

論文要旨

DNA 鎖切断能を有する Dihydropyrazine 類 (DHPs) の化学反応性と生物活性について

中原 和秀

Dihydropyrazine (DHP)類は糖由来の変化生成物質であり、Maillard 反応の中間生成物である。また、元々、生体内で後期の蛋白糖化反応生成物：Advanced Glycation Endproducts (AGEs) の一つとして、グルコースより生成されて、その普遍的な存在が予測される有機化合物でもある。他方、DHP 類の酸化（脱水素反応）による変化生成体である pyrazine 類は、食品の生産、加工、調理の過程で生成され、食品中の存在は香味成分として周知の事実である。また、生体内の pyrazine 類の存在は、糖尿病患者の血中、尿中の増加がすでに報告されている。したがって、この pyrazine 類の前駆体である DHP 類の、生体内での生成、そしてその存在と分布が、生体へいかなる影響を及ぼすかを明らかにすることは、人の健康維持と疾病からの防御に資するものと考えている。

別途合成した 2,3-dihydro-5,6-dimethylpyrazine(Me-DHP)に代表されるような DHP 類は、DNA 鎖切断作用をはじめとする諸性質（高い化学反応性、radical 種の発生、apoptosis や mutagenesis の誘導、脳や脊髄への生体内分布、etc.）を示すことが、すでに判明している。これらの諸性質（生体への作用／効果）は、DHP 類の二原性（高い化学反応性と radical 発生能）に起因して発現していると予測される。そこで、著者は、DHP 類の諸性質の発現と化学構造との関連の解明を目指すことを端緒にして、DHP 類の高い化学反応性からの反応生成物の生成機構や諸性質の解明、高い化学反応性の量子化学的な検討、等々により、DHP 類の生体への影響(作用／効果)、既存の疾病との因果関係を明らかにすることを目指した。

第1章 DNA 鎖切断作用に対する DHP の構造及び radical 発生能との相関

この章では plasmid pBR 322 の DNA を用いて得た DHP 類の DNA 切断能の強さの序列について、化学構造との相関関係について検討した。まずは、DHP 環上の置換基の効果、化学的安定性の活性との関わりを検討した。DHP 類の化学反応性と radical 発生能に着目し、計算化学により求めた物性値 (IP value と BDE value) との相関を見いだした。その結果、DHP 類の DNA 切断作用を発現するためには、1. DHP 環内の電子密度、2. 立体的因子、3. radical 発生能など総合的に併せ持った構造が重要であることを明らかにした(第 1, 2 節)。

DNA 切断活性に影響を及ぼす radical 種を、ESR 法、WST-1 法及び HPLC-ECD 法を用い、DHP の radical 発生能を比較・検討した。ESR 法では、3 種の radical 種($\cdot O_2$, $\cdot OH$, and two carbon-centered radical)のスペクトルが検出され、DHP の化学構造の違いにより radical 種の生成量が異なることが明らかになった。さらに $\cdot O_2$, $\cdot OH$ については、WST-1 法および HPLC-ECD 法により解析した(第 3 節)。

第2章 DHP及びその反応生成物の化学反応性及びradical発生能に対する生物効果への影響

この章では、生体への影響を検討するため、大腸菌への効果を検討した(第1節)。その際に、radical 阻害剤である thiourea は、DHP 類との予期しなかった特異的反応が進行することにより、急激な殺菌効果が認められ、その反応系より Tetraazaindene(TAI)誘導体を得た。この現象は DHP 類の高い化学反応性による thiourea との直接的な相互作用であると推定し、新規生成物である TAI の大腸菌殺菌効果及び plasmid pBR322 を用いた DNA 鎖切断活性について、DHP 類と比較検討した。その結果、TAI と DHP 類と比較すると、TAI は殺菌効果が強く、DHP は DNA 鎖切断作用が強い。また TAI も DHP 類と同様に銅の添加により殺菌効果も DNA 鎖切断作用も強くなることが明らかとなった(第1,2節)。

第3章 DHP の反応性及び DHP 由来の反応生成物の構造解析及び生成機構の量子化学的検討

この章では、DHP 類の高い化学反応性について、量子化学的検討を行った。DHP 類は冷凍庫(-40°C)においてさえ、分子間及び分子内の aldol 型の連続反応や ene 反応によりスピロ環化合物や三環性化合物を生成する。DHP と ketene との反応は、過去の論文及び計算化学による反応解析から考えると、段階的な反応だと考えられる(第1節)。また DHP と thiourea との反応は、thiourea の互変異性化した isothiurea が反応活性種となる連続的な反応だと考えられる(第2節)。しかし、その構成元素の S が O であるだけの違いでありながら、urea の場合は、DHP との反応が起こらなかった。その理由について、量子化学的に検討した。DHP 類の化学反応性はまだ解明されていない部分が多く、新たに特異的な反応挙動を示す事が期待される。DHP 類は、求電子性及び求核性の両方の反応性を有し、遺伝子及びタンパク質のような生体内で重要な働きをする成分と相互作用を起こすことで、生体への影響が推定される。

これまでに、*in vitro* における DHP 類の諸性質を明らかにしてきた。その応用面の成果を得ることを目的として、DHP 類の挙動を調べ、生体との関わりの面での展開を目指している。DHP 類の糖との因果関係から、糖尿病およびその合併症の発症の原因に関わることを予想しているが、『生体内で、糖とアミノ酸(タンパク質)から、アミノ糖を経て、DHP 類が生成され、その DHP 類が特定臓器に集積して、その集積場所で、アポトーシス等の諸性質により細胞死を引き起こし、疾病の発症へと至る』過程の存在を想定するならば、アルツハイマー病や筋萎縮性側索硬化症などの神経細胞の死が原因として発症する中枢神経疾患と、生体内の DHP 類との因果関係も推定される。