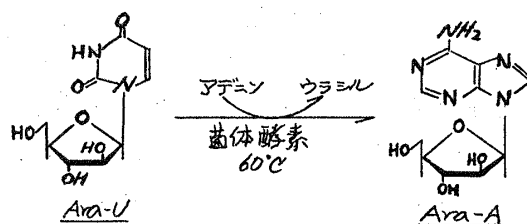


プリンアラビノシド類の酵素的合成

(味の素中研) ○宇多川 隆, 森沢弘知, 中松 亘, 山中 茂, 山崎昭弘,

1. 目的 1950年代にキミン及びウラシルを含むアラビノシドが見い出されて以来、多くのアラビノシドが化学的に誘導されてきた。特にピリミジン系アラビノシドの開発は早く、シトシンアラビノシド(Ara-C)は既に制ガン剤として使用されている。一方、プリン系アラビノシドは合成反応が複雑で開発が遅れていたが、アデニンアラビノシド(Ara-A)が発酵法で生産されることが見い出され、かつ、抗ウイルス性にすぐれていることから、急速に開発が進められてきた。又、グアニンアラビノシド(Ara-G)やヒポキサンチンアラビノシド-5'-リン酸(Ara-HxMP)等にも抗ウイルス作用があることが報告されている。更に、非天然系の塩基である6-メルカプトプリンや6-メチルグアニンを含むアラビノシドには制ガン作用があることが知られており、これらのプリン系アラビノシドの簡易な合成法が待たれていた。我々は、既にAra-Aを合成することを目的として化学的手法と酵素的手法を組み合わせるという新しい手段で開発に着手し、右の反応を触媒する菌株及び反応条件を見い出すことにより、収率よくAra-Aを合成することに成功した。



今回、我々は生理活性プリンアラビノシド類を合成することを目的として、天然及び非天然の塩基類を反応せしめることを試みた。

2. 方法 酵素反応基質のAra-Uは、ウリジンをエチレンカーボネート中にて140℃、3時間反応してシクロウリジンを合成後、酸処理することにより得た。Enterobacter aerogenes AJ 11125は、Ara-A合成の最も優れた菌株としてスクリーニングされたもので、ブイヨン培地にて30℃、24時間培養したものを使用した。酵素反応は、Ara-U(30mM)と各種プリン塩基(10mM)をリン酸バッファー(25mM, pH 7.0)に溶解し、Enterobacter aerogenes AJ 11125存在下60-63℃、18-36時間、ゆるやかに攪拌することにより行なった。反応後、反応液のpHを4.0に調節し、遠心分離にて除菌した後、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過、冷却晶析を組み合わせて、目的とするプリンアラビノシドを単離結晶化した。得られた結晶は、NMR, UV, IR, 各スペクトル及び元素分析により同定した。アラビノシドの抗菌作用は、ハロ法により検討し、アデノシンデアミナーゼの作用は、マウスの新鮮血液を用いて検討した。

3. 結果 既報のアデニンアラビノシド(Ara-A)の他、アデニンアラビノシド-N¹-オキシド(Ara-A-N¹-oxide), ヒポキサンチンアラビノシド(Ara-Hx), 2-アミノプリンアラビノシド(Ara-2-AP), 2,6-ジアミノプリンアラビノシド(Ara-DAP), グアニンアラビノシド(Ara-G), 2-メチルヒポキサンチンアラビノシド(Ara-2CH₃-Hx), 2-メチルアデニンアラビノシド(Ara-2CH₃-A)

シンポジウム(アミノ酸核酸)

2-フルクトシホキシサンチンアラビノシド(Ara-2-Cl-Hx)を酵素的に合成した。得られたこれらのアラビノシドのNMRスペクトルの6.2ppm付近に認められるメトリックなプロトン(カップリング定数4.5Hz)のシグナルにより生成物が α - β -D-プリン系アラビノシドであることを確認した。(図-1)

収率は、菌体量と反応時間によって左右されたが、グアニン以外は効率よく反応し、特に6-位にアミノ基を有する塩基(アデニン, 2,6-ジアミノプリン, 2-メチルアデニン)は70-90%と極めて高収率で転移した。

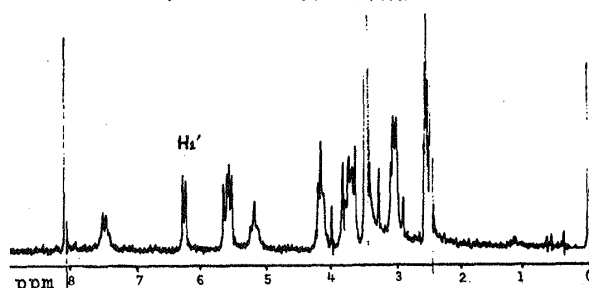
図-1, Ara-2-CH₃-AのNMRスペクトル

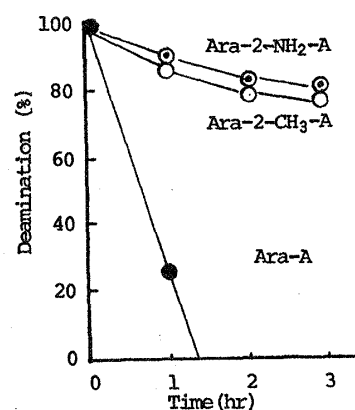
表-1 抗菌活性

Arabinosides	Bacteria		
	Comamonas	E.coli	B.sub
Ara-A	+++	++	+
Ara-Hx	++	++	-
Ara-2-CH ₃ -A	+	-	-
Ara-2-CH ₃ -Hx	-	-	-
Ara-DAP	++	-	-
Ara-2-Cl-Hx	-	+	-
Ara-A-N ¹ oxide	++	+++	-
Ara-2AP	+	-	-
Ara-U	-	-	-

各種アラビノシドの抗菌活性について検討した(表-1) Comamonas はアラビノシド類に対し感受性が高く、生理活性を検討する上で有効な指標菌と考えられる。合成した化合物の中では、Ara-A, Ara-Hx, Ara-DAP, Ara-A-N¹-オキドに抗菌作用が認められ、現在、他の生理活性との関係を検討中である。

得られた化合物でAra-AアナログであるAra-2-NH₂-A(Ara-DAP), 及びAra-2-CH₃-Aのアデノシンデアミナーゼに対する作用を検討した(図-2)。図に示すように2-位に置換基をもつ化合物は脱アミノ化反応が著しく抑えられた。一般にAra-Aは血中で脱アミノ化されて活性が低下することが知られているが、2-位に置換基を導入することは、これを防ぐ意味で有効な手段と考えられる。

図-2 デアミナーゼの作用



酵素的に合成したこれらのアラビノシドを更に化学的に変換することによって、より生理活性の高い化合物を得ることを試みた。例えば、Ara-2-Cl-Hxは反応性に富む合成化学中間体であり容易に変換され、制ガン作用を有する6-フルクトシホキシサンチンアラビノシドに誘導された。