

氏名	こう やま なお き 神 山 直 樹
学位(専攻分野)	博士 (人間・環境学)
学位記番号	人 博 第 288 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	人間・環境学研究科文化・地域環境学専攻
学位論文題目	Synthesis of Nucleoside Derivatives Directed toward Clarification of Glucose Metabolism Activation (糖代謝活性化機構解明を目指したヌクレオシド誘導体の合成) (主査)
論文調査委員	教授 山本行男 教授 山口良平 教授 田村 類 助教授 林 達也

論 文 内 容 の 要 旨

エネルギー代謝制御にかかわる酵素である AMP 活性化タンパク質リン酸化酵素 (AMPK) は運動による筋収縮により活性化されることから、運動療法がもつ抗糖尿病効果の発現要因として注目されている。すなわち、この酵素を選択的に活性化することができれば運動をしなくても運動をしたのと同程度の糖代謝活性化効果が期待でき、新しいタイプの抗糖尿病薬創製のターゲットになると期待されている。酵素 AMPK の活性化剤として AICAR (5-Amino-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide) が有望視されているが、AICAR は入手困難でありその類縁体の合成研究も十分ではない。そのことが糖代謝活性化機構の解明の障害となっている現実がある。そこで申請者はこの AICAR に着目し、糖代謝活性化機構の解明を展望して、AICAR 自体及びその誘導体の系統的合成法の確立を目的とする研究を実施した。

最初に、申請者は糖部分と塩基部分を縮合させる既知の方法を AICAR に応用する合成法を考案した (Chapter 2)。この合成経路によって全 7 段階、総収率 1.4% で AICAR を合成できたが、現在知られている合成法に比較して大きな改善とは評価できないので、より実用的な合成法確立を目指した。すなわち、安価で入手容易なイノシンを出発原料とする AICAR 合成を考案した (Chapter 3)。ベンジル基で保護したイノシンは加水分解によって開環し、ベンジル基保護 AICAR を与えたものの、脱ベンジル化反応が進行しなかった。そこで、塩基部分とベンジル基を遠ざければ容易に脱ベンジル化が進行すると考え、アミナル型保護基ベンジロキシメチル基を導入することを計画した。実際には糖部分の保護基を除去後、水酸化ナトリウム水溶液中で加熱還流したところ、想定した保護された AICAR ではなく、開環反応と同時にアミナル保護基も脱離して、最終目的化合物である AICAR を得た。この予想外の反応はアミジン加水分解と協奏的に起こるホルムアルデヒドとアルコキシドイオンの脱離に起因すると考え、この想定された反応機構をもとに最適条件検索を開始した。実際には、種々のアルコキシメチルイノシンを合成し、それらから AICAR へ誘導する反応経路を検討した。その結果、これら化合物は予想どおり AICAR を好収率で与えた。その中で、メトキシエトキシメチル体は最も収率よく AICAR を与え、ここにイノシンから全 4 段階、総収率 56% という実用的な AICAR 合成法を確立することができた。

AICAR は細胞膜透過性が低く、また細胞内ですばやく代謝されるので、AMPK を活性化させるためには過剰量の投与を必要とする。脂溶性の高い 2 位置換 AICAR 誘導体はこの欠点を克服できると考え、申請者は Chapter 3 で開発した方法を応用してその合成を実施した (Chapter 4)。塩基部にアリール基を導入した核酸類縁体は抗ウイルス剤や抗腫瘍剤の候補化合物として盛んに合成されているので、置換基としてアリール基を選択した。また、その導入反応には安全性と環境負荷を考慮して、鈴木カップリングを用いることにした。まず AICAR 自体を出発原料としてその臭素化を試みたが、望む反応は進行しなかった。そこでアデノシンを出発原料として、その臭素化、鈴木カップリング、トリオール保護、酸化的脱アミノ化、アミナル保護基の導入、それに続く開環反応という合成経路を考案した。実際の反応の結果、最終的に目的とするフェニル基、置換フェニル基、複素環置換基、及び置換ビニル基を有する 7 種類の 2-アリール AICAR 誘導体の合成に成功した。今回合成した 2-アリール AICAR 誘導体はまったくの新規化合物であり、2 位置換 AICAR の系統的合成

法を確立することができた。

次に、AMPK 活性化の活性本体が AICAR の一リン酸化物 (ZMP) であることから、申請者は合成ターゲットを ZMP 類縁体に拡張した (Chapter 5)。実際には、細胞内で加水分解されやすい糖リン酸エステルを、分解されない糖ホスホン酸に置き換える分子設計をもとに以下の合成を実施した。保護されたイノシンから出発して、アルデヒドへの酸化、ホスホン酸の導入、続く水素添加によってイノシンホスホン酸エステルを得た後、Chapter 3 で記載した AICAR への変換反応を利用して目的物合成を達成した。また、ZMP の糖リン酸エステル結合の酸素原子を窒素原子で置換した類縁体は細胞内加水分解酵素の基質になりにくいと考え、その合成研究を実施した (Chapter 6)。現在その合成の途中であるが、鍵中間体であるアミノスクレオシドの合成は達成している。

最後に、2-アリアル AICAR 誘導体に関して、AMPK に対する生化学的評価を実施した (Chapter 7)。それら誘導体には AMPK に対する直接的な活性化能あるいは阻害能を見いだせなかったが、合成した対照化合物との比較から糖部分の環構造の重要性を明らかにすることができた。

論文審査の結果の要旨

細胞内情報伝達を司る酵素である AMPK は運動による筋収縮により活性化され、最終的には糖代謝をうながす効果があることがら、運動療法がもつ抗糖尿病効果の発現要素として注目されている。最近、AMPK を活性化する物質として AICAR (5-Amino-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide) が強い関心を集めているが、その関連物質群の合成研究が不十分であるため、その活性化機構の詳細は明らかにされていない。そこで申請者は、糖尿病治療薬開発に繋がる糖代謝活性化機構の解明を展望して、AICAR それ自身とその誘導体の系統的合成法の確立を目指したが、その着眼は妥当であり、新規性にも富むと評価される。本論文の成果とその評価を章ごとに以下に記載する。

AICAR は入手困難であり、そのことが誘導体合成研究及び生化学的研究遂行を妨げる一因となっている。そこで申請者は実用的合成法確立を目的として、既知の方法を応用した AICAR の合成から研究を開始した (Chapter 2)。この方法で望む AICAR は調製できたが、多段階を要し全収率も低く実際的ではなかった。次に、申請者は入手容易なイノシンを出発原料に選び、塩基骨格の開環的加水分解を鍵反応とする新規合成法を考案し、それを実際的に検証した。すなわち、アルカリ性加水分解に耐性であるイノシンをベンジル体に誘導し、それを加水分解して AICAR を合成する試みである (Chapter 3)。開環的加水分解は予想どおり円滑に進行したものの、その脱ベンジル化は種々条件を検討したが進行しなかった。そこで脱ベンジル化を容易にするため、環に直接ではなくアミナル型保護基を導入することを考案した。実際には O-アセチル化、N-ベンジルオキシメチル化、脱アセチル化を経て、アルカリ性条件下での開環反応を実施した。その結果、開環しただけではなく、N-保護基も同時に脱離して最終目的物である AICAR が得られた。この新しい反応の有用性を実際的なものとするため、申請者は各種 N-アルコキシメチル化剤を取り上げ、その導入と開環反応の条件を精査した。その結果、メトキシエトキシメチル基が最も良好な結果を与えることが分かり、ここに AICAR の新規合成法を確立した。その研究方法は着実で、再現性も十分吟味されており、実用的合成法を確立した研究と評価できる。開環に伴う保護基の脱離について反応機構を提案しているが、それはアルコキシメチル基の構造上の特性に立脚した合理的なものだと判断される。このことは申請者の有機化学基礎力の確かさの証左であると考えられる。

AICAR の酵素活性化能の限界はそのすばやい代謝と低い脂溶性にあることから、申請者は疎水性置換基を有した類縁体の合成を計画した (Chapter 4)。プリンヌクレオシドで抗ウイルス剤・抗腫瘍剤として期待されているアリアル置換体に着目して、AICAR へのアリアル基の導入を計画した。最初、この類縁体を AICAR 自体から誘導することを試みたものの満足できる結果は得られなかった。そこで先の合成法を応用して、プリン体でのアリアル基の導入とそれに続く開環反応による合成法を考案した。種々反応経路と反応条件を検討した結果、アデノシンを出発原料とする合理的経路を確立することに成功した。すなわち、アデノシンの臭素化、O-アセチル化、酸化的脱アミノ化、N-メトキシエトキシメチル化を経て、アルカリ性条件下で上述の開環反応を実施した結果、合計 7 種の新規アリアル AICAR 誘導体の調製に成功した。この研究において物質の同定は確実で、再現性も十分確認しており、着実な合成研究であると評価できる。

また、申請者は AMPK 活性化の本体が AICAR の一リン酸エステル (ZMP) であることに注目して、高活性で安定な

ZMP 類縁体の創製を目指し ZMP のメチレン類縁体 (Chapter 5) と窒素原子置換類縁体 (Chapter 6) の合成研究を実施した。これらはリン酸エステルと異なり生体内条件で加水分解を受けない一方、AMPK に対して ZMP と同等の相互作用が発現されると期待される。種々反応経路を検討して、メチレン類縁体の合成を達成した。その一方、窒素原子置換類縁体は合成できていないが、鍵化合物であるアミノヌクレオシドの合成は完了している。全体を通して独創的合成計画を考案しており、条件の検討も十分であり、着実な足跡を残していると評価できる。

最後に合成物質の AMPK に対する生物学的評価を実施しており、これは全般的にはそのアッセー法の模索段階と評価されるが、その中において活性に対して糖環状構造が必須であるという結論は着実な成果と評価できる (Chapter 7)。

以上のように、本学位申請論文は AICAR とその誘導体を標的に選び、核酸関連物質の合成研究に新たな局面を開いたものと評価できる。なお、本論文を構成する重要な部分は既に学会誌に掲載され、高い評価を受けている。

また本学位申請論文は、人間と環境との良好な関係を創製する自然科学考究を目的とする文化・地域環境学専攻、環境保全発展論講座の理念にかなったものと言える。

よって本論文は博士 (人間・環境学) の学位論文として価値あるものと認める。また、平成17年1月21日、論文内容とそれに関連した事項について諮問を行なった結果、合格と認めた。