

フェニルアラニン転移リボ核酸超修飾ヌクレオシドの合成をめぐる

板谷 泰助

Studies on the Syntheses of the Hypermodified Nucleosides of Phenylalanine
Transfer Ribonucleic Acids

Taisuke ITAYA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University, 13-1 Takara-machi,
Kanazawa 920-0934, Japan

(Received February 10, 2003)

This review highlights the first total synthesis of (αS , βS)- β -hydroxywybutosine, the identity of which was established with fluorescent nucleoside isolated from rat liver tRNA^{Phe}. Three general prerequisites for the synthesis of the target are emphasized: construction of new 9- β -D-ribofuranosyl-3-methylpurines; the first syntheses of optically active γ -aryl- α,β -unsaturated amino acids; and a new method for hydrogenolysis of glycols through their cyclic carbonates to give the γ -aryl- β -hydroxy amino acid derivatives. The mechanism for the formation of cyclic carbonates from reactions of glycols with (COCl)₂ and highly selective preparation of the cyclic oxalates are also described.

Key words— β -hydroxywybutosine; hypermodified nucleoside; total synthesis; 9- β -D-ribofuranosyl-3-methylpurine; γ -aryl- α,β -unsaturated amino acid; 1,4-dioxane-2,3-dione

はじめに

転移リボ核酸 (tRNA) の特徴の 1 つは、構成成分として主要 4 ヌクレオシド以外のいわゆる修飾ヌクレオシドの出現頻度が高いことである。修飾様式は多彩であり、高度に修飾されたものを超修飾ヌクレオシドと呼ぶ。^{1,2)} 1968 年、パン酵母フェニルアラニン転移リボ核酸 (tRNA^{Phe}) から単離された極微量の超修飾ヌクレオシド³⁾ wybutosine は、pH 2.9, 37°C という非常に緩和な条件下でも *N*-グリコシル結合の加水分解を受けることが分かった。⁴⁾ 中西らは 1970 年、対応する超修飾塩基 wybutine (1c) の平面構造を決定した。⁵⁾ このものは、構造の複雑さばかりではなく、強い蛍光を放つこと、縮合三環性であること、3-メチルグアニン誘導体とみなせることの 3 点で他の核酸塩基に例がないものであった。その後、種々の真核生物 tRNA^{Phe} あるいは高度好熱菌未分画 tRNA から同族体が単離され、それらの構造が 1a, b, d—f であると報告された。^{1,6)} 塩基 1 の母体ヌクレオシドの構造は 3-メチルグア

ノシン誘導体 2 であると考えるのが自然である。ところが、RNA を構成する guanosine (24), adenosine (3: R¹= β -D-ribofuranosyl) 及び inosine の 3-メチル体が未知であるのみならず、これらの構造の原型と見なし得る guanine, adenine 及び hypoxanthine の 3,9-ジメチル体 19 (R¹=R²=Me), 6 (R¹=R²=Me), 20 (R¹=R²=Me) すら知られていなかった。筆者は合成化学を手段として上記三環性ヌクレオシド類の構造上の問題点、異常に弱い *N*-グリコシル結合と構造の関連、及び存在意義の解明を目的とし、より基礎的なレベルの有機化学に貢献できるような手法でこの特殊な化合物の研究に携わりたいと考えた。

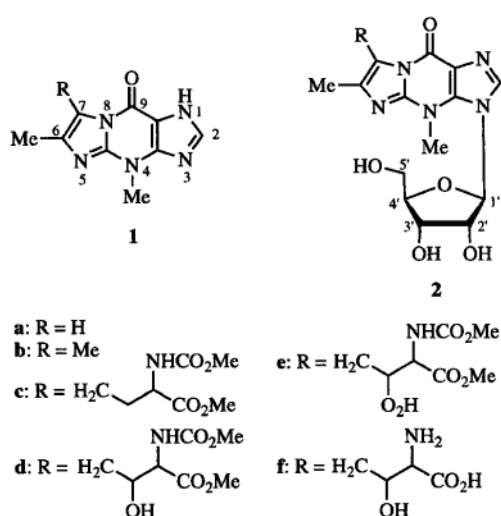
1. トルラ酵母 tRNA^{Phe} 由来の超修飾ヌクレオシド Wyosine

1-1. 3,9-ジアルキルプリン類及び 3-メチルプリンヌクレオシド類の合成 藤井らは、adenine 1-oxide あるいは 9-置換アデニン 3 から得られる 1-アルコキシアデニン類 4 のアルコキシ基を制御合成子とする化学を展開した。⁷⁻⁹⁾ 緩和な加水分解によって得られる開環体 5 のホルミル基を還元、C1 ユニットで閉環後アルコキシ基を除去することによつ

金沢大学薬学部 (〒920-0934 金沢市宝町 13-1)

*本総説は、平成 14 年度退官にあたり在職中の業績を中心に記述されたものである。

て 3,9-dimethyladenine (**6**: $R^1=R^2=Me$; $X=ClO_4$) 及び対応する 9-エチル体の合成が達成された。¹⁰ この方法では 3 位置換基はメチル基に限られる。3,9-Dialkyladenine (**6**) の一般合成法は、ホルムアミド **5** の選択的アルキル化によって得られる *N*-アルキルホルムアミド体 **7** のアルコキシ基を除去、閉環することによって、確立された。¹¹ 3-Methyladenosine (**6**: $R^1=\beta$ -D-ribofuranosyl; $R^2=Me$) 及び 2'-deoxy-3-methyladenosine (**6**: $R^1=2$ -deoxy- β -D-ribofuranosyl; $R^2=Me$) も **7** を経るルートによって



合成されている。¹²

他の 3,9-ジメチルプリン類の合成中間体として好適であると考えられるイミダゾール体 **9** ($R^1=R^2=Me$) は N^6, N^6 -ジエチル体 **11** ($R^1=R^2=Me$; $R^3=Et$) の加水分解によって得られていた。¹³ 筆者らの検討の結果、アミド **9** はニトリル **13** と競合的に生成し、**9** の生成には N^6, N^6 -ジメチル体 **11** ($R^3=Me$) を用いる方が有利であることが判明した。¹⁴ なお、 N^6, N^6 -dialkyladenine (**10**) の塩基存在下のアルキル化によって 9-アルキル体 **8** を得る反応より、塩基不在下で 3-アルキル体 **12** を得る反応の方が選択性がよく、¹⁵ 次の段階でも **12** の方が **8** より速くアルキル化を受けるので、¹⁶ **9** の一般合成法としては **12** を経るルートの方が優れている。

後藤らは、**9** ($R^1=\beta$ -D-ribofuranosyl; $R^2=H$) の糖部をアセチル化後、アミド基をニトリル基に変換して、**13** ($R^1=\beta$ -D-ribofuranosyl; $R^2=H$) とし、アミノ基の還元的メチル化、ニトリル基の加水分解を経る工程によって、**9** ($R^1=\beta$ -D-ribofuranosyl; $R^2=Me$) を得た。¹⁷ 筆者らは、入手容易な inosine から既知の方法で得られるジメチル体 **8** ($R^1=\beta$ -D-ribofuranosyl; $R^3=Me$) を用いた。このものを MeI と反応させると、目的のトリメチル体 **11** ($R^1=\beta$ -D-ribofuranosyl; $R^2=R^3=Me$) が生成するもの

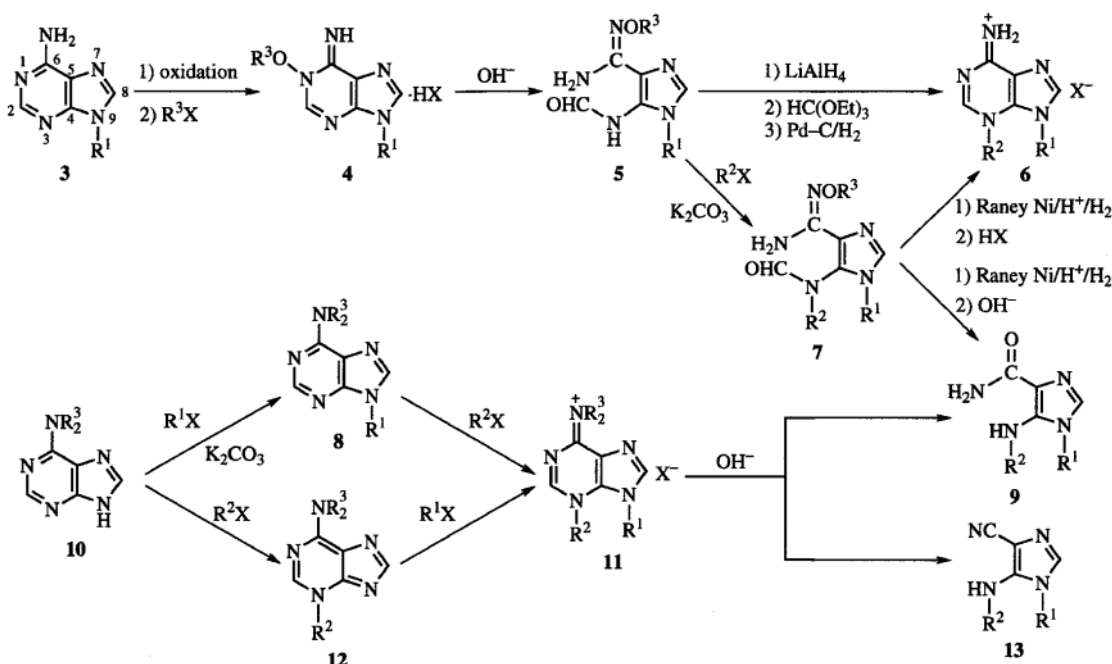


Chart 1

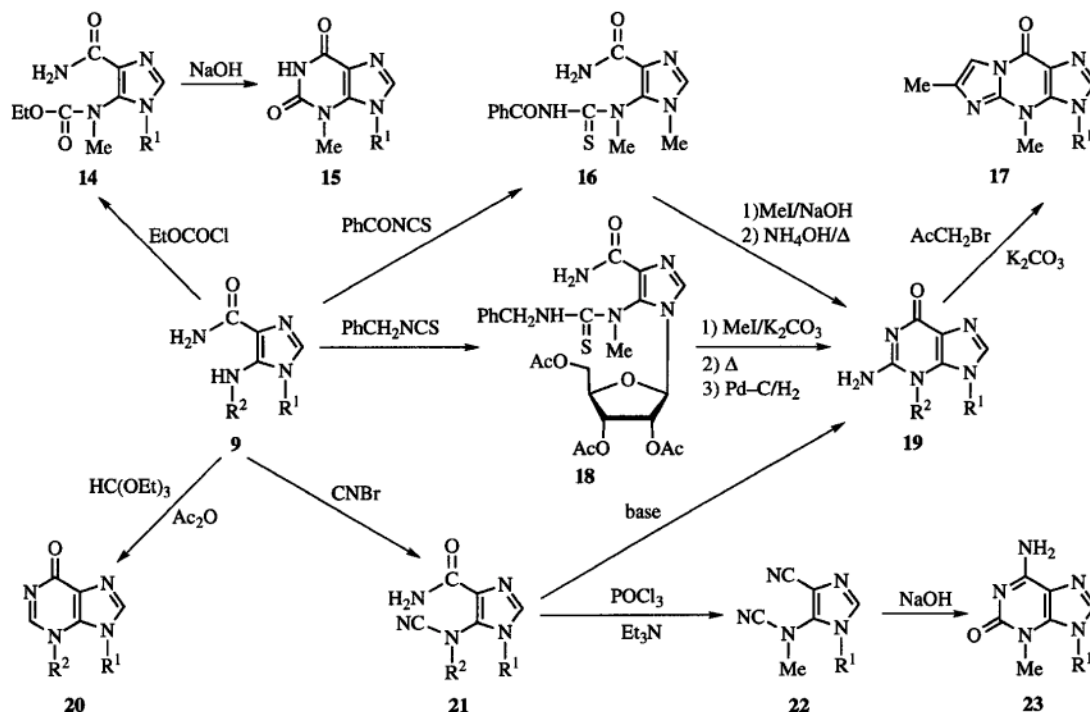


Chart 2

の、 I^- の求核攻撃を受けて *N*-グリコシル結合が開裂した **12** ($R^2=R^3=\text{Me}$) となり、さらにメチル化されたテトラメチル体 **11** ($R^1=R^2=R^3=\text{Me}$; $\text{X}=\text{I}$) を与えるという結果になる。糖部水酸基をベンゾイル化した **8** ($R^1=2,3,5\text{-tri-}O\text{-benzoyl-}\beta\text{-D-ribofuranosyl}$; $R^3=\text{Me}$) を用いると、*N*-グリコシル結合が強化されて目的の **11** が収率よく得られ、このものからヌクレオシド **9** ($R^1=\beta\text{-D-ribofuranosyl}$; $R^2=\text{Me}$) が容易に得られる。¹⁸⁾ しかしながら、この方法では対応するエチル体を得ることはできない。種々のアルキル基で置換されたヌクレオシド **9** ($R^1=\beta\text{-D-ribofuranosyl}$) の効率的な一般合成法は、**5** ($R^1=\beta\text{-D-ribofuranosyl}$) から **7** を経由するルートによって達成された。¹⁹⁾

このようにして得られた **9** ($R^1=R^2=\text{Me}$) を EtOCOCl と反応させた後アルカリ処理すれば、**14** を経由して 3,9-dimethylxanthine (**15**: $R^1=\text{Me}$)²⁰⁾ を得ることができる。²¹⁾ ヌクレオシド **9** ($R^1=\beta\text{-D-ribofuranosyl}$; $R^2=\text{Me}$) の糖部をアセチル化後同様に処理すれば、3-methylxanthosine (**15**: $R^1=\beta\text{-D-ribofuranosyl}$) の合成法となる。²¹⁾

3,9-Dialkylhypoxanthine (**20**) は、アミド **9** を Ac_2O 存在下 HC(OEt)_3 と加熱することによって得

られ、²²⁾ ヌクレオシド **9** ($R^1=2,3,5\text{-tri-}O\text{-acetyl-}\beta\text{-D-ribofuranosyl}$; $R^2=\text{Me}$) を同様に処理し、脱保護すれば 3-methylinosine (**20**: $R^1=\beta\text{-D-ribofuranosyl}$; $R^2=\text{Me}$) を得ることができる。²³⁾

一方、**9** を CNBr と反応させれば *N*-シアノ体 **21** を得、そのアミド基を脱水してニトリル **22** ($R^1=\text{Me}$) を得る。これをアルカリ処理すれば、3,9-dimethylisoguanine (**23**: $R^1=\text{Me}$) となる。ヌクレオシド **9** ($R^1=2,3,5\text{-tri-}O\text{-acetyl-}\beta\text{-D-ribofuranosyl}$; $R^2=\text{Me}$) から出発して同じルートをたどれば、3-methylisoguanosine (**23**: $R^1=\beta\text{-D-ribofuranosyl}$) を得ることができる。²⁴⁾

1-2. 3,9-Dialkylguanine, 3-Alkylguanosine 及び 2a の合成 Pfeleiderer らは、**9** ($R^1=R^2=\text{Me}$) を PhCONCS と反応させて得られる **16** を経由して 3,9-dimethylguanine (**19**: $R^1=R^2=\text{Me}$) を得、これを **2a** のモデル化合物 **17** ($R^1=\text{Me}$) に導いている。²⁵⁾ この方法で 3-methylguanosine (**19**: $R^1=\beta\text{-D-ribofuranosyl}$; $R^2=\text{Me}$) を得るには、最終段階の反応条件が過酷すぎる。

後藤らは、**9** ($R^1=2,3,5\text{-tri-}O\text{-acetyl-}\beta\text{-D-ribofuranosyl}$; $R^2=\text{Me}$) と PhCH_2NCS との反応によって得られる **18** から **19** ($R^1=2,3,5\text{-tri-}O\text{-acetyl-}\beta\text{-D-}$

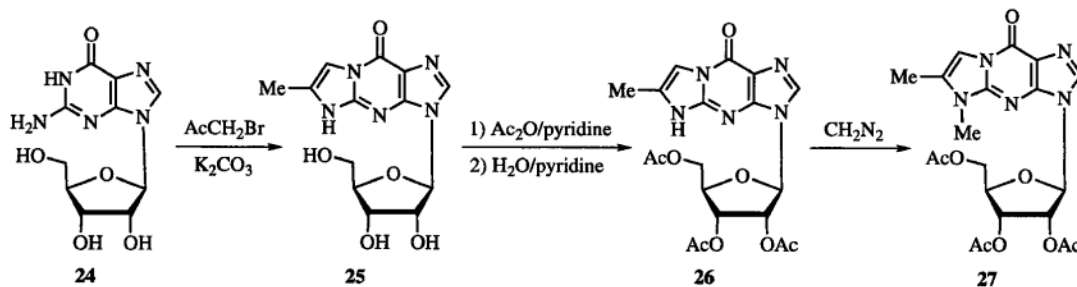


Chart 3

ribofuranosyl; R²=Me) を経由して, **2a** (17: R¹= β -D-ribofuranosyl) を得た.¹⁷⁾ しかしながら, **2a** の純度は悪く, *N*-グリコシル結合の安定性に関して「tRNA 中では比較的安定に存在していることも非常に不思議である」²⁶⁾ という誤った結論を導く結果となった。

筆者らは, ジアルキル体 **21** を NaH で閉環して 3,9-dialkylguanidine (**19**) を得, これらをモデル化合物 **17** に導いた.²⁷⁾ ヌクレオシドレベルでは, **21** (R¹= β -D-ribofuranosyl; R²=Me) の閉環に EtONa を用いればよく, 糖部を保護することなく 3-methylguanosine (**19**: R¹= β -D-ribofuranosyl; R²=Me) 及び **2a** (17: R¹= β -D-ribofuranosyl) を得ることができる.²⁸⁾

Guanosine (**24**) の縮合閉環によって得られる三環性ヌクレオシド **25** は, CH₂N₂ との反応²⁹⁾ 又は塩基存在下 MeI との反応²⁸⁾ によって 5 位がメチル化される。Golankiewicz らは, トリアセチル体 **26** と CH₂N₂ との反応で 5-メチル体 **27** の他に微量に生成する 4-メチル体 **17** (R¹=2,3,5-tri-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl) を分離している。³⁰⁾ このメチル化の位置選択性は, CH₂I₂-Et₂Zn を用いることによって劇的に逆転し, **2a** (17: R¹= β -D-ribofuranosyl) のよい合成法となることが Chattopadhyaya らによって見いだされた。³¹⁾ 彼らは, この方法が **2b** の合成にも適用できると報告しているけれども, この場合には最初の閉環段階に難点があるはずである。

1-3. 3-アルキルプリンヌクレオシド類及び 2a の加水分解速度 藤井らは, 3-methyladenosine (**6**: R¹= β -D-ribofuranosyl; R²=Me; X=OTs) が 0.1 N 塩酸中 25°C において, adenosine より数千倍速く *N*-グリコシル結合の加水分解を受け, その擬 1 次速度定数 (k_{obs}) が $4.0 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ (半減期

17 min) であることを報告した。¹²⁾ 同条件下 3-methylinosine (**20**: R¹= β -D-ribofuranosyl; R²=Me) の加水分解の k_{obs} は $8.7 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$ (半減期 48 sec) であり, inosine の場合の約 6 万倍と評価される。²³⁾ 3-Methylxanthosine (**15**: R¹= β -D-ribofuranosyl) の場合の k_{obs} は $2.8 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$ (半減期 2.5 min) であった。メチル基で置換されていない xanthosine そのものは, このような条件下でほとんど加水分解されないので, 1 N 塩酸中 25°C の速度定数を比較したところ, 3 位メチル化による *N*-グリコシル結合開裂の加速効果は 1200 倍に及ぶことが分かった。²¹⁾ 3-Methylisoguanosine (**23**: R¹= β -D-ribofuranosyl) の 0.1 N 塩酸中 25°C における k_{obs} は $1.7 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ (半減期 41 min) であり, 1 N 塩酸中 25°C では isoguanosine より 650 倍速く加水分解された。²⁴⁾

3-Methylguanosine (**19**: R¹= β -D-ribofuranosyl; R²=Me) の 0.1 N 塩酸中 25°C における加水分解の k_{obs} は $9.8 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$ であり, 65–85°C で測定し Arrhenius 式によって算出した guanosine (**24**) に対する値の 17 万倍に達する。²⁸⁾ 酸性条件下の加水分解速度は, 基質のモノプロトン化体とジプロトン化体を経由する反応速度の和で表されることが判明し, それぞれの 2 次反応速度定数は $k_1 = 1.8 \times 10$, $k_2 = 2.3 \times 10^1 \text{ l mol}^{-1} \text{ min}^{-1}$ であった。3-Ethylguanosine (**19**: R¹= β -D-ribofuranosyl; R²=Et) に対しては $k_1 = 2.8 \times 10$, $k_2 = 4.2 \times 10^1 \text{ l mol}^{-1} \text{ min}^{-1}$, 3-isopropylguanosine (**19**: R¹= β -D-ribofuranosyl; R²=CHMe₂) に対しては $k_1 = 1.3 \times 10^2$, $k_2 = 1.4 \times 10^2 \text{ l mol}^{-1} \text{ min}^{-1}$ となり, いずれの反応機構に対しても 3 位アルキル基の立体効果が影響している。³²⁾

かくして, 酸性条件下の *N*(9)-グリコシル結合加水分解の異常な速さは, 3-アルキルプリンヌク

レオシド類の共通の性質であることが判明した。しかしながら、これらの中で最も反応の速い 3-methylguanosine と最も反応の遅い 3-methylisoguanosine の加水分解速度には 50 倍以上の差があることや、メチル基の導入が加水分解速度に及ぼす影響にも 250 倍以上の差があることは、*N*-グリコシル結合の反応性の大きさが 3 位アルキル基の立体効果のみに起因するものではないことを示唆している。

三環性ヌクレオシド **2a** の 0.1 N 塩酸中 25°C における k_{obs} は $4.4 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$ であり、メチル化されていない **25** の反応速度との比較からメチル基導入によって加水分解が約 100 万倍加速されていると評価される。⁶⁾ したがって、**2a** の異常な反応性は三環構造に原因するものではなく、3-methylguanosine を部分構造とすることの反映であることは明白である。²⁴⁾ 酸性領域の加水分解の反応機構は 3-methylguanosine の場合と同じであった。アルカリ性領域では、40°C, pH 10 以上では *N*-グリコシル結合と C(9)-N(8) のアミド結合の加水分解が併発し、**2a** を比較的安定に取り扱える領域は pH 6—9 であることが分かった。³²⁾

C(9)-N(8) のアミド結合の加水分解に対する反応性は、*N*-アシルイミダゾール類の特性として理解される。求核試薬の種類によっては、このアミド基の開裂は再閉環を伴う転位反応になることが予想され、実際 MeOH 中 MeONa を用いると 7 位に置換基がある場合には、このような反応が起こることを見出した。モデル化合物 **28** について検討した結果、**28c, g** についてのみ反応は可逆的であり、0.1 M MeONa-MeOH 中 25°C では、 σ_p^0 値を採用すると、**28a, b, d, f, g** の反応について直線的自由エネルギー関係 ($\rho = +3.2$) が認められた。また、**28c, e** の反応は、7 位置換基と 9 位カルボニル酸素間の分子内水素結合の寄与によって加速されることが観察された。³³⁾

1-4. Wyosine の単離と構造決定 合成標品を重アセチル化して得た **17** [$R^1 = 2,3,5\text{-tri-}O\text{-}(\text{acetyl-}d_3)\text{-}\beta\text{-D-ribofuranosyl}$] の測定結果から、500 MHz の NMR 装置ですべてのプロトンシグナルを帰属するのに必要なサンプル量が約 50 μg であることが分かった。竹村らは、トルラ酵母 tRNA^{Phe} を RNase T₁ で分解して得た最長オリゴヌクレオチドを RNase A で分解してヘキサヌクレオチドとし、3'-末端の

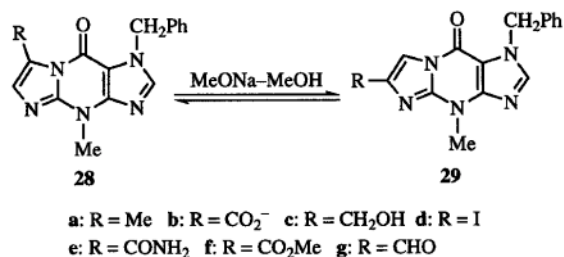


Chart 4

リン酸基を除去後、蛇毒ホスホジエステラーゼで分解してイオン交換セルローズで精製、目的のモノヌクレオチドを含む画分をアルカリ性ホスファターゼで分解して得たヌクレオシド混合物を二次元セルローズ TLC で精製するという複雑な処理によって、微量の wyosine を単離している。²⁹⁾ この方法に準じて wyosine の必要量を単離するのは困難である。McCloskey らは、高度好熱菌未分画 tRNA をヌクレアーゼ P₁ で完全に分解した後、リン酸基を除去して得たヌクレオシド混合物から逆相 HPLC によって分離した修飾成分を **2b** であると報告した。³⁴⁾ Wyosine の大量分離にこの方法をそのまま応用するには、酵素が高価すぎる。筆者らは、文献値の 1.2 % 量のヌクレアーゼ P₁ によるトルラ酵母未分画 tRNA 分解物を逆相クロマトグラフィーに付し、目的物を含むオリゴヌクレオチドを効率よく濃縮、再びヌクレアーゼ P₁ を用いて完全分解することによって、wyosine の大量分離を実用的なものとした。得られた wyosine と **2a** が同一の HPLC 的挙動を示し、重アセチル化したサンプルの MS, ¹H-NMR, 及び CD スペクトルが合成標品 **17** [$R^1 = 2,3,5\text{-tri-}O\text{-}(\text{acetyl-}d_3)\text{-}\beta\text{-D-ribofuranosyl}$] のスペクトルと一致したので、wyosine の構造が **2a** (**17**: $R^1 = \beta\text{-D-ribofuranosyl}$) であることが決定した。³⁵⁾

2. 高度好熱菌 tRNA 由来の超修飾ヌクレオシド

中西らは、3-methylguanine (**30**) を縮合閉環する方法によって劣悪な収率ながら、(±)-wybutine (**1c**) を合成した。³⁶⁾ 縮合閉環の収率は、7-ベンジル体 **32** を用いることによって向上するものの、**33b, c** の合成法としては満足すべきものではなかった。^{37,38)} しかしながら、**32** と AcCH₂Br との反応は円滑に進行し、7 位が置換されていない 1-benzyl-*wye* (**33a**) が高収率で得られる。このものの 7 位は求電子置換反応に対して非常に活性であり、Vils-

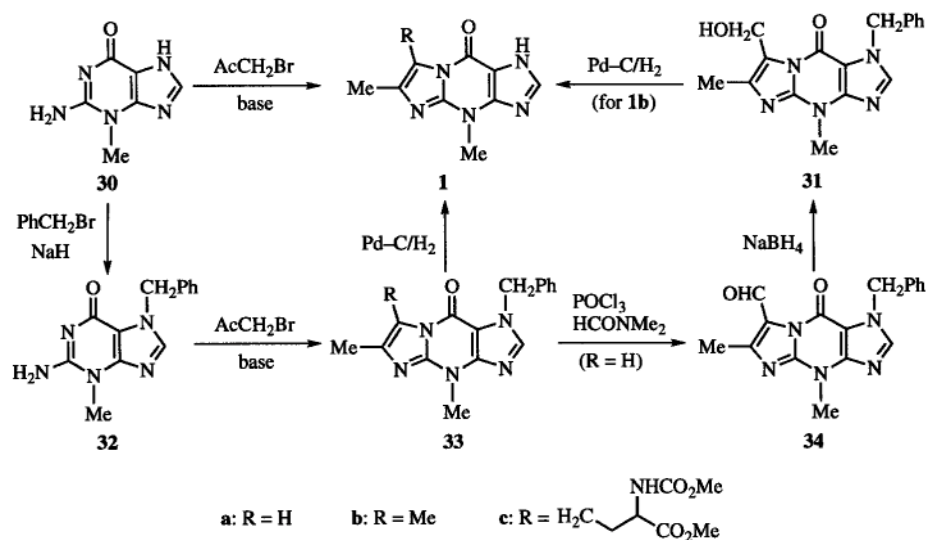


Chart 5

meier 反応によって定量的にホルミル体 **34** を与えた。これをアルコール **31** に導いた後、Pd-C 触媒を用いて接触還元することによって 7-methylwye (**1b**) が得られた。³⁸⁾ 高度好熱菌からの蛍光塩基の構造は、この合成標品との直接比較によって決定された。³⁴⁾

ヌクレオシド **17** ($\text{R}^1 = 2,3,5\text{-tri-}O\text{-acetyl-}\beta\text{-D-ribofuranosyl}$) の *N*-グリコシル結合は、 -25°C における Vilsmeier 反応に耐え、高収率で 7-ホルミル体を与えた。このものを接触還元した後脱保護することによって 7-methylwyosine (**2b**) が得られた。³⁹⁾ 高度好熱菌から得られた微量ヌクレオシド³⁴⁾と **2b** は MS 及び HPLC 上の挙動が一致した。⁴⁰⁾

3. 酵母 tRNA^{Phe} 由来の超修飾ヌクレオシド Wybutosine

3-1. 光学活性 γ -アリアル $-\beta,\gamma$ -不飽和アミノ酸誘導体の合成 γ -アリアル $-\beta,\gamma$ -不飽和アミノ酸誘導体 **46** は超修飾塩基 **1c, d** のキラル合成のための好適な共通合成中間体であろう。ところが、 β,γ -不飽和アミノ酸誘導体は一般的にラセミ化しやすく、 α,β -不飽和体へ異性化しやすいために、キラル合成の報告が非常に少ない。⁴¹⁾ 中でも γ -アリアル体は一層不安定であると考えられ、光学活性体の報告例がない。筆者らは、下記のようにこのタイプの化合物のキラル合成法を 2 種開発した。

3-1-1. Wittig 反応—(*S*)-Serine から文献⁴²⁾の方法に準じて合成した **37 は β -脱離を受けやすいけれ**

ども、 50°C 付近では Ph_3P による求核置換が優先し、収率よくホスホニウム塩 **36** を与える。エステル **36** は一層 β -脱離を受けやすいので、塩化物に変換後カルボン酸 **35** に導いた。塩化物 **35** を用いる PhCHO との Wittig 反応は、tetrahydrofuran (THF) 中完全に E 選択的に進行し、光学活性 γ -アリアル $-\beta,\gamma$ -不飽和アミノ酸誘導体の最初の例であるカルボン酸 **38** をメチルエステル **41** として収率 28% で単離した。⁴³⁾ この Wittig 反応の収率は、分子内塩 **40a** を用いることによって 43% に向上する。カルボン酸 **38** から **39** を経て得たホモフェニルアラニン誘導体 **42** の光学純度は 98% ee であった。⁴¹⁾

上記の *N*-メトキシカルボニル体 **41** の合成は、wybutine (**1c**) のキラル合成のモデル実験としての意味があるものの、このタイプのアミノ酸の一般合成法としては窒素上の置換基が適切ではない。そこで、*N*-メトキシカルボニル体 **40a** の合成法に準じて、*N*-ベンジロキシカルボニル体 **40b** 及び *N*-tert-ブトキシカルボニル体 **40c** を調製した。分子内ホスホニウム塩 **40** を用いる piperonal との Wittig 反応の収率は、それぞれ 38, 39, 28% であり、完全に E 選択的に得られたカルボン酸 **43** の光学純度はいずれも 99% ee であった。⁴¹⁾

3-1-2. Heck 反応— HCONMe_2 中 NaHCO_3 を用い、 45°C で反応を行った場合、Chart 8 に示す Heck 反応では、vinylglycine (44**: $\text{R}=\text{H}$) そのものやその *N*-フタロイル体は目的物を与えないけれど**

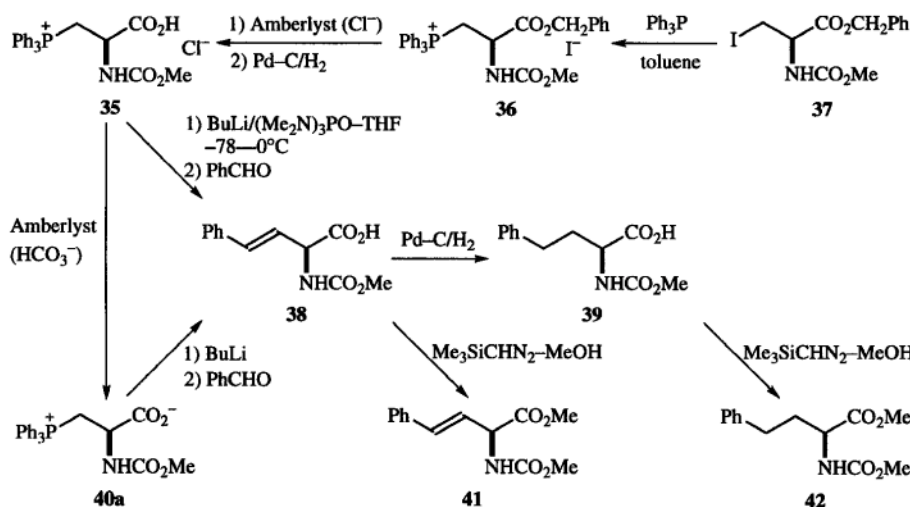


Chart 6

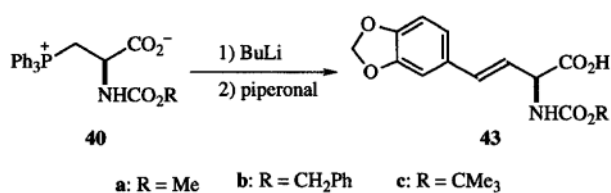


Chart 7

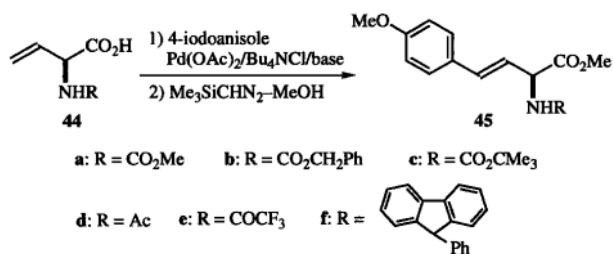


Chart 8

も、*N*-置換体 **44a**—**f** は収率 13—44% で *E* 選択的に対応する γ -アリアル体 **45** を与え、(*Z*)-体の生成比は 10% 以下であった。最もよい収率を与えたベンジロキシカルボニル体 **44b** を用いて種々の塩基を試したところ、 Et_3N の使用は立体選択性を逆転させることが分かっただけで、 NaHCO_3 にまさるものはなく、リン化合物の添加もむしろ収率の低下を招いた。ところが、 HCONMe_2 の代わりに溶媒として H_2O を用いると (*Z*)-体の生成が認められず、収率 79% で **45b** が得られるばかりではなく、 HCONMe_2 を用いた場合には生成物の光学純度が 70% ee であったのに対して、ほとんどラセミ化しないことが分かった。⁴⁴⁾ この方法は、アニソールの *o*-及び *m*-ヨウ化物の他、iodobenzene、*o*-、*m*-及び *p*-iodotoluene 及び 1-iodonaphthalene にも有効であり、収率 51—65%、光学収率 97—100% で目的物を与えた。しかしながら、プロモベンゼンの *o*-、*m*-及び *p*-ヨウ化物や 4-iodoacetophenone では収率が若干低下するばかりではなく、少量の (*Z*)-体や α,β -不飽和異性体を副生し、4-iodonitrobenzene

では目的物を与えなかった。複素環化合物の中では、2-iodothiophene が低収率ながら目的物を与えるものの、4-iodoimidazole、5-iodouracil 及び 1-benzyl-7-iodowye (**47**) からは H_2O 中の反応では目的物を得ることができなかった。⁴⁵⁾

3-2. Wybutine の合成 ホスホニウム塩 **40a** を用いる Wittig 反応をアルデヒド **34** に適用し、生成物をメチルエステルとして精製すれば目的の β,γ -不飽和アミノ酸誘導体 **46** を収率 26% で得ることができた。⁴⁶⁾ 一方、1-benzylwye (**33a**) のヨウ素化によって容易に得られる **47** とビニルグリシン誘導体 **44a** との Heck 反応は、 HCONMe_2 中で進行し、若干ラセミ化を伴うものの容易に精製することができ、収率 24% で **46** を得ることができた。⁴⁷⁾ 実験操作の容易さを考慮すると、**46** を得るには Heck 反応の方がまさっている。オレフィン **46** の還元、脱ベンジル化を経て得た (*S*)-**1c** と Zachau 教授から供与された微量の wybutine とを UV, HPLC, CD によって比較することにより、wybutine の立体配

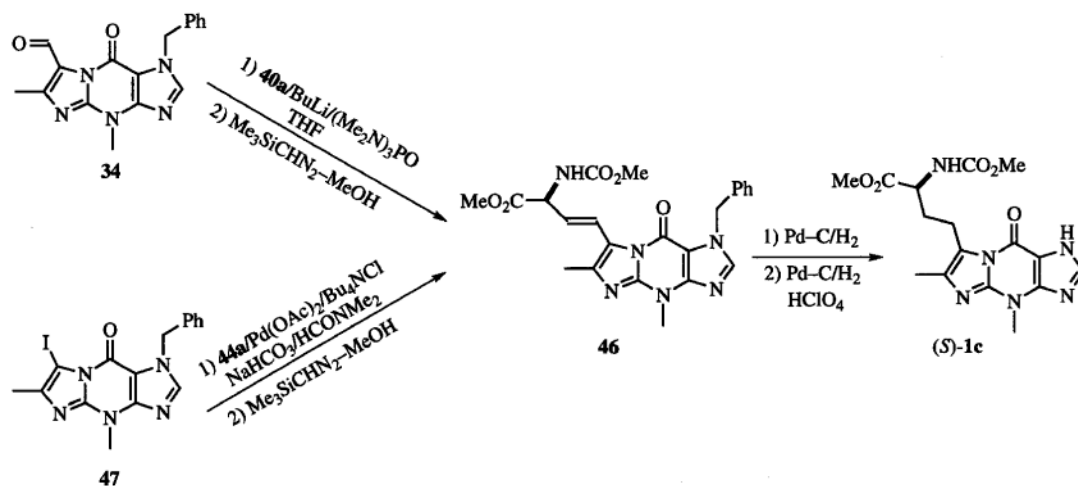


Chart 9

置がSであることが決定した。⁴³⁾

3-3. Wybutosine の合成 上記の Heck 反応をヌクレオシド **48** に適用して得られるオレフィン **49** から HPLC によって (αR)-エピマーを除去するのは非常に困難で、微量の **49** が得られるにすぎない。ジアステレオマーの分離は、二重結合を還元した段階で行う方がわずかながら容易になり、HPLC による分離を繰り返して得られるカルボン酸 **50** をメチルエステル化、脱保護して目的の (αS)-**2c** を合成することができた。⁴⁷⁾ 一方、ヌクレオシドレベルの Wittig 反応を、糖部をアセチルあるいはベンジル基で保護した 7-ホルミル体を用いても目的物を得ることができなかつた。糖部をシリル基で保護した **17** [$R^1 = 2,3,5$ -tris-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranosyl] の Vilsmeier 反応は、 -30°C で行えば収率 64% で 7-ホルミル体 **51** を与えた。このものを用いる Wittig 反応は好結果を与え、収率 38% でメチルエステル **52** を単離することができた。これを接触還元、脱保護することによって、より容易に (αS)-**2c** を得ることができる。上記 wyosine の単離方法に準じてパン酵母 tRNA から得たヌクレオシド wybutosine と (αS)-**2c** の HPLC 的挙動が一致し、両者を重アセチル化したサンプルの MS 及び $^1\text{H-NMR}$ スペクトルが一致することから、wybutosine の構造が (αS)-**2c** で表されることが決定した。⁴⁸⁾

4. ラット肝 tRNA の微量蛍光成分

高等植物、鳥類及び哺乳動物からの蛍光塩基の構造は、 β -hydroperoxywybutine (**1e**) であると推定

された。その後、ラット肝からのものは β -hydroxywybutine (**1d**) であり、**1e** は **1d** の人工物であるとされた。ところが、麦芽、黄花ルーピン種子及びトウモロコシ種子からのものは非常に不安定な化合物 **1e** であり、**1c** 及び **1d** に分解するという、**1d, e** の安定性に関して正反対の見解が示された。この間の経緯はすでに紹介した。¹⁾ このような議論は主に MS のデータに基づいており、信頼度が高いとは言えない。

4-1. β -Hydroxywybutine オレフィン **46** のオスミウム酸化によって得られる主成績体の構造が X 線解析の結果、**53** であることが分かったので、もう一方のジオールの構造は **55** である。⁴⁹⁾ ジオール **53** の Pd-C 触媒による水素化分解は、低収率ながら目的の ($\alpha S, \beta R$)-**1d** を与えるけれども、ジアステレオマー **55** の直接水素化分解によって ($\alpha S, \beta S$)-**1d** を得ることはできなかった。モデル化合物について検討した結果、ジオール部を環状炭酸ジエステルとした後に接触還元すれば、目的を果たせることが分かった。環状炭酸ジエステルを得るには、 Et_3N 存在下 COCl_2 あるいはその同族体である Cl_3COCOCl や $(\text{Cl}_3\text{CO})_2\text{CO}$ を反応させればよいとの期待は、試薬が Et_3N によって消費されるという事実⁵⁰⁾ によって裏切られた。この問題は、 COCl_2 に代えて $(\text{COCl})_2$ を用いるか、⁵¹⁾ Et_3N に代えて pyridine を用いることによって解決された。⁴⁶⁾ 1,2-ジオールと $(\text{COCl})_2$ との反応によって環状炭酸ジエステルが得られるのは珍しいことなので、5 章で詳述する。

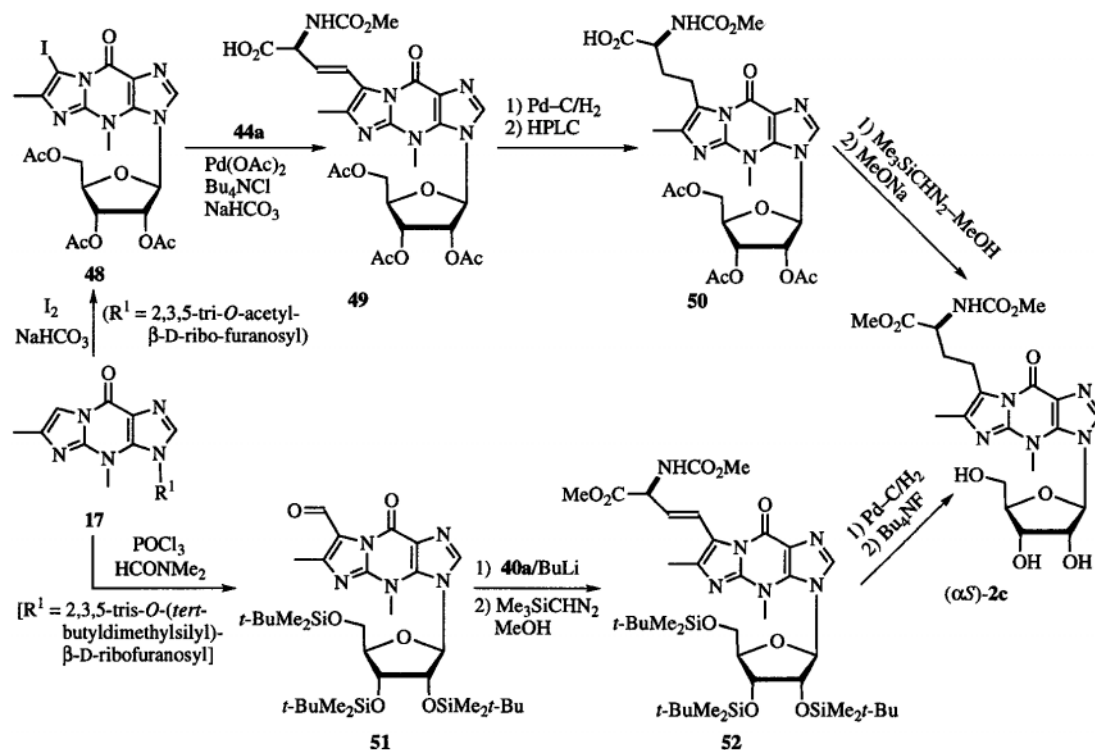


Chart 10

環状炭酸ジエステル **54** 及び **56** を接触還元が付すと、目的の (α S, β R)-**1d** と (α S, β S)-**1d** が得られる他に、いずれの場合も (S)-**1c** を副生する。このものの生成は、**54** 及び **56** の C(δ)-O 結合の還元的開裂によって生じる炭酸モノエステルからの H₂CO₃ の脱離によって生成するであろう **46** を経由するものと考えられる。一方、**54** を加熱すると容易に脱炭酸してラセミ体 **58** を与える。このケトン還元することによって得られるジアステレオマーを分離した後脱ベンジル化すれば、(R^* , S^*)-**1d** と (R^* , R^*)-**1d** を得ることができる。これら2つのラセミ体は、いずれもキラルカラムを使用することによって、(α S, β R)-**1d** と (α R, β S)-**1d** 及び (α S, β S)-**1d** と (α R, β R)-**1d** に分割することができた。⁴⁶⁾

目的の微量ヌクレオシド 50 μ g を単離するのに必要なラットの個体数を知るための予備実験として、成熟雌ラット 10 匹から通常の方法によって得た未分画 tRNA を pH 2.9, 40°C で処理し、数 μ g の蛍光塩基を得た。このものの HPLC の挙動及び ¹H-NMR スペクトルが (α S, β S)-**1d** のそれと一致することから、その構造は (α S, β S)-**1d** あるいは (α R, β R)-**1d** のいずれかであり、キラル HPLC によって

(α S, β S)-**1d** であることが分かった。⁵²⁾ なお、ラット肝からの蛍光塩基には **1c** も含まれていると報告されている⁵³⁾けれども、筆者らの実験では **1c** は全く検出されなかった。この事実は、 β -hydroperoxywybutine (**1e**) が **1c** 及び **1d** に分解するという報告⁵⁴⁾が正しいと仮定すれば、筆者らが単離した (α S, β S)-**1d** は **1e** の人工物ではないという証拠になる。また、**1d** が不安定であり **1e** に変化するという現象⁵³⁾も認められなかった。

4-2. β -Hydroxywybutosine 塩基レベルの合成法に準じて、ヌクレオシド **52** をオスミウム酸化するとジアステレオマーの混合物としてジオールを与え、主成績体は pyridine 存在下 (Cl₃CO)₂CO と容易に反応し環状炭酸ジエステルを形成するにもかかわらず、奇妙なことにもう一方の異性体は全く目的物を与えなかった。さらに不思議なことに、ジオールを混合物のまま同様に処理すると、双方に対応する環状炭酸ジエステルを得ることができた。これらを分離することなく接触還元が付すと、ジデオキシ体 **61** とともに β -ヒドロキシ体 **60** 及び **62** を収率 21% 及び 8% で得ることができた。これらを脱保護して目的の (α S, β R)-**2d** と (α S, β S)-**2d** を得、

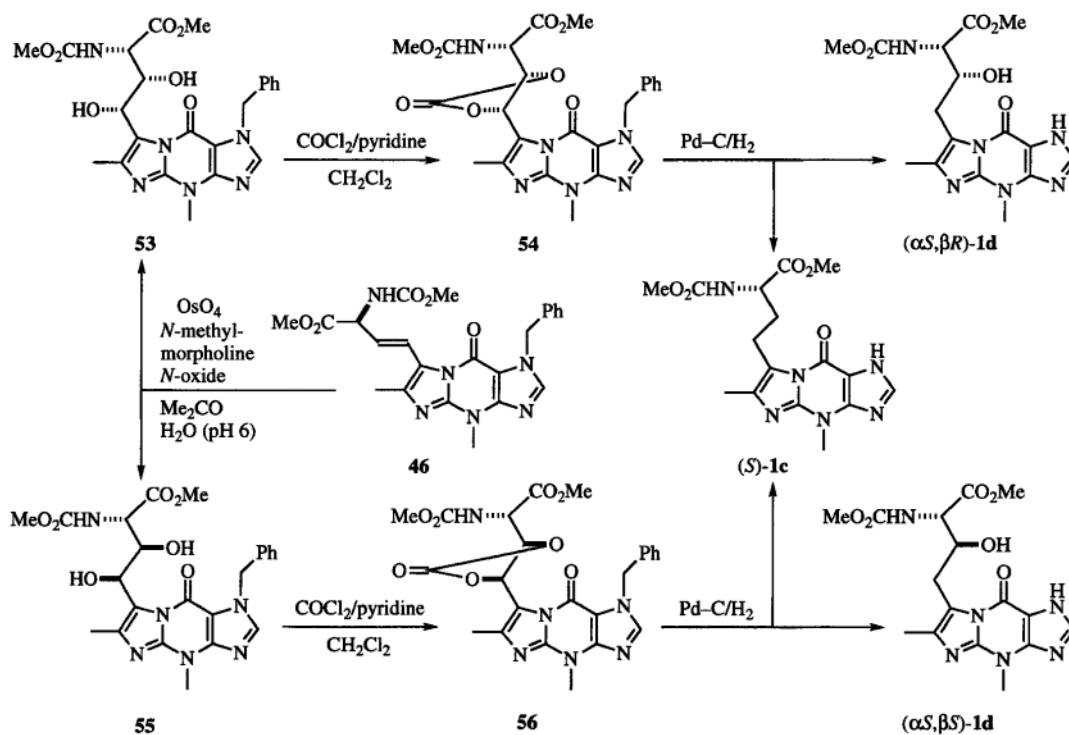


Chart 11

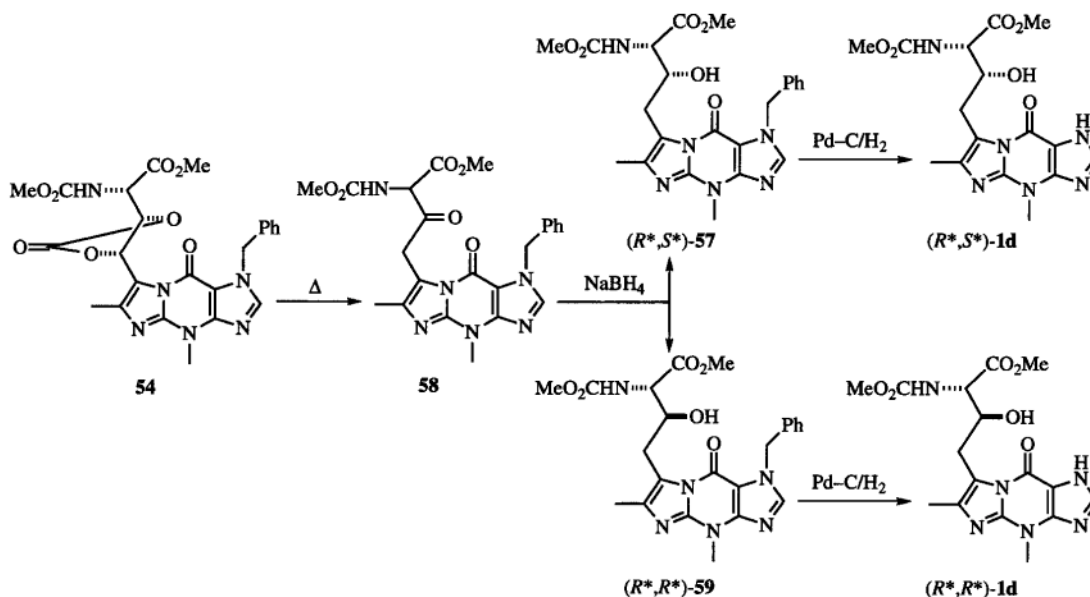


Chart 12

それぞれをテトラ重アセチル体に導いた。⁵²⁾

一方、ラット 100 匹から得た未分画 tRNA を上記 wyosine (**2a**) の単離法に準じて処理し、約 100 μg の蛍光ヌクレオシドを得た。この場合も、塩基レベルでの単離結果と同様に、wybutosine (**2c**) は検出されなかった。得られたヌクレオシドの

HPLC 的挙動が $(\alpha S, \beta S)$ -**2d** のそれと一致し、その重アセチル化体の MS 及び $^1\text{H-NMR}$ スペクトルが合成標品 $(\alpha S, \beta S)$ -**2d** のテトラ重アセチル体の各スペクトルと一致したので、ラット肝からの蛍光ヌクレオシドの構造が $(\alpha S, \beta S)$ - β -hydroxywybutosine [$(\alpha S, \beta S)$ -**2d**] であることが決定した。⁵²⁾

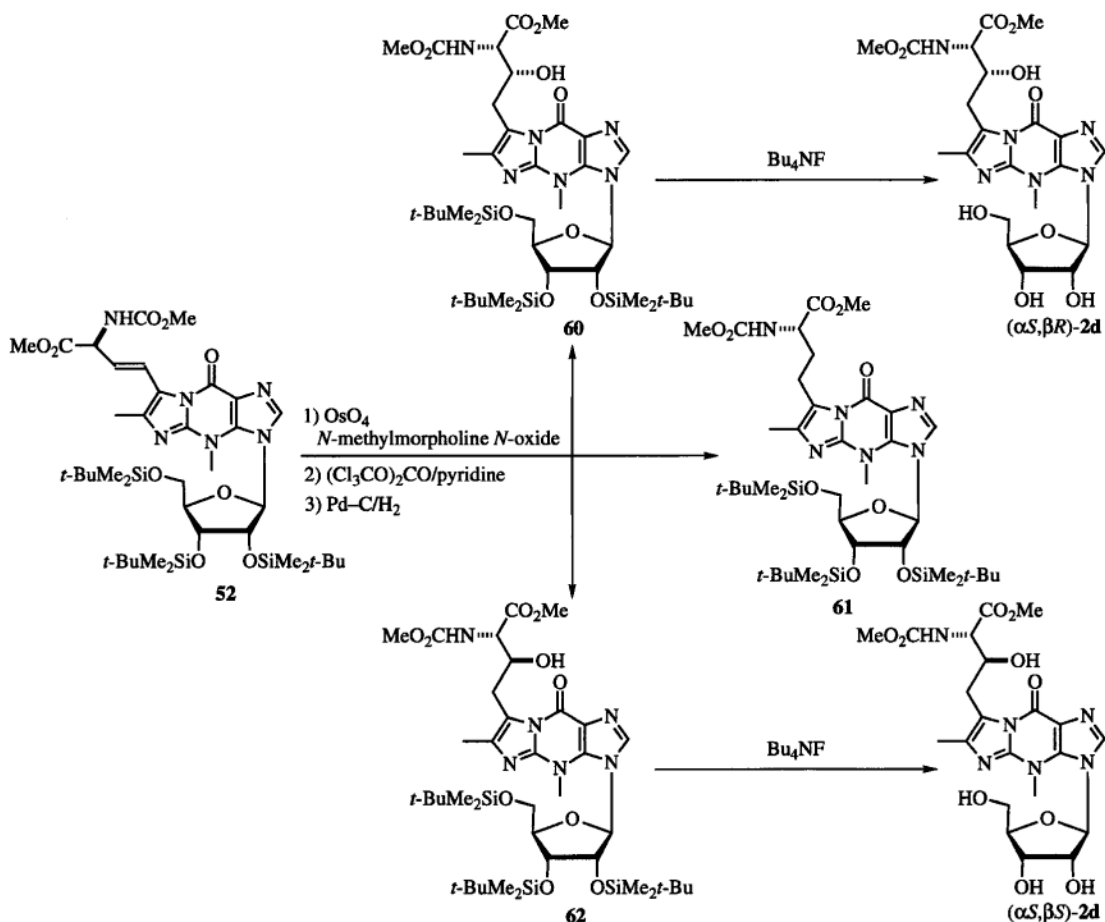


Chart 13

5. 1,2-ジオール類と $(\text{COCl})_2$ の反応

4-1節に述べたように、ジオール **53** あるいは **55** は Et_3N 存在下 0°C あるいは室温で $(\text{COCl})_2$ と反応して収率 43—66% で環状炭酸ジエステル **54** あるいは **56** を与える。この現象に近い前例としては、古く塩基不在下の pinacol (**63**: $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{R}^4=\text{Me}$) と $(\text{COCl})_2$ の反応が報告されているのみである。⁵⁵⁾ 筆者らの追試の結果、この反応では pinacolone の他に収率 0.7% 及び 28% で環状シュウ酸ジエステル **64** ($\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{R}^4=\text{Me}$) と環状炭酸ジエステル **65** ($\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{R}^4=\text{Me}$) が得られた。驚くべきことに、 Et_3N 存在下の 1,2-ジオール類と $(\text{COCl})_2$ の反応に関する前例は 2 報しかなく、しかも環状シュウ酸ジエステル **64** であるとされた生成物は、実際には環状炭酸ジエステル **65** であることが判明した。⁵⁶⁾ 一方、**64** 型化合物は 1,2-ジオール類と $(\text{COCl})_2$ の反応で当然生成すると予想されるのに、数例しか報告されておらず、その製法は

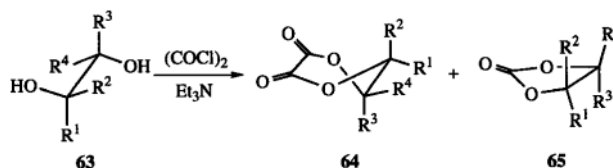


Chart 14

$(\text{COCl})_2$ を用いたものではない。つまり、前世紀初頭から頻繁に用いられてきたこの試薬とありふれた基質との反応が、ほとんど未知であったということになる。

Et_3N 存在下 0°C における種々の鎖状 1,2-ジオール類 **63** と $(\text{COCl})_2$ との反応を THF 中で行った。その結果、いずれの場合にも **64** 型化合物と **65** 型化合物が競合的に生成していること、ethylene glycol (**63**: $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{R}^4=\text{H}$) では **65** が微量にしか生成しないのに置換基の数が増えるにつれて **65** の生成比が増加し、pinacol (**63**: $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{R}^4=\text{Me}$)

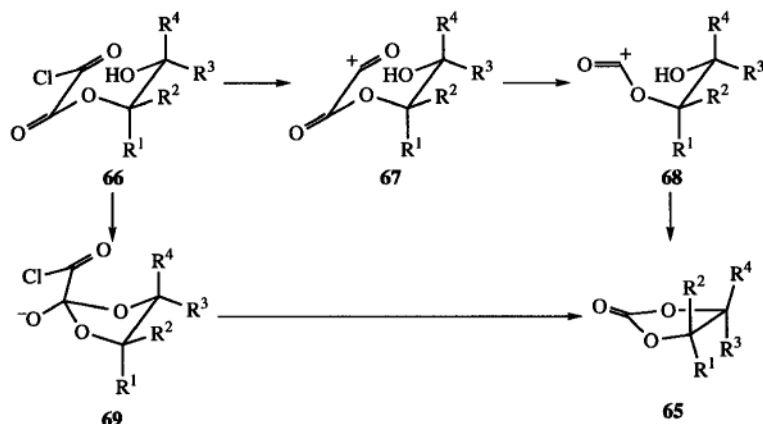


Chart 15

では逆に **64** がわずかにしか生成しないというように、生成物分布が基質 **63** の構造に大きく依存していること、及び **64** ($R^1=R^2=R^3=R^4=Me$) 以外の **64** 型化合物が H_2O 中あるいはシリカゲル上でほとんど瞬時に分解することが分かった。環状炭酸ジエステル **65** が生成する機構として考えられる、 $(COCl)_2$ が $COCl_2$ に分解する経路、環状シュウ酸ジエステル **64** から生成する経路、カルボニルカチオン **67** あるいは四面体中間体 **69** を経由して生成する経路は、いずれも基質 **63** の構造と生成物分布との関係を説明できず、すべて他の証拠によっても否定された。

1,2-ジオールと $(COCl)_2$ との反応ではまずモノエステル **66** が生成し、隣接するカルボニル酸素はトランス配置をとるに違いない。このものがゴーシュ型立体配座 **66A** から閉環するにはカルボニル酸素と R^4 基の間の立体障害が大きすぎるので、重なり型に近い立体配座 **66B** になる必要があるが、重要なポイントはいす型遷移状態を経由すれば生成する四面体中間体 **70A**・H の塩素原子がエクアトリアル位をとらざるを得ないということである。このような構造の水酸基の pK_a 値は 6.3—6.8 と計算されているので、 Et_3N 存在下ではほぼ完全にアニオン **70A**⁻ に解離していることになる。立体電子制御の理論によれば、結合の開裂にはアンチペリプラナーな孤立電子対を 2 個以上必要とするので、**70A**⁻ の C-Cl 結合は開裂し得ない。これに対して、本来なら開裂しにくい C-C 結合には黒塗りので表した 3 個のアンチペリプラナーな孤立電子対があるので、この開裂が起こり CO の脱離を伴ってクロ

ロ炭酸エステル **71** が生じると考えれば、炭酸ジエステル **65** の生成を説明できる。一方、中間体 **70A**⁻ が **70B**⁻ に反転すれば、C-Cl アキシャル結合に対してアンチペリプラナーな孤立電子対が 2 個存在するようになるので、通常の C-Cl 結合の開裂が起こり、シュウ酸ジエステル **64** を与えることになる。Ethylene glycol (**63**: $R^1=R^2=R^3=R^4=H$) の反応の場合には **70A**⁻ と **70B**⁻ の相互変換が速いので **70A**⁻ からの開裂がほとんど起こらず、シュウ酸ジエステル **64** が主生成体となり、置換基の数が増えるにつれて **70A**⁻ と **70B**⁻ の変換速度が遅くなることを反映して炭酸ジエステル **65** の生成比が大きくなるのであろう。1,2-ジ置換ジオールの場合、**64** と **65** の生成比は例えばエリトロ体 *meso*-hydrobenzoin (**63**: $R^2=R^4=H$; $R^1=R^3=Ph$) からは 67 : 33 であり、**70A**⁻ と **70B**⁻ の変換速度と **70A**⁻ の崩壊速度との間に大差がないことを示している。(±)-Hydrobenzoin (**63**: $R^1=R^4=H$; $R^2=R^3=Ph$) からの **64** と **65** の生成比が 36 : 64 のように逆転しているのは、トレオ体からの **70B**⁻ では両方の Ph 基がアキシャル位を占めることになる不利さを反映しているのであろう。⁵⁶⁾

鎖状 1,2-ジオールの反応では可能であった重なり型に近い立体配座への変化は、*trans*-1,2-cyclohexanediol (トレオ型) からのモノエステル **72** では無理であるから、いす型四面体中間体 **73A** を形成するためには配座 **72A** から非常に立体障害の大きい遷移状態を経由しなければならない (course A)。いったん **73A** が生成すれば、いす型間の相互変換はできないから、シュウ酸ジエステル **75** に至

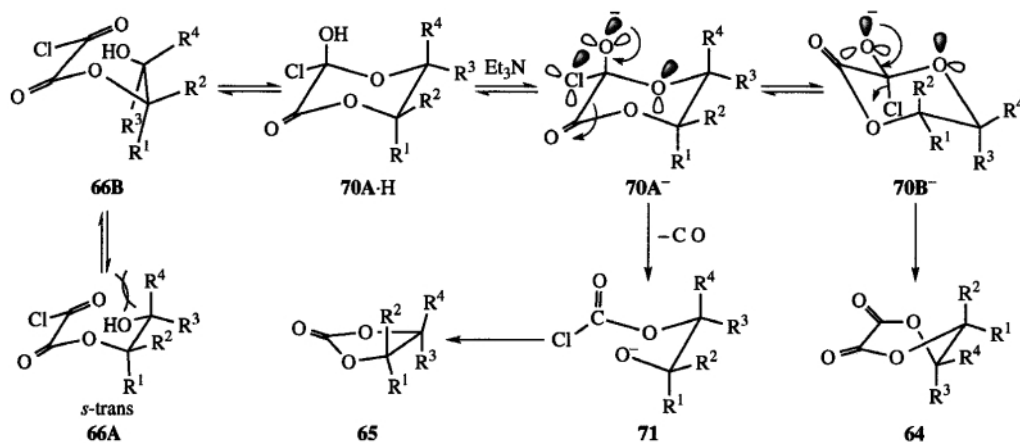


Chart 16

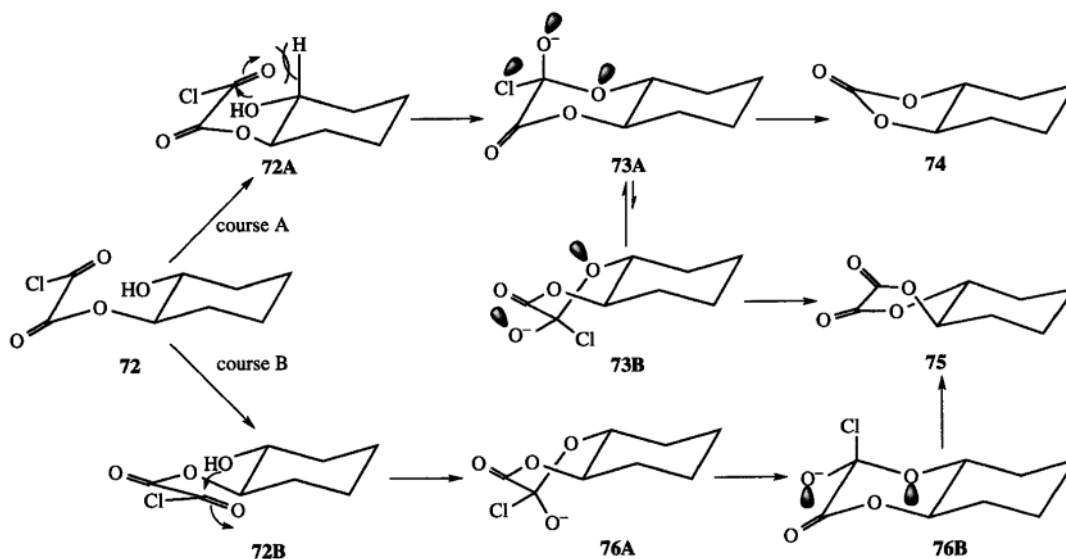


Chart 17

るには立体的に不利な船型配座 **73B** を経由しなければならず、もっぱら **73A** の崩壊が起こり一方的に炭酸ジエステル **74** が得られるはずである。実際には、**74** は全く生成せず、環状シュウ酸ジエステル **75** とシュウ酸ジエステルポリマーの混合物 (**75** : **25**) が得られ、反応が course A を通過していないことが分かる。この結果は、**72B** に示すように、モノエステルのカルボニル面上方からの求核攻撃 (course B) により閉環した船型配座の四面体中間体 **76A** が速やかにいす型配座 **76B** に変化し、一方的に **75** を与えたものと説明される。ポリマーの生成比が比較的大きいのは、船型遷移状態を経て閉環しなければならない不利さを反映していると考えられる。立体配座が固定されている *trans*-1,2-cy-

cloptanediol の反応でも同様に course B を経由したと考えられる結果が得られた。立体配座に余裕のある *trans*-1,2-cycloheptanediol や *trans*-1,2-cyclooctanediol の反応では、鎖状 1,2-ジオールの場合と同様に重なり型に近い配座から閉環することが可能であると考えられる。実際、反応の結果は鎖状トレオ型ジオールの場合と同様の傾向を示し、環状シュウ酸ジエステルと環状炭酸ジエステルが前者からは 32 : 65、後者からは 17 : 83 の比率で生成した。

cis-1,2-Cyclohexanediol (エリトロ型) からのモノエステル **77** の閉環もトランス体と同様に進行し、まず船型配座の四面体中間体 **80A** を与えるであろう。このものが安定ないす型中間体 **80B** に変われば、塩素原子がアキシアル位となり環状シュウ

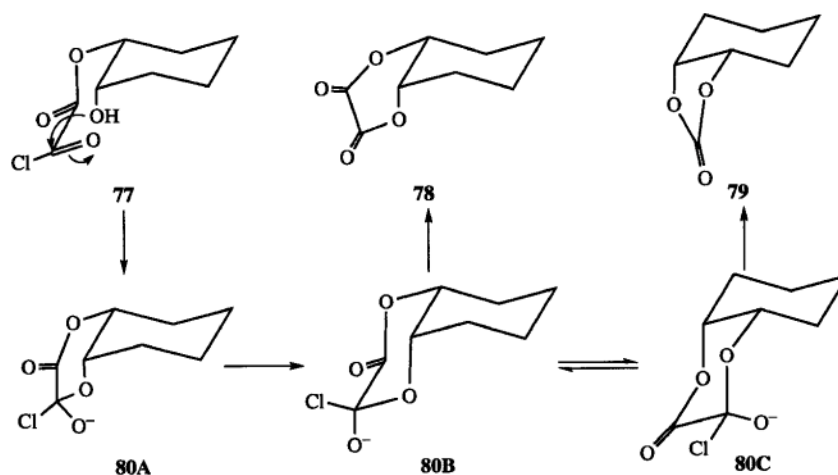


Chart 18

酸ジエステル **78** を与える。トランス体の場合とは違って、**80B** は環反転して **80C** に変化することができるので、環状炭酸ジエステル **79** が生成してもよい。実際には、**78** が主生成体であり、少量の **79** とポリマーを生成した。当然ながら、*cis*-1,2-cyclopentanediol の場合も同様の結果であった。立体的に余裕のある *cis*-1,2-cyclooctanediol の場合には、カルボニル面の下方からの求核攻撃による閉環が可能なので、鎖状エリトロ型基質の場合と類似の結果が予想される。事実、環状シュウ酸ジエステルと環状炭酸ジエステルの生成比は 58 : 42 であった。⁵⁷⁾

1,2-ジオール類と $(\text{COCl})_2$ との反応で環状炭酸ジエステルが生成する機構を説明し得たので、次の課題はどのようなタイプの 1,2-ジオールからも環状シュウ酸ジエステルを調製することができる方法を考えることであろう。環状シュウ酸ジエステルは極めて反応性に富み、その精製法には制約を受けるので、高選択的に生成する反応を案出せねばならない。既に述べたように、 Et_3N 存在下では環状炭酸ジエステル **65** はアニオン **70A**⁻ から生成する。一方、塩基不在下でも pinacol は環状炭酸ジエステルを生成した。この場合、四面体中間体 **70A** · H はプロトン化され **70A** · H₂⁺ のように活性化されたものと考えられる (Chart 19)。非解離型の **70B** · H からの C-Cl 結合の開裂は起こり得ても、**70A** · H からの C-C 結合の開裂は起こり得ないと考えると、プロトンを受容するけれども **70A** · H を解離させないような pK_a 値をもつ塩基を用いれば環状

炭酸ジエステル **65** の生成を抑制できるはずである。実際、 Et_3N の代わりに pyridine を用いると、どのような 1,2-ジオールからも環状炭酸ジエステル **65** がほとんど生成せず、トレオ体や pinacol からも環状シュウ酸ジエステル **64** を容易に調製できるようになった。しかし、エリトロ体の反応に対してはポリマーの生成比が増加する欠点があった。この現象は、エリトロ体にとって不利な重なり型に近い立体配座 **66B** (Chart 16) からの閉環が、分子間反応に比して遅くなることの現れであると考えられる。この問題は、(*R*^{*}, *S*^{*})-3-methyl-1-phenyl-1,2-butanediol (**63**: $\text{R}^2=\text{R}^4=\text{H}$; $\text{R}^1=\text{Ph}$; $\text{R}^3=\text{CHMe}_2$) の場合には 2,4,6-collidine を用いることによって解決でき、対応する環状シュウ酸ジエステル **64** を収率 76% で得た。同様にして *meso*-hydrobenzoin から **64** と **65** の混合物 (生成比 95 : 5) を得たものの、この場合には少量の **65** を除去しきれなかった。環状炭酸ジエステル **65** の生成は、四面体中間体 **70A**⁻ (Chart 16) の C-C 結合の開裂に寄与する孤立電子対の数を減らすことによって抑制できるはずである。この考えに基づいて、 $(\text{COCl})_2$ に代えて 1,1'-oxalyldiimidazole を用いたところ、環状炭酸ジエステル **65** は全く生成せず、環状シュウ酸ジエステル **64** ($\text{R}^2=\text{R}^4=\text{H}$; $\text{R}^1=\text{R}^3=\text{Ph}$) を収率 64% で単離することができた。⁵⁸⁾

このようにして得た環状シュウ酸ジエステルは、非常に速い加水分解を受けて開環し、シュウ酸モノエステルを与える。この反応の $\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{CN}$ 中 PH 5.7, 25°C における速度を測定した。無置換環状

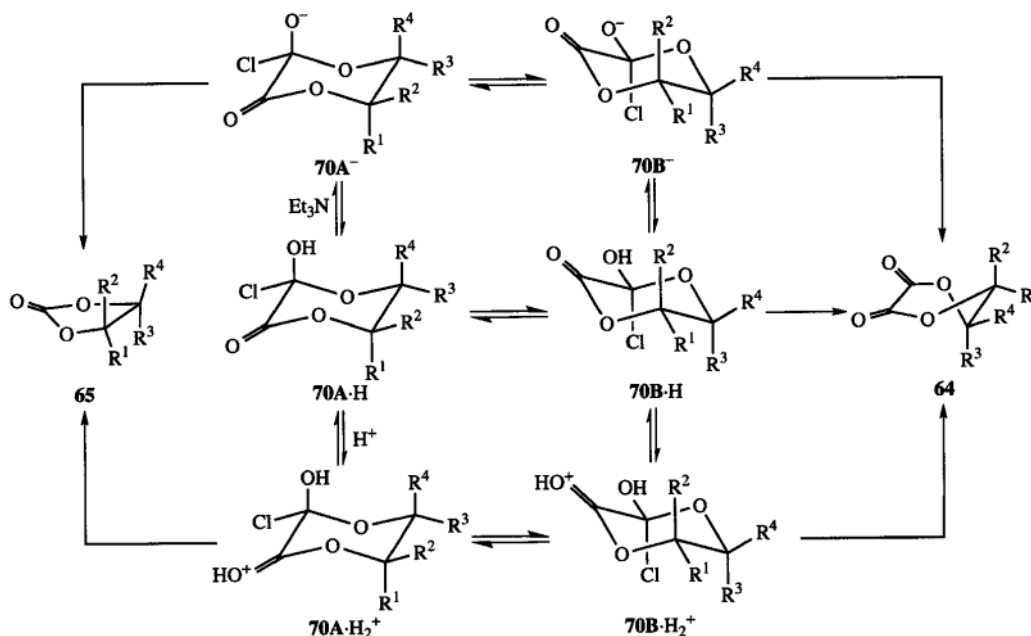


Chart 19

シュウ酸ジエステル (**64**: R¹=R²=R³=R⁴=H) は、鎖状ジエステル (CO₂Et)₂ より 1000 倍速く加水分解され、アルキル置換基の数が増加するにつれて反応が遅くなる傾向があるのに対して、フェニル置換はむしろ反応を加速した。テトラメチル体 (**64**: R¹=R²=R³=R⁴=Me) の反応は例外的に遅くなり、(CO₂Et)₂ と同等の速度を示した。このものの 4 個のメチル基は NMR 的に等価であることから、溶液中では速い環反転を行っていることが分かる。X 線解析の結果は、1 個のアキシアル位メチル基がカルボニル面上方で 2 個のカルボニル炭素に対する求核攻撃を均等かつ効果的にブロックする位置を占めており、カルボニル面下方ではもう 1 個のアキシアルメチル基が全く同じ役割を果たしていることを示している。このことは、このものが比較的不活性であることの説明になるであろう。⁵⁸⁾

おわりに

特殊なヌクレオシドの合成を通じて、より普遍的な真理の発見や基礎的な反応の開拓を目指して研究を行ってきた。最初の成果として、未知であった 3,9-ジ置換プリン類の合成法を確立し、この方法のヌクレオシドレベルへの展開によって 3-メチルプリンリボシド類及び wyosine (**2a**) を合成することができた。その結果、**2a** の N-グリコシル結合の異常な反応性と構造の関係のある程度明らかにするこ

とができたものの、その原因を解明するまでには至っていない。ヌクレオシドの加水分解速度と塩基部の構造との関連は古くからの研究課題であり、多くの研究報告があるにもかかわらず納得のいく説明がない。新しい視点からの理論的な研究⁵⁹⁾が必要な分野であると思われる。第 2 に、光学活性体の報告がなかった γ -アリアル- β,γ -不飽和アミノ酸誘導体のキラル合成法 2 つを案出した。第 3 に、第二級アルコールの水素化分解法の探索から、1,2-ジオールと (COCl)₂ との反応によって環状炭酸ジエステルが生成することを発見した。その反応機構を解明することによって、ほとんど報告例がなかった環状シュウ酸ジエステルを任意の 1,2-ジオールから調製できるようになった。環状シュウ酸ジエステルの反応性には非常に興味を持たれるものの、加水分解反応を予備的に検討するに留まった。最後に、ヌクレオシド **2a—d** を合成することによって、tRNA^{Phe} の微量蛍光成分の絶対配置を含めて構造上の問題点を解決することができた。しかし、ペルオキシ体 **1e** に関してはその合成も、tRNA からの単離も行わなかったため、これが果たして実在する化合物かどうか分からないままである。また、(α S, β S)-**2d** に関しては立体選択的な合成法の案出が課題として残った。この研究の所期の目的は、tRNA の微量成分の存在意義を明らかにすることであったから、化学的

な手段として例えばラット肝 tRNA^{Phe} そのものの合成も通過すべき道標の1つであったのに、その道へ踏み出す前に日が暮れた。自動合成機が市販されている現在、DNAの合成は確立された技術であるとは言え、RNAの合成はそれほど容易ではなく、多数の修飾成分を構成要素とすることがtRNAの全合成⁶⁰⁾をさらに困難にしている。塩基性及び酸性条件下あるいは求核試薬の存在下で不安定であり、糖部以外にも水酸基をもつ **2d** を組み込んだ tRNA^{Phe} は挑戦に値する合成標的であろう。

比較的簡単な化合物 **2d** の合成をめぐる研究においてさえ、なすべきことはあまりにも多く、なし得たことは少なかったというのが実感である。

REFERENCES

- 1) Itaya T., *Yuki Gosei Kagaku Kyokai Shi*, **45**, 431–444 (1987).
- 2) Limbach P. A., Crain P. F., McCloskey J. A., *Nucleic Acids Res.*, **22**, 2183–2196 (1994).
- 3) RajBhandary U. L., Faulkner R. D., Stuart A., *J. Biol. Chem.*, **243**, 575–583 (1968).
- 4) Thiebe R., Zachau H. G., *Eur. J. Biochem.*, **5**, 546–555 (1968).
- 5) Nakanishi K., Furutachi N., Funamizu M., Grunberger D., Weinstein I. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 7617–7619 (1970).
- 6) Itaya T., *Yakugaku Zasshi*, **108**, 697–715 (1988).
- 7) Fujii T., Itaya T., Saito T., *Yuki Gosei Kagaku Kyokai Shi*, **41**, 1193–1208 (1983).
- 8) Fujii T., *Yakugaku Zasshi*, **116**, 355–373 (1996).
- 9) Fujii T., Itaya T., *Rev. Heteroat. Chem.*, **16**, 257–285 (1997).
- 10) Fujii T., Itaya T., Mohri K., Saito T., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1973**, 917.
- 11) Fujii T., Itaya T., Saito T., Mohri K., Kawanishi M., Nakasaka T., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 1504–1513 (1989).
- 12) Fujii T., Saito T., Nakasaka T., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 2601–2609 (1989).
- 13) Marsico J. W., Goldman L., *J. Org. Chem.*, **30**, 3597–3600 (1965).
- 14) Itaya T., Ogawa K., Matsumoto H., Watanabe T., *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 2819–2824 (1980).
- 15) Itaya T., Matsumoto H., Ogawa K., *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 1920–1924 (1980).
- 16) Itaya T., Ogawa K., Matsumoto H., Watanabe T., *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 2522–2527 (1980).
- 17) Nakatsuka S., Ohgi T., Goto T., *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 2579–2582.
- 18) Itaya T., Matsumoto H., Watanabe T., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 86–90 (1982).
- 19) Itaya T., Saito T., Harada T., Kagatani S., Fujii T., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 3200–3203 (1989).
- 20) Pfeleiderer W., Nübel G., *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **647**, 155–160 (1961).
- 21) Itaya T., Harada T., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 1235–1238 (1989).
- 22) Itaya T., Ogawa K., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 1906–1913 (1985).
- 23) Itaya T., Matsumoto H., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 2213–2219 (1985).
- 24) Itaya T., Harada T., *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 2971–2976 (1990).
- 25) Ienaga K., Pfeleiderer W., *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 1447–1450.
- 26) Goto T., *Yuki Gosei Kagaku Kyokai Shi*, **39**, 850–859 (1981).
- 27) Itaya T., Ogawa K., *Tetrahedron*, **38**, 1767–1773 (1982).
- 28) Itaya T., Matsumoto H., Watanabe T., Harada T., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 2339–2347 (1985).
- 29) Kasai H., Goto M., Ikeda K., Zama M., Mizuno Y., Takemura S., Matsuura S., Sugimoto T., Goto T., *Biochemistry*, **15**, 898–904 (1976).
- 30) Golankiewicz B., Folkman W., *Nucleic Acids Res.*, **11**, 5243–5255 (1983).
- 31) Bazin H., Zhou X.-X., Glemarec C., Chatopadhyaya J., *Tetrahedron Lett.*, **28**, 3275–3278 (1987).
- 32) Itaya T., Harada T., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1984**, 858–859.
- 33) Itaya T., Kanai T., Ohyama S., Shirasaki Y., Muramoto N., Ono Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 1464–1472 (1999).
- 34) McCloskey J. A., Crain P. F., Edmonds C. G., Gupta R., Hashizume T., Phillipson D. W., Stetter K. O., *Nucleic Acids Res.*, **15**, 683–693 (1987).
- 35) Itaya T., Kanai T., Sawada T., *Chem. Pharm.*

- Bull.*, **50**, 547–548 (2002).
- 36) Funamizu M., Terahara A., Feinberg A. M., Nakanishi K., *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 6706–6708 (1971).
- 37) Frihart C. R., Feinberg A. M., Nakanishi K., *J. Org. Chem.*, **43**, 1644–1649 (1978).
- 38) Itaya T., Mizutani A., Takeda M., Shioyama C., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 284–291 (1989).
- 39) Itaya T., Morisue M., Takeda M., Kumazawa Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 2656–2661 (1990).
- 40) Itaya T., *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 4372–4374 (1987).
- 41) Itaya T., Iida T., Shimizu S., Mizutani A., Morisue M., Sugimoto Y., Tachinaka M., *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 252–261 (1993).
- 42) Monsigny M. L. P., Delay D., Vaculik M., *Carbohydr. Res.*, **59**, 589–593 (1977).
- 43) Itaya T., Mizutani A., Iida T., *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 1407–1414 (1991).
- 44) Itaya T., Shimizu S., *Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 398–402 (1995).
- 45) Itaya T., Hozumi Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **46**, 1094–1101 (1998).
- 46) Itaya T., Kanai T., *Chem. Pharm. Bull.*, **46**, 1220–1224 (1998).
- 47) Itaya T., Morisue M., Shimomichi M., Ozasa M., Shimizu S., Nakagawa S., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1994**, 2759–2765.
- 48) Itaya T., Kanai T., Iida T., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 530–533 (2002).
- 49) Itaya T., Watanabe N., Mizutani A., *Tetrahedron Lett.*, **27**, 4043–4046 (1986).
- 50) Itaya T., Kanai T., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 1584–1588 (2002).
- 51) Itaya T., Watanabe N., Iida T., Kanai T., Mizutani A., *Tetrahedron*, **51**, 6419–6430 (1995).
- 52) Itaya T., Kanai T., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 1318–1326 (2002).
- 53) Kasai H., Yamaizumi Z., Kuchino Y., Nishimura S., *Nucleic Acids Res.*, **6**, 993–999 (1979).
- 54) Barciszewska M., Kaminek M., Barciszewski J., Wiewiórowski M., *Plant Sci. Lett.*, **20**, 387–392 (1981).
- 55) Adams R., Weeks L. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **38**, 2514–2519 (1916).
- 56) Iida T., Itaya T., *Tetrahedron*, **49**, 10511–10530 (1993).
- 57) Itaya T., Iida T., Natsutani I., Ohba M., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 83–86 (2002).
- 58) Itaya T., Iida T., Gomyo Y., Natsutani I., Ohba M., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 346–353 (2002).
- 59) Baik M.-H., Friesner R. A., Lippard S. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 4495–4503 (2002).
- 60) Gasparutto D., Livache T., Bazin H., Duplaa A.-M., Guy A., Khorlin A., Molko D., Roget A., Téoule R., *Nucleic Acids Res.*, **20**, 5159–5166 (1992).