **2** の合成に成功しており、特に **2** が弱いながら抗 HIV 活性を有することを明らかにした (*Org. Lett.* **2006**, *8*, 6015; *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3449)。これらの誘導体を合成中間体あるいはリード化合物とし、2,6-ジオキサビシクロ[3.2.0]ヘプタン誘導体、ジヒドロピラン誘導体、ジヒドロチオピラン誘導体を疑似糖部として有する新規ヌクレオシド誘導体をデザインし、その合成を検討することとした。はじめに、双環性ヌクレオシド **1** について、計算化学を駆使し、そのコンホメーション解析を行った。また今回デザインした化合物のうち、2,6-ジオキサビシクロ[3.2.0]ヘプタン誘導体については、先の双環性ヌクレオシド **1** の合成を応用し、その検討を行った。一方、ジヒドロピラン誘導体並びにジヒドロチオピラン誘導体は、炭素環ヌクレオシド **2** をリード化合物とし、その構造活性相関研究の一環としてデザインしたもので、いずれもその構造中にデオキシヌクレオシド 3'位水酸基に相当するヒドロキシメチル基を有している。即ち、これら誘導体はオリゴヌクレオチドへ導入可能なヌクレオシド誘導体であり、前述のとおり核酸医薬への展開を視野に入れた分子設計となっている。これら誘導体の合成と抗 HIV 活性の評価を中心に検討を行った。

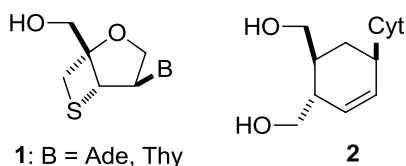


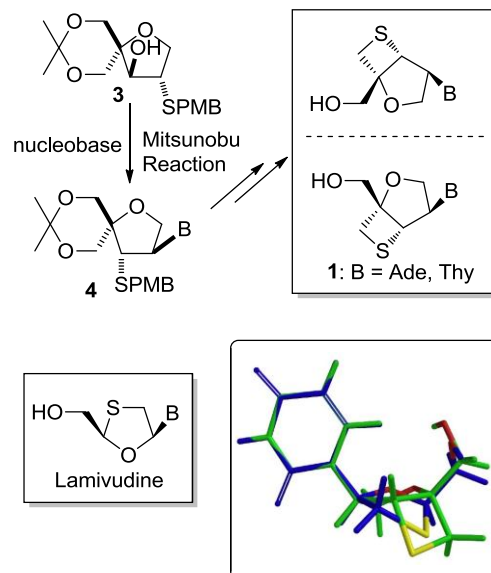
Fig. 1

4. 研究成果

(1) 計算化学を用いた双環性ヌクレオシド誘導体の構造解析

以前の研究で抗HIV薬であるラミブジンを用いた双環性ヌクレオシド **1** は、全く抗HIV効果を示さなかった。そ

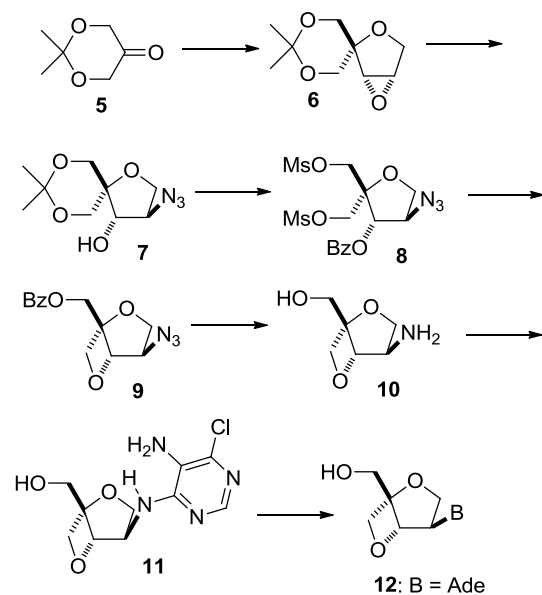
の理由を考察するため双環性ヌクレオシド **1** 並びにラミブジンについてモデル化合物を使い、その最安定構造をB3LYP/6-31G**レベルでDFT計算により導き、その構造比較を行った。計算結果から、5'位ヒドロキシメチル基の配置のわずかなずれが活性の差に表れているのではないかと推定した (Scheme 1)。



Scheme 1

(2) オキセタン縮環型ヌクレオシド誘導体の合成

以前開発したチエタン縮環イソヌクレオシド類の合成中間体であるビシクロエポキシ誘導体 **6** をアジ化ナトリウムと処理しアジド基の導入を行った。

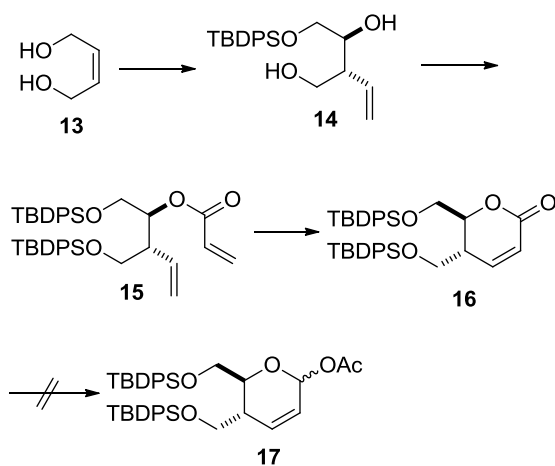


Scheme 2

得られたアジド体**7**の2級水酸基をベンゾイル基で保護した後アセタール基の除去、引き続きメシル化を経て、ジメシル体**8**へ誘導した。ジメシル体**8**をナトリウムメトキシド処理し、オキセタン部の構築を行い、さらに残ったメシル基をベンゾイル基へと変換し、ベンゾエート**9**を得た。ベンゾエート**9**は、アジド基の接触還元を経てアミノ体**10**へと導いた後、このアミノ基を利用し、疑似糖部上にプリン環の構築を行い、目的とするオキセタン縮環イソアデノシン**12**の合成を達成した。得られた化合物の抗HIV活性評価を行ったが、抗HIV活性は認められなかった (Scheme 2)。

(3) ジヒドロピラノスクレオシド誘導体の合成

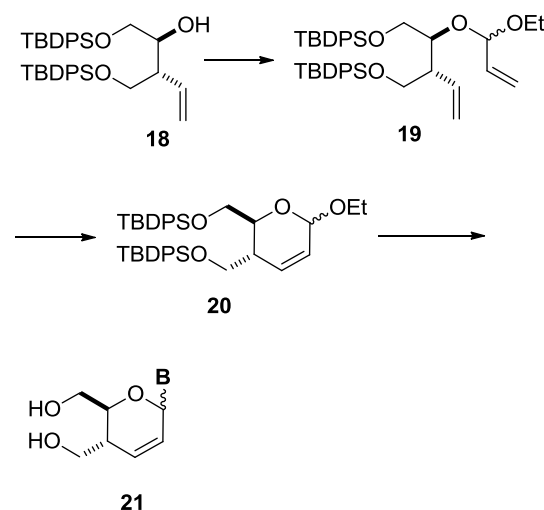
cis-2-ブテン-1,4-ジオールを出発原料とし、既知のビニル体 **14** へ誘導した。1 級水酸基を TBDPS 基で保護した後、アクリル酸エステル **15** へと導き、さらに閉環メタセシス (RCM) 反応により不飽和ラクトン誘導体 **16** を合成した。不飽和ラクトン誘導体 **16** に対する水素化ジイソブチルアルミニウム (DIBAL) 還元により対応するラクトール誘導体 **17** の合成を検討したが、目的物を得ることはできなかった (Scheme 3)。



Scheme 3

そこで、先の中間体であるジシリル体 **18** に対し、アクロレインジエチルアセタールとのアセタール交換により目的とする炭素ユニットを導入した後、Grubbs 触媒による閉環メタセシス反応を行い、ジヒドロピラン誘導体 **20** を合成した。得られたジヒドロピラン誘導体 **20** は、シリル化した核酸塩基との Vorbrüggen 法によるグリコシル化反応に付し、得られたスクレオシド誘導体の脱保護を経て、目的とするジヒドロピラニルスクレオシド誘導体 **21** の合成を行った。しかし、Vorbrüggen 法によるグリコシル化反応では位

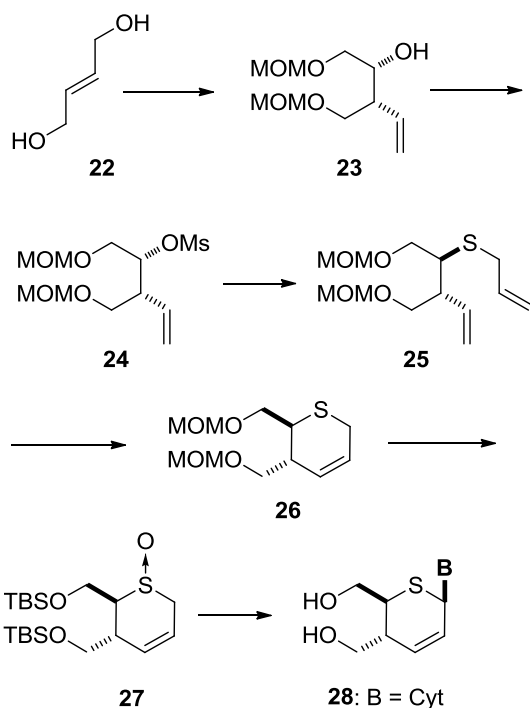
置異性体を含めた 3 種の異性体の混合物を与え、合成効率の点で問題が残った (Scheme 4)。



Scheme 4

(4) ジヒドロチオピラニルスクレオシド誘導体の合成

trans-1,4-ジヒドロキシブタジエン **22** を出発原料とし、エポキシ化と引き続きビニル基の導入により *cis*-ホモアリルアルコール誘導体 **23** へ導いた。得られた *cis*-ホモアリルアルコール **23** に対し、アリルスルフィドユニットの導入を行いジアリル体 **25** へ誘導した。得られたジアリル体 **25** に対し閉環メタセシス反応を行い、ジヒドロチオピラン誘導体 **26** を合成した。このジヒドロチオピラン誘導体 **26** をスルホキシド **27** へ変換した後、当研究室で開発した Pummerer 型チオグリコシル化反応に付し、ジヒドロチオピラノスクレオシド誘導体へ誘導した。これら一連の反応は、当初、ベンジル保護体を用い検討を行っていたが、ベンジル基の除去が困難であったため、目的とするジヒドロチオピラノスクレオシドを得ることはできなかった。そこで下記 Scheme に記載のとおり、合成当初は MOM 基で保護を行い、閉環メタセシスを行った後、保護基を TBS 基へと変換することで対応するスクレオシドの合成を行った。得られたスクレオシド誘導体は、塩基部をシトシンに変換した後、脱保護を行い、目的とするジヒドロチオピラノスクレオシドへ導いた (Scheme 5)。得られた化合物の内、 β -シチジン誘導体 **28** が抗 HIV 活性を有するを見出した。しかし、対照化合物のラミブジンが濃度依存的に HIV の増殖を抑制するのに対し、今回得られた β -シチジン誘導体 **28** は高濃度において、抗 HIV 活性が減弱する現象が認められた (Fig. 2)。現時点では、その理由については不明である。



Scheme 5

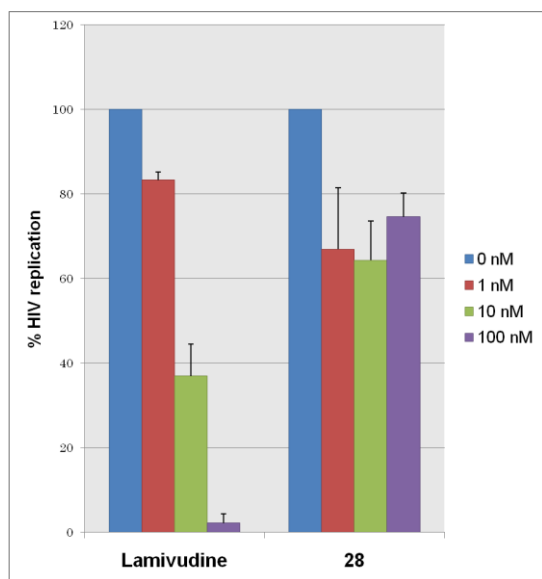


Fig. 2

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 7 件)

- ① 吉村祐一、高畑廣紀
 グリコシド結合形成反応の開発と新規生物活性ヌクレオシド誘導体合成への展開
有機合成化学協会誌, **67**, **2009**, 798-808.

- ② Yoshimura, Y.; Yamazaki, Y.; Saito, Y.; Takahata, H.
 Synthesis of 1-(5,6-Dihydro-2H-thiopyran-2-yl)uracil by a Pummerer-type Thioglycosylation Reaction: The Regioselectivity of Allylic Substitution
Tetrahedron, **65**, **2009**, 9091-9102.
- ③ Yoshimura, Y.; Asami, K.; Imamichi, T.; Kuroda, T.; Shiraki, K.; Takahata, H.,
 Design and Synthesis of Isonucleosides Constructed on a 2-Oxa-6-thiabicyclo[3.2.0]heptane Scaffold
J. Org. Chem., **75**, **2010**, 4161-4171
- ④ Yamada, K.; Hayakawa, H.; Sakata, S.; Ashida, N.; Yoshimura, Y.,
 Synthesis and Antiviral Evaluation of α -D-2',3'-Dideoxy-2',3'-C-hydroxymethyl Nucleosides
Bioorg. Med. Chem. Lett., **20**, **2010**, 6013-6016
- ⑤ Yoshimura, Y.; Yamazaki, Y.; Saito, Y.; Natori, Y.; Imamichi, T.; Takahata, H.,
 Synthesis of 5-Thiodideohydropyranylcytosine Derivatives as Potential anti-HIV Agents
Bioorg. Med. Chem. Lett., **21**, **2011**, 3313-3316.
- ⑥ Haraguchi, K.; Horii, C.; Yoshimura, Y.; Ariga, F.; Tadokoro, A.; Tanaka, H.,
 An Access to the β -Anomer of 4'-Thio-C-ribonucleosides: Hydroboration of 1-C-Aryl- or 1-C-Heteroaryl-4-thiofuranoid Glycals and Its Regiochemical Outcome
J. Org. Chem., **76**, **2011**, 8658-8669.
- ⑦ Yoshimura, Y.; Kan-no, H.; Kiran, Y. B.; Natori, Y.; Saito, Y.; Takahata, H.,
 A New Route to N1-Substituted Uracil Derivatives Using Hypervalent Iodine
Synthesis, **44**, **2012**, 1163-1170.

[学会発表] (計 9 件)

- ① 吉村祐一、太田匡俊、今堀龍志、高畑廣紀
 超原子価ヨウ素試薬によるアリルシランと核酸塩基のカップリング反応を利用した新規炭素環ヌクレオシド合成法の開発
 第95回有機合成シンポジウム, 平成21年6月10日, 東京

- ② 山崎佳子、吉村祐一、高畑廣紀
核酸医薬への応用を目指したジヒドロ
チオピラノヌクレオシドのデザインと
合成
第28回メディシナルケミストリーシン
ポジウム
平成21年11月26日、東京
- ③ 山崎 佳子、吉村 祐一、斎藤有香子、
高畑 廣紀、ジヒドロチオピランを疑似
糖部とする新規ヌクレオシド誘導体の
デザインと合成
第40回複素環化学討論会、平成22年
10月16日、仙台
- ④ 吉村 祐一、小林 学史、金子 仁美、
鈴木 剛、高畑 廣紀、2,6-Dioxabicyclo[
3.2.0]heptane 骨格を有するイソヌクレ
オシドのデザインと合成
第29回メディシナルケミストリーシ
ンポジウム、平成22年11月18日、京都
- ⑤ 吉村 祐一、和知克典、山崎佳子、高畑
廣紀、ラジカル環化を用いた炭素架橋
シクロヌクレオシドの合成
日本薬学会第131年会、アブストラクト
のみ公表、静岡（震災により中止）
- ⑥ Yuichi Yoshimura, Yoshiko Yamazaki,
Yukako Saito, Yoshihiro Natori, Tomozumi
Imamichi, Hiroki Takahata, Design and
Synthesis of 5'-Thio-pyrano-nucleosides as
Potential Anti-HIV Agents
8th AFMC International Medicinal
Chemistry Symposium (AIMECS11), 2011
年12月1日、東京
- ⑦ Yuichi Yoshimura; Hiroki Takahata,
Synthesis of Nucleoside Derivatives using
Novel Glycosylation Reaction
6th International Conference on
Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia
(ICCEOCA-6), 2011年12月12日、香港
- ⑧ Yoshiko Yamazaki, Yuichi Yoshimura,
Yukako Saito, Yoshihiro Natori, Tomozumi
Imamichi, Hiroki Takahata, Design and
Synthesis of a Novel Ring-expanded
Dihydrothiopyranyl Nucleosides
15th SIGMA-ALDRICH Organic Synthesis
Meeting, 2011年12月1日、ベルギー
- ⑨ 吉村 祐一、尾本 瞬、湊 咲絵、斎藤
有香子、名取 良浩、高畑 廣紀、ジヒ
ドロピラノヌクレオシドの合成

日本薬学会第132年会, 2011年3月29
日、札幌

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉村 祐一 (YOSHIMURA YUICHI)
東北薬科大学・薬学部・准教授
研究者番号：00230813

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし