

氏名(本籍) やま 山 じ 次 のぶ 信 ゆき 幸

学位の種類 薬 学 博 士

学位記番号 薬 第 199 号

学位授与年月日 昭和56年3月11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 Adenosine 3', 5'-Cyclic Phosphate 誘導体の合成ならびに薬理作用に関する研究

(主 査)

論文審査委員 教授 南 原 利 夫 教授 加 藤 鐵 三

教授 橋 本 嘉 幸

論文内容要旨

Adenosine 3',5'-cyclic phosphate (c-AMP) は 1957年, ホスホリラーゼを活性化する因子として Sutherlandらにより, また adenosine 5'-triphosphate (ATP) の水酸化バリウムによる分解産物の一つとして Lipkinらにより, それぞれ別個に発見された。以来, 数多くの研究が行われ, ホルモンを first messenger と呼ぶのに対し, second messenger とまで言われる程きわめて重要な化合物として認識されるに至った。近年にいたり, 本化合物は発酵法によって比較的安価に供給されるようになった。c-AMP それ自体は顕著な薬理活

性を示さないが, 化学修飾によって得られる $N^6, 2'O$ -di-*n*-butyryl c-AMP に利尿ならびに強心作用が見出され, さらに制癌効果を有することも明らかにされた。

著者はこれら薬理作用の増強を目的として, c-AMP 誘導体の合成を企てた。まず, 8位誘導体 9種および 1, N^6 -etheno (ϵ) 8位誘導体 8種を合成した (Table I)。

ついで, Yipらの方法で製した 2-aza ϵ c-AMP (4) に *N*-bromosuccinimide (NBS) 等のハロゲン化剤の反応を試み, エテノ環が脱離した 2-aza c-AMP (5) が得られることを見出した (Chart 1)。

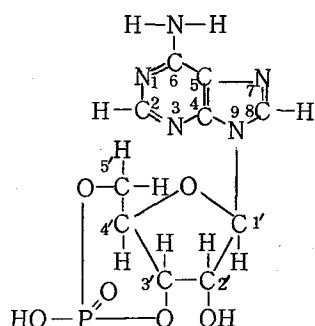
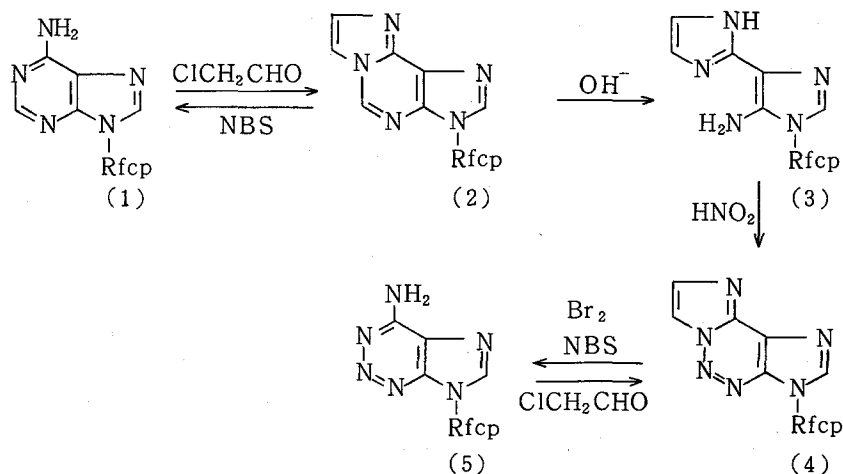


Fig. 1 Adenosine 3',5'-Cyclic Phosphate (c-AMP)



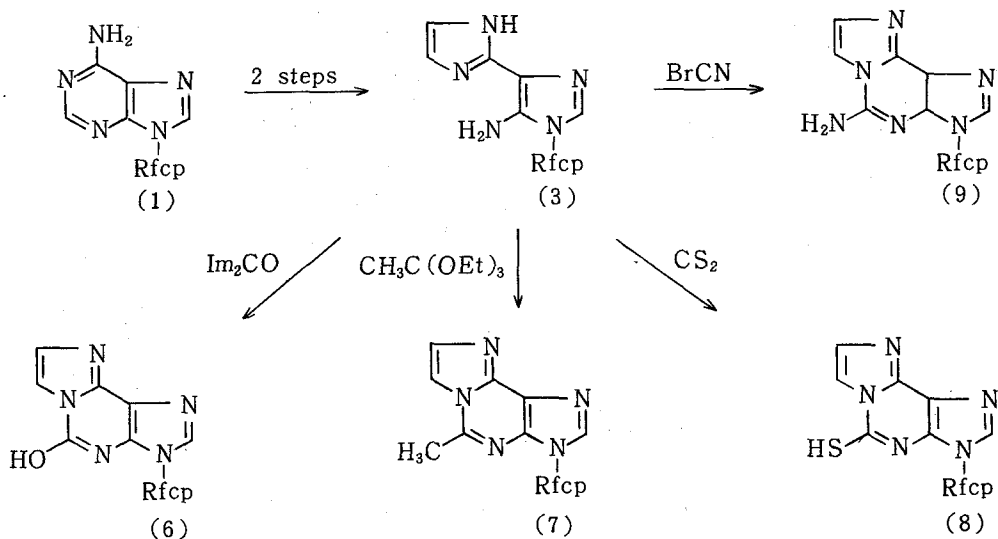
Rfcp : β -D-(3',5'-cyclic phospho)-ribofuranosyl

Chart 1

2位誘導体は2つの方法で合成されている。すなわち、1) 2置換 adenosine の5'位をリン酸化し、ついで3'位と閉環する方法、2) c-AMP から4工程で5-amino-1-β-D-ribofuranosyl-imidazole-4-carboxamide cyclic 3',5'-phosphateを合成し、種々の環化剤を用いて閉環する方法である。しかし、1)では adenosine もしくは5-amino-1-β-D-ribofuranosyl-4-carboxamide (AICA-riboside) から2置換 adenosine を合成せねばならず、一方2)では中間体が amino 基、imino 基を有するため、合成可能な誘導体が限定され、収率も必ずしも良くない。そこで、2-aza c-AMP (5) の合成の際見出した脱エテノ化反応を利用し、各種2置換 c-AMPを得る方法の開発を試みた。

まず、ε c-AMP 水解物 (3) の直接閉環反応により、2-hydroxy, 2-methyl, 2-mercapto, 2-amino ε c-AMP (6-9) を得た (Chart 2)。ついで、(8) の SH 基の反応性に注目し、2-alkylmercapto ε c-AMP (10_{a-f})、2-benzylmercapto ε c-AMP (10 g)、2-bromo ε c-AMP (11) を、また (11) に各種置換反応を行い、2-dimethylamino, 2-azido, 2-methoxy ε c-AMP (12-14) を合成した (Chart 3)。これらの2置換 ε c-AMP を NBS による脱エテノ化反応に付したところ、期待通りそれぞれ対応する2置換 c-AMP が得られた (Chart 4)。

つぎに、脱エテノ化反応を用いて、制癌作用が期待される2-halogeno c-AMP の合成を行った (Chart 5)。2-Iodo, 2-chloro c-AMP (26, 27) は (8) から2-iodo, 2-chloro



Rfcp : β-D-(3',5'-cyclic phospho)-ribofuranosyl

Chart 2

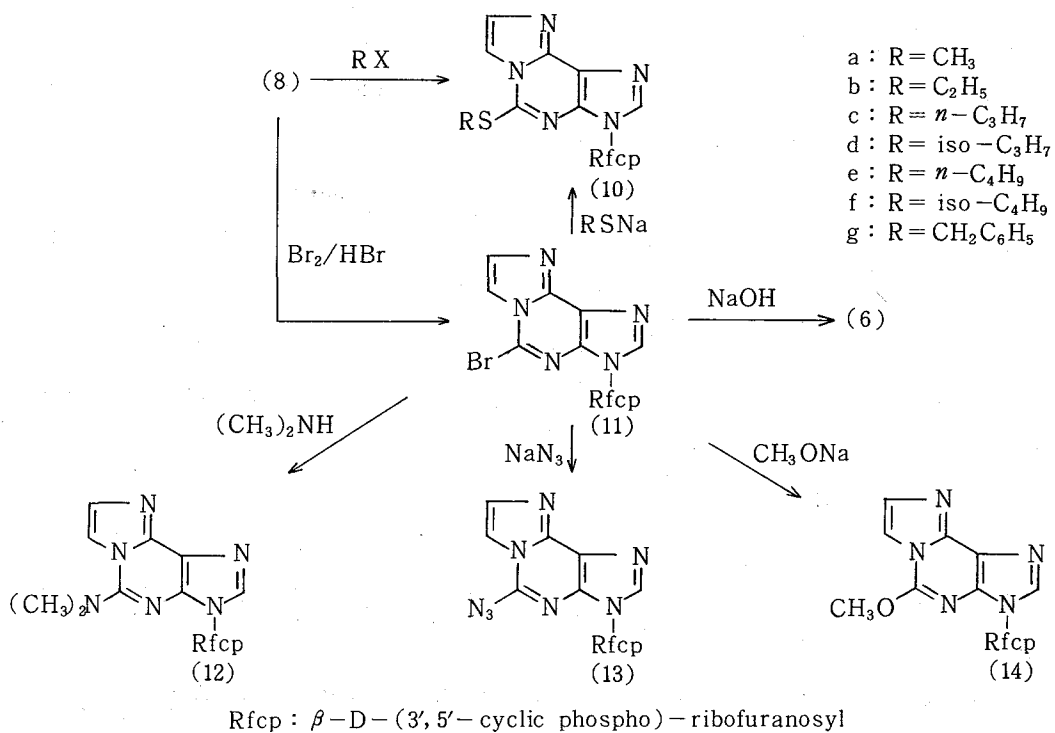


Chart 3

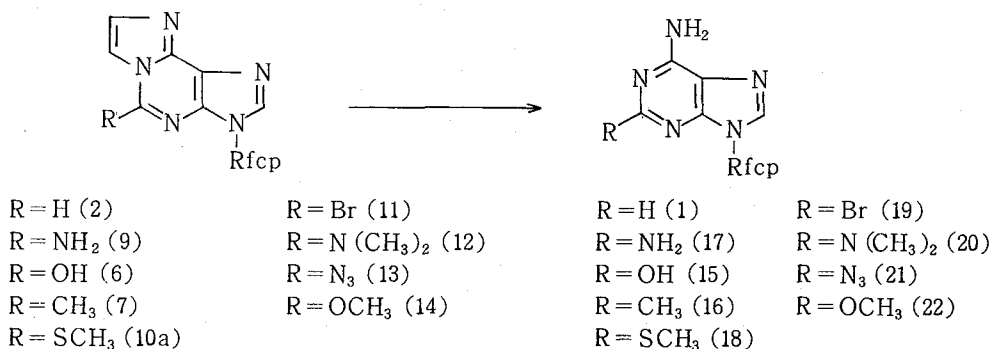


Chart 4

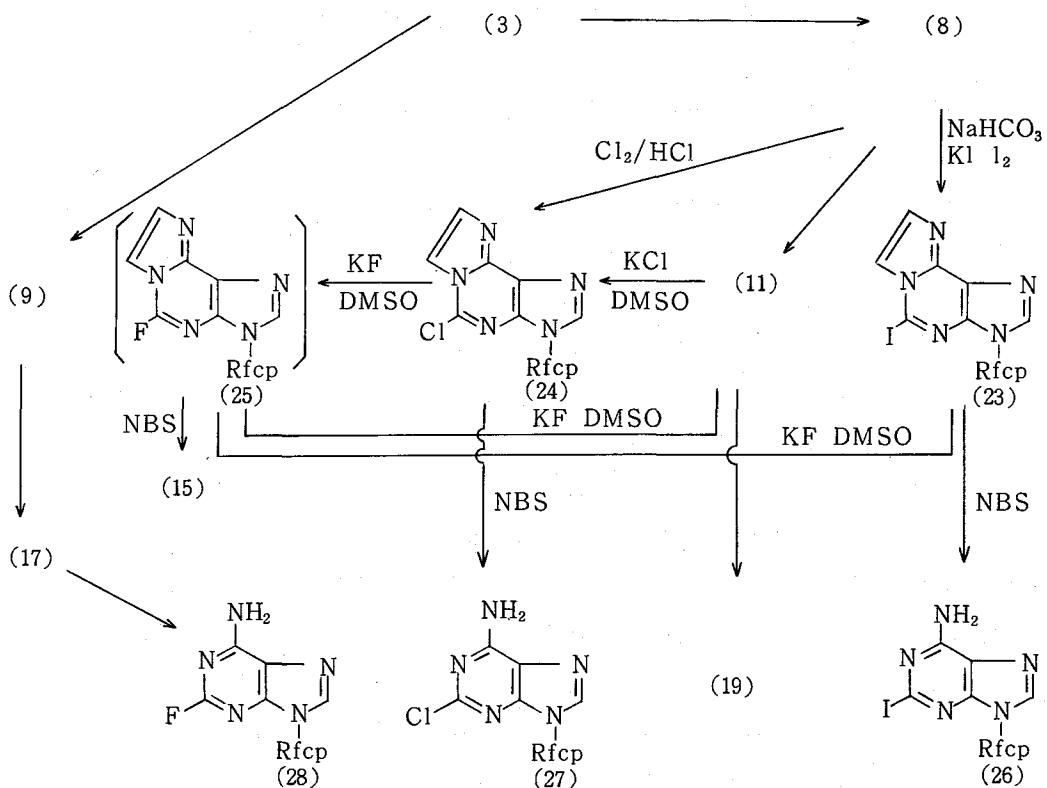


Chart 5

ϵ c-AMP (23, 24) を経て、また 2-fluoro c-AMP (28) は脱エテノ化反応で得た 2-amino c-AMP (17) に Schiemann 反応を行うことにより合成した。

2 位に電子吸引性の基を導入した場合にも、脱エテノ化反応が進行することを 2-sulfonyl c-AMP (32), 2-carboxy c-AMP (37) を合成することにより明らかとした (Chart 6)。

以上、エテノ環を保護基とする 2 置換 c-AMP の新合成法が確立されたが、本法により優れた結果が得られるのは、エテノ環形成により複雑な副反応が生じにくいためと考えられる。2-mercapto c-AMP (30) から 2 位へのハロゲンの導入は困難であるが、(8) からは容易である。また各種 2 置換 ϵ c-AMP は 2-bromo ϵ c-AMP (11) の求核置換反応により容易に得られるが、2-bromo c-AMP (19) では困難である。このように、エテノ環の導入は 2 置換 c-AMP の合成において安定性、反応性の両面に有利である。なお、脱エテノ化反応が adenosine 誘導体でも進行することは、2-aza および 2-amino adenosine で確認された。

つぎに、2-aza ϵ c-AMP (4) を用い脱エテノ化反応の機構を検討した。2 倍モルの NBS を

TABLE I. Cardiac Actions of 8-Substituted Cyclic AMP Derivatives
(0.5 mg/ml) in Guinea Pig Atria

Chemical structure	R =	Positive chronotropic	Positive inotropic
	SH	79.5 ± 4.2	134.4 ± 20.3
	OH	84.7 ± 0.3	119.3 ± 12.3
	SCH ₂ C ₆ H ₅	84.2 ± 6.7	89.9 ± 3.6
	N ₃	68.4 ± 2.1	47.9 ± 7.6
	SCH ₃	59.8 ± 3.9	40.2 ± 3.3
	OCH ₃	56.2 ± 3.1	28.9 ± 9.7
	N(CH ₃) ₂	31.8 ± 12.8	20.1 ± 1.1
	Br	62.3 ± 6.2	27.9 ± 11.6
	NH ₂	variable*	variable*

% of the maximum response to Isp. Mean ± S. E. (n=4).

* Either a positive (2/4) or a negative effect (2/4) was observed.

よび positive chronotropic 作用を示した (Table I)。

2) 2 置換 c-AMP は $10^{-8} \sim 10^{-4}$ g/ml の範囲で, negative inotropic および negative chronotropic 作用を示し, その強さは $X > OH > NH_2$ の順であった。

3) 8 置換 ϵ c-AMP は 10^{-4} g/ml までほとんど作用を示さなかった。

4) 2 置換 ϵ c-AMP は $10^{-6} \sim 10^{-4}$ g/ml の範囲で, 用量依存的に negative inotropic および negative chronotropic 作用を示した。

制癌効果:

Mastocytoma P-815 癌化肥満細胞を用い in vitro における c-AMP 誘導体の増殖抑制効果を検討した。

1) 2 置換 c-AMP のうちハロゲン体が特に効果が強く, F 体は c-AMP の約 2200 倍, Cl 体は 100 倍の活性を示した。

2) 8 置換 c-AMP はメチルメルカプト体以外はすべて c-AMP より作用が強く, $NH_2 > OH > SH = N(CH_3)_2 = N_3 = Br = SCH_2C_6H_5 > OCH_3$ の順であった。

3) 2 置換 ϵ c-AMP はジメチルアミノ体以外はすべて対応する 2 置換 c-AMP より作用が弱かった。

4) 8 置換 ϵ c-AMP は 8 置換 c-AMP と比較し顕著な差はみられなかったが, メルカプト体のみは極度に弱かった。

以上, c-AMP 誘導体は強心および制癌作用がいずれも c-AMP それ自体よりはるかに強く, 化学修飾により c-AMP の薬理活性を増強し得る可能性が示された。

審査結果の要旨

Adenosine 3',5'-cyclic phosphate (c-AMP)はそれ自体顕著な薬理作用を示さないが、その誘導体のN⁶,2'-O-di-n-butryl c-AMPには、強心利尿、制がん作用がみられる。近年、c-AMPは発酵法によって比較的安価に供給されるようになったため、化学修飾による優れた医薬の開発が期待できるにいたった。本論文はこのような観点に立ち、c-AMPの各種2位置換誘導体を合成すると共に、それらの薬理作用を検討し、構造活性相関を明らかにしたものである。

まず、1, N⁶-etheno (ε) c-AMP 水解物を直接閉環反応に付し、2-hydroxy, 2-methyl, 2-mercapto, 2-amino ε c-AMPを製した。ついで2-mercapto体のSH基に着目し、一連の2-alkylthio ε c-AMPを、また2-bromo ε c-AMPを用い2-dimethylamino, 2-azido, 2-methoxy体を合成した。これらの2位置換 ε c-AMPをN-ブロムコハク酸イミドによる脱エテノ化反応に付したところ、いずれも好収率で対応する目的物を与えた。つぎに2-halogeno c-AMPの合成を試みた。すなわち2-fluoro体は2-amino c-AMPにSchiemann反応を行うことにより、一方2-iodo, 2-chloro体は対応する2-halo ε c-AMPを経て製した。

さらに脱エテノ化反応の機構を2-aza ε c-AMPについて検討した。N-ブロムコハク酸イミドのモル比を変えて生成物を精査し、その結果にもとづいて推定機構を提出した。

ここに得られたc-AMP誘導体についてモルモット心房標本を用い、inotropic並びにchronotropic作用を検討し、構造活性相関に考察を加えた。またがん化肥満細胞を用い、増殖抑制効果を検定したところ2-fluoro体が顕著な活性を示した。

以上、本研究は1, N⁶-etheno基導入による保護、N-ブロムコハク酸イミドによる脱エテノ化を組み合わせる各種2位置換c-AMPの合成に成功し、c-AMPの化学に数々の新知見を加えると共に、化学修飾によりc-AMPの薬理効果を増強し得る可能性を明らかにしたものであり、学位論文として十分価値あるものと認める。