

40年間の化学研究生活を振り返って

今西 武

Overview of 40 Years' Chemical Study

Takeshi IMANISHI

*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University,
1-6 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan*

(Received July 29, 2008)

1,6-Dihydro-3(2*H*)-pyridinone, designed as a common synthon for synthesis of various natural products, was found to be easily prepared in large scale and successfully used to synthesize a variety of alkaloids such as ibogamine, quinine and tecomanine. A tricyclo[3.3.0.0^{2,8}]octane was also served as a common synthon for several sesquiterpenes such as pentalenene and quadrone. Synthetic studies by using sulfinyl chirality *via* an intramolecular Michael addition gave the novel route to construct spiro-ketal moiety in enantiomerically pure form. By applying this method, many natural spiro-ketal compounds were asymmetrically synthesized effectively. 3-Sulfinylated 1,4-dihydropyridine, a chiral NADH model compound, reduced activated ketones such as methyl benzoylformate to give the corresponding alcohols in excellent optical yields. A kind of 3-*O*-substituted pyridoxal chiral model compound was useful for preparation of α,α -dialkylated α -amino acids by asymmetric α -alkylation of α -amino acids. 2'-*O*,4'-*C*-Bridged nucleic acid analogs, BNAs, developed as novel type of artificial nucleic acids, showed an extraordinarily high binding affinity toward single stranded RNA and double stranded DNA complements along with excellent nuclease-resistant ability. Oligonucleotides containing BNA monomer units were proved to be very useful for various biotechnologies, such as antisense and antigenic methodologies.

Key words—nucleic acid; biotechnology; co-enzyme; natural product; asymmetric synthesis

1. はじめに

筆者は、1963年に大阪大学薬学部に入學し、学部4年生の特別実習から堀井善一先生の薬品製造学講座にお世話になり有機合成化学の研究生活をスタートし、1967年に学部を卒業、引き続き大学院に進み、1972年博士後期課程を修了した。その後、堀井先生が退職されて同講座を引き継がれていた百瀬雄章先生の下で研究生、教務職員、助手を勤めさせて頂き、1978年には、金沢大学薬学部で教授になられた花岡美代次先生からお誘いを頂いて薬品製造化学講座の助教授として赴任、1982年には、大阪大学薬学部で教授になられた岩田宙造先生のお計らいで古巣の助教授として再び大阪大学で研究することとなった。1990年には、薬化学講座

(現、生物有機化学分野)を主宰することとなり、それまでの天然物合成化学を中心とした研究から、生命科学現象の分子メカニズムを範とした生物有機化学的研究へと軸足を移して18年余りの歳月が流れ、この3月で大阪大学を定年退職した。

本稿では、これまでの大学での40年間の研究活動について、まずは前半の「天然化合物の合成研究」について簡単に紹介し、その経験が基盤となった後半の「生物有機化学的研究」を中心に総説したい。

2. 天然化合物の化学合成を志向した研究

特別実習での研究テーマは「ヒガンバナアルカロイドの一種リコポジン (lycopodine) (Fig. 1)の合成に関する研究」で、先輩の博士研究のお手伝いの形でその一部分を分担する内容であった。マンツーマンで先輩から指導を受けることができ、色々な実験操作技術や専門知識を直接みっちり教わることができた。標的とした天然化合物の合成は思うようには進まず苦勞の連続ではあったが、¹⁻³⁾新しい化合物を合成する喜びを肌で感じる事が十分にでき

大阪大学大学院薬学研究科 (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-6)

e-mail: imanishi@phs.osaka-u.ac.jp

本総説は、平成19年度退職にあたり在職中の業績を中心に記述されたものである。

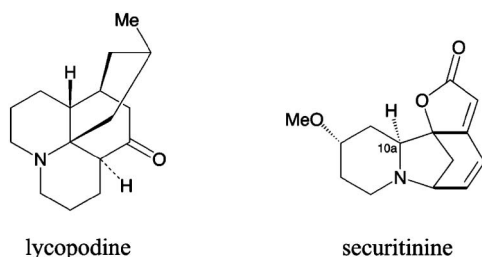
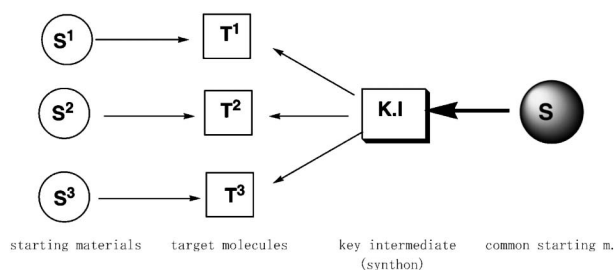


Fig. 1. Structure of Lycopodine and Securitinine

たし、合成化学の実験が大変楽しく感じるようになった。また、この時の経験がその後の研究や教育活動に大いに役立つことにもなった。修士課程1年まで lycopodine の合成研究に携わったが、修士2年次の途中からは securitinine (Fig. 1) の合成研究を始めることになった。Securitinine は、セクリネガアルカロイドの微量成分の一種で、主成分であり小児麻痺に治療効果があるとされていた securinine のペリリジン環部分にメトキシ基が置換した構造を有している。既に securinine の構造解析及び全合成が薬品製造学講座で達成されていたので、その全合成ルートが securitinine の合成に十分活用でき、securitinine の合成は至ってスムーズに進展するものと思われた。ところが、メトキシ基の有無だけの違いにもかかわらず、実際の合成は何かにつけて苦難の連続で、結局、目的とした securitinine の全合成は完成することができず、その立体異性体である 10a-*epi*-securitinine を合成するに留まる結果となった。⁴⁻⁶⁾

2-1. ジヒドロピリジンを合成素子とする生物活性天然化合物の合成研究⁷⁻²⁷⁾ 大学院修了後、新しい研究テーマの立ち上げに取り掛かった。学生時代での(浅い)経験から、標的とする複数の天然化合物を「別々の原料から」それぞれ「別々のルートで」合成する手法は大変手間と労力を必要とし非効率的であるとの思いが強かった。そこで、構造が異なる別々の天然化合物を、個々の出発原料からそれぞれ別々に合成するのではなく、別々の標的天然化合物の構造中に共通する適当な部分構造に着目し、それらの合成に共用でき得る「共通合成中間体(合成素子: シントン)」をデザイン・合成し、その合成素子から様々な天然物を効率よく合成する手法の開発研究に取り掛かった (Fig. 2).

Fig. 2. Concept of Natural Product Syntheses *via* a Synthon

この手法は、今建設中の「宇宙ステーション」構想に通じるものでもあり、決してユニークな発想ではないが、重要なポイントはそのシントンの分子設計である。この分子設計の適切さを欠けば、「共通」どころではなく、研究が行き詰まることになる。当初、ピロリジノン誘導体を各種アルカロイド合成のシントンとして設定した研究を行ったが、さしたる成果には結び付かなかった。その後、シントンをペリリジン誘導体として様々な研究展開を図った。悪戦苦闘の末、漸く「これは」と思うシントンを見出すことができた。その分子は 1,6-dihydro-3(2*H*)-pyridinone (**1**) であり、ペリリジン環上の1位から6位までのすべてに炭素官能基を導入することが容易と思われ、ペリリジン環が部分構造となっている様々な構造のアルカロイドを合成する鍵中間体として非常に魅力的な分子であると考えた。

1,6-Dihydro-3(2*H*)-pyridinone (**1**) に関する研究では、まずはピリジンを原料として **1** を合成する効率的で簡便なルートを確立し、これを共通中間体としてペリリジン環上の1位から6位に新たに様々な炭素官能基を結合させながら種々の生物活性アルカロイド類を合成しようとするものであった。本研究は、花岡先生の下で助教授として金沢大学で過ごした4年半の間で、ほぼ計画通り達成することがで



今西 武

1944年大阪市生まれ。大阪大学薬学部卒業、同大学院薬学研究科博士課程修了。1974年大阪大学薬学部助手、1978年金沢大学薬学部助教授、1982年大阪大学薬学部助教授、1990年同教授、1999-2001年同薬学研究科長・薬学部長、2008年定年退職、大阪大学名誉教授。2008年より大阪大学先端科学イノベーションセンター客員教授、(株)BNA代表取締役。

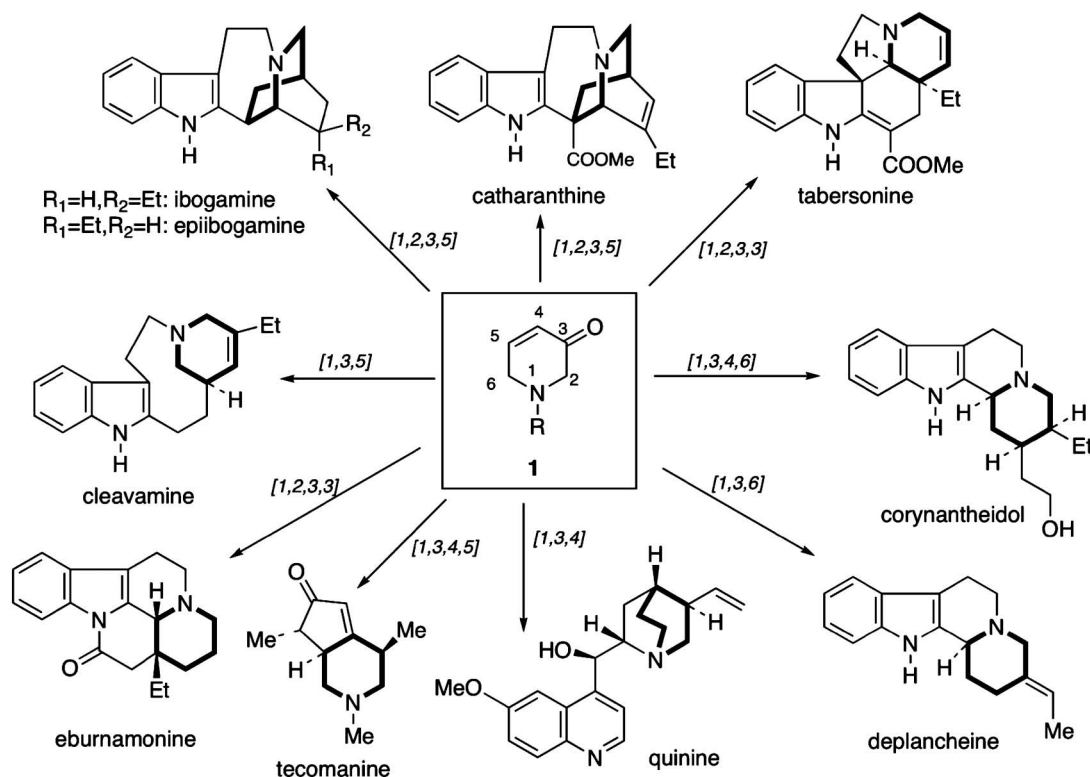


Fig. 3. Syntheses of Various Natural Products from the Key Intermediate 1

き、様々なアルカロイドの合成にジヒドロピリジノン **1** がシントンとして十分に機能し有用であることが実証できた (Fig. 3)。本研究で、武田科学振興財団の研究助成や日本薬学会奨励賞を受賞する幸運に恵まれた。

2-2. シクロプロパン環の位置選択的開環反応を利用するセスキテルペン類の合成研究²⁸⁻³⁷⁾ 昭和57年10月、大阪大学に戻ることもあったが、この時点でのジヒドロピリジノンの研究は一段落していたこともあり、新しい環境下では本研究を一切継続せず、新しい研究を立ち上げることにした。「研究テーマは、5年周期でリニューアルするよう心掛けている。なぜならば、同じテーマを長年続けるとデータは出るが、視野が狭くなり、つい重箱の底を突くことになりかねない」と、ある高名な先生から聞いたことがある。テーマの大きさや色々な状況から、かならずしもそうとばかり言えないが、転勤という絶好の機会でもあり、カッコよくそうすることにした。

当時の薬品製造学講座では、テルペンのうち、特にセスキテルペン類の合成研究が中心的なテーマとなっていた。セスキテルペンは生物活性もさること

ながら化学構造が大変多様で、合成化学者にとって魅力ある標的分子となっていた。そこで、これまでの経験を生かして、シクロプロパン環の位置選択的な開環反応を鍵反応とするセスキテルペン類の合成研究に着手した。

Tricyclo[3.3.0.0^{2,8}]octanone 系化合物 **2** のシクロプロパン環は C(1)-C(2) 間と C(2)-C(8) の結合が切断を受け易く、取り分け立体電子的には C(2)-C(8) 間が切れ易い構造の化合物である。C(2)-C(8) 結合を選択的に切断すれば pentalenic acid をはじめとして多くのポリキナン型セスキテルペンの合成が可能となり、C(1)-C(2) 結合を選択的に切断できれば別骨格構造のセスキテルペンである quadronne などの合成が理論的に可能となる。実際、**2** の誘導体から C(1)-C(2) 間、C(2)-C(8) 間をそれぞれ高選択的に切断する方法を開拓し、様々なセスキテルペン類の全合成や基本骨格合成をなし遂げることができた (Fig. 4)。

基質の構造や反応条件を工夫することで、通常は困難な C(1)-C(2) 間を選択的に切断することも可能であった。Birch 還元条件下では C(2)-C(8) 間が一方向的に切断でき、他方、カルボキシル基の分子

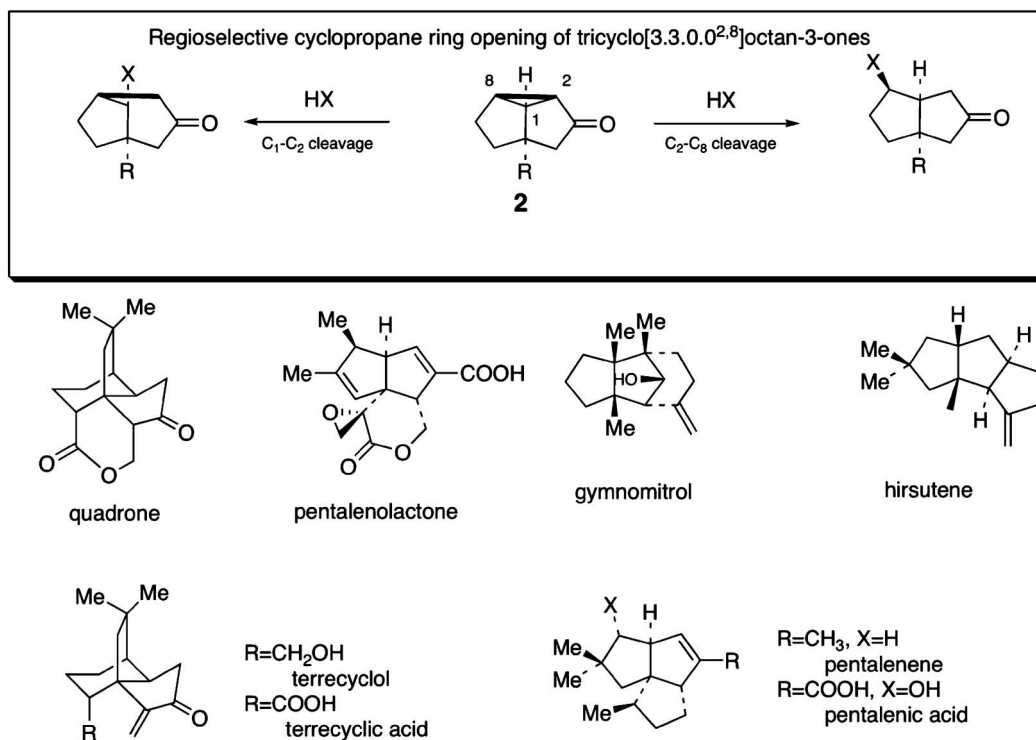


Fig. 4. Various Sesquiterpenes Synthesizable from 2

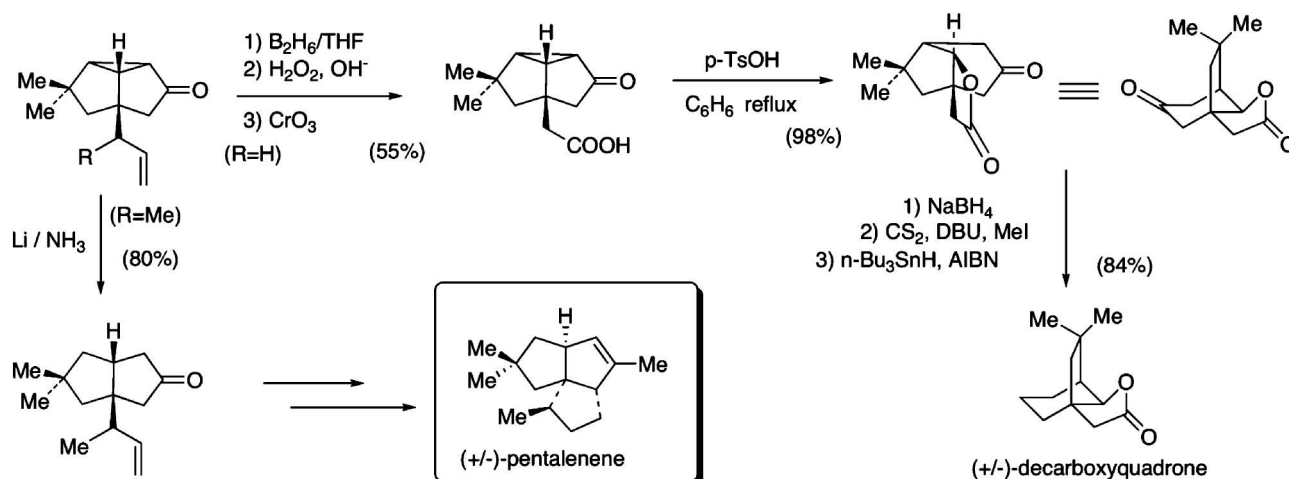


Fig. 5. Synthesis of Pentalenene and Decarboxyquadrone

内核置換反応を活用することでC(1)-C(2)間のみを切断できることが明らかとなり、quadroneやterrecyclic acid合成への新規ルートが開拓できた (Fig. 5).

なお、上記でのpentalenene合成では、側鎖メチル基がジアステロマー混合物であったため、最終的にはpentaleneneとその立体異性体が1.8:1の比で生成した。より効率的で立体選択的なpentale-

nene合成を目指した結果、Fig. 6に示したルートでその目的を達成することができた。

また、quadroneの合成も上記のpentalenene合成と同じ鍵中間体を用いてFig. 7のルートにより完成させた。

さらに、この位置選択的シクロプロパン環開裂反応は、四環性化合物からgymnomitorol類の合成などにも利用できることが分かった (Fig. 8)。

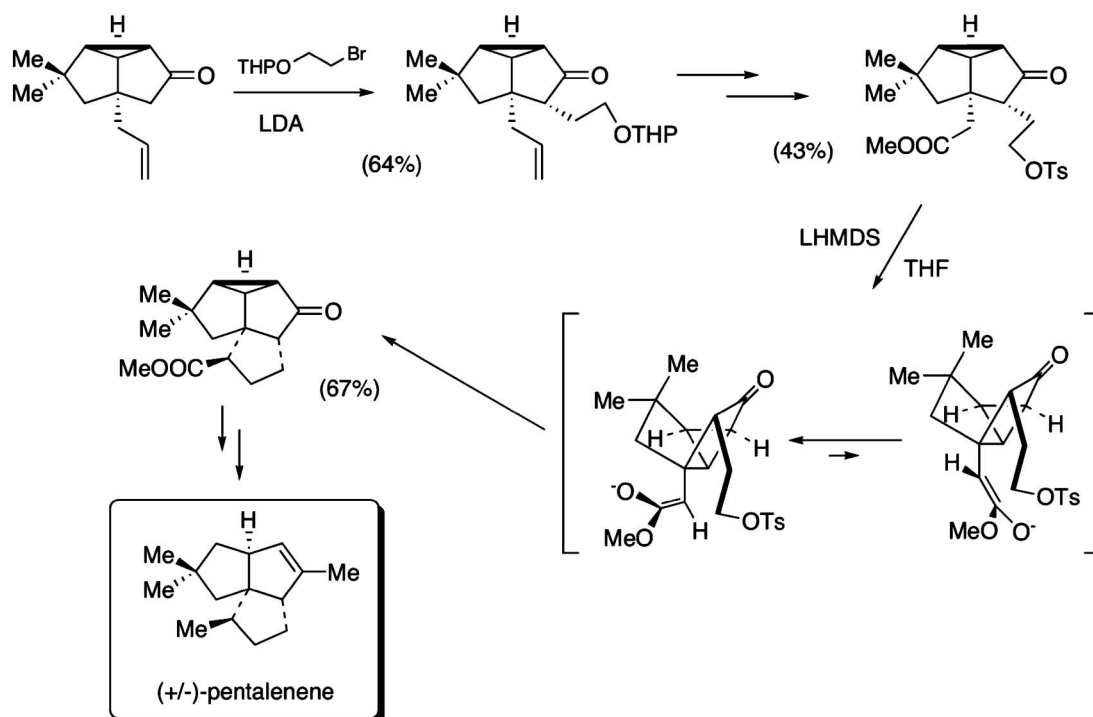
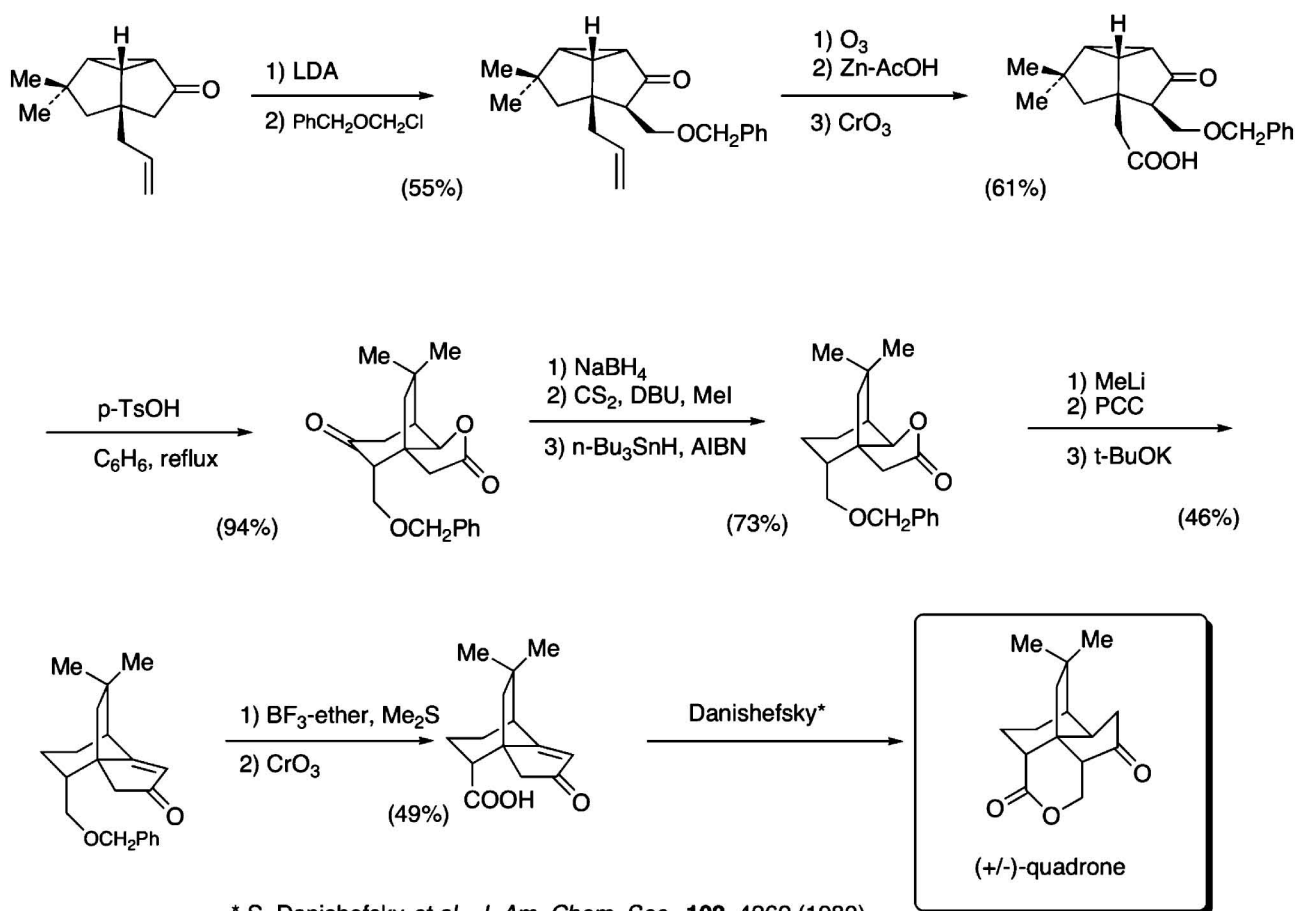


Fig. 6. An Alternative Route for Pentalenene



* S. Danishefsky *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 4262 (1980).

Fig. 7. Synthesis of Quadrone

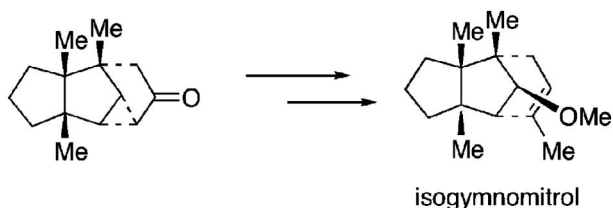


Fig. 8. Synthesis of Isogymnomitrol

2-3. スルフィニル不斉補助基を利用する天然スピロ化合物の不斉合成³⁸⁻⁵⁹⁾ これまで述べてきた天然化合物合成研究はすべてラセミ体の合成であったが、様々な不斉合成法が開発されるにつれて、天然物合成も光学活性体として合成することが求められるようになってきていた。不斉合成手法の中で不斉補助基を利用する方法は、初期反応の生成物がジアステレオマーとなるため、分離が容易で純粋な光学活性体を単離することができることから、適当な不斉補助基が利用できれば大変メリットのある方法である。不斉環境の優れた官能基であるスルフィニル基は、簡便に光学活性体が調製でき、不斉補助基として利用したのちには簡単に除去できることから、大変有用な不斉補助基である。この光学活性スルフィニル基を活用することによって、各種のスピロ型天然化合物の不斉合成を達成することができた。

この研究では、スピロ環形成前駆体 **3** から不斉スルフィニル基の立体制御により高立体選択的にスピロ化合物 **4** へ導き、そののちにスルフィニル基を除去してスピロ化合物 **5** を純粋なエナンチオマーとして合成する手法を開発し、様々なスピロ天然化合物を不斉合成することに目標を置いた (Fig. 9)。

スピロケタール構造を有する天然物は各種の昆虫が生産するフェロモン類に多い。化学構造上、微量の酸でスピロ中心炭素の立体化学が異性化するた

め、一般に光学活性体を純粋な状態で合成するのが難しいので、フェロモン活性とスピロ立体化学の関係がハッキリしていないのである。

最初の合成標的化合物として Olive fly の性誘引フェロモンとして知られている C_2 対称キラル構造の 1,7-dioxaspiro[5.5]undecane を選び、Fig. 10 の経路で両エナンチオマーをそれぞれ選択的に不斉合成することができた。

不斉源の (–)-menthyl (*S*)-*p*-tolylsulfinate から合成した化合物 **6** は、水素化ナトリウムで処理するとスピロ体 **7** が反応速度論的支配を受けて単一の異性体として得られ、これを酸処理するとスピロ中心の立体化学が反転して熱力学的に安定な **8** が得られる。1つの中間体 **6** から選択的に得られる **7** 及び **8** それぞれから、中性条件下でスルフィニル基を還元的に除去することで標的化合物の両エナンチオマーへとそれぞれ純粋な形で合成することができた。閉環前駆体 **6** から **7** が高度立体選択的に生成するのは、スルフィニル基の不斉環境が豊かで、反応中間体におけるその優位立体配座と金属イオンを介したキレーション効果によるものと理解している (Fig. 11)。

この不斉合成手法は、一般応用性が高く、Fig. 12 に示した他のスピロケタール系天然化合物類の合成にも応用でき、それぞれ1つの光学活性共通中間体から複数の立体異性体の標的化合物を選択的に合成することが可能であった。

スピロケタール型天然化合物のみならず、本手法はスピロ型アルカロイドや炭素スピロ化合物、例えばヴェチバン型セスキテルペン類の不斉合成にもこのスルフィニル基を不斉補助基とする本法に少し工夫を施すことで十分適応可能であり、実際、いくつかの天然物あるいはその基本骨格の不斉合成にも応

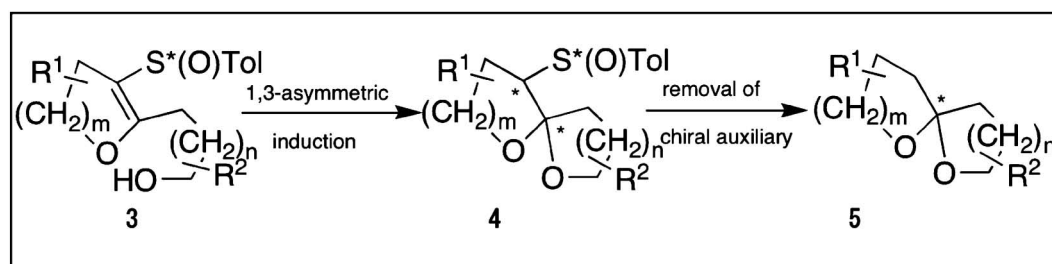


Fig. 9. Concept of Enantioselective Synthesis of Spiroketals

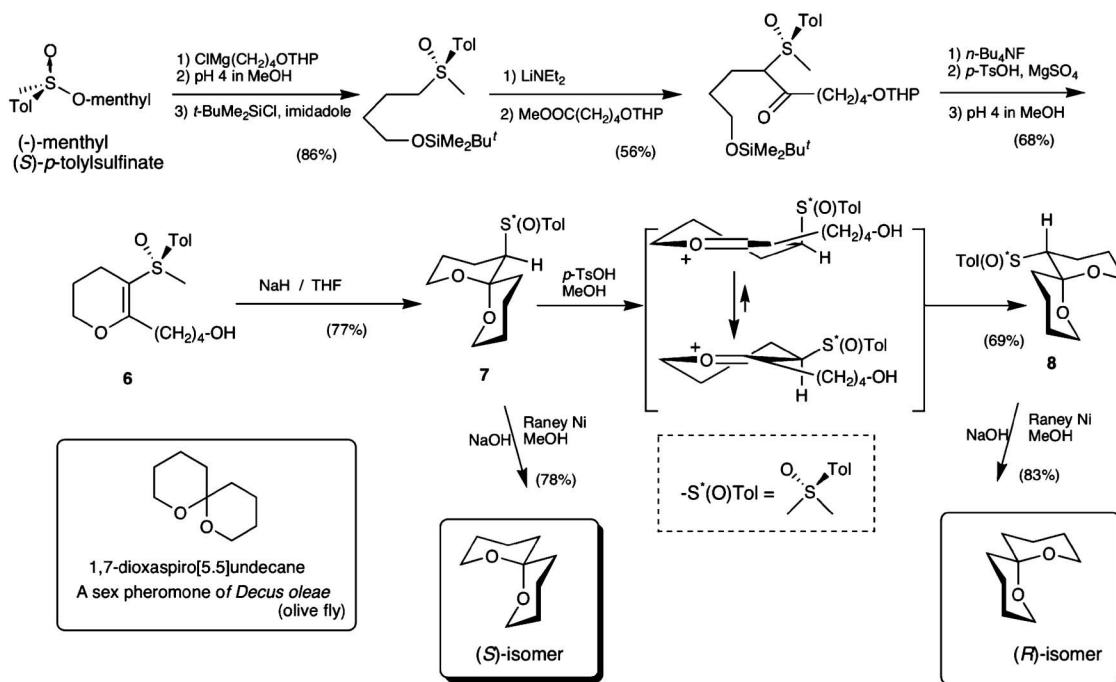
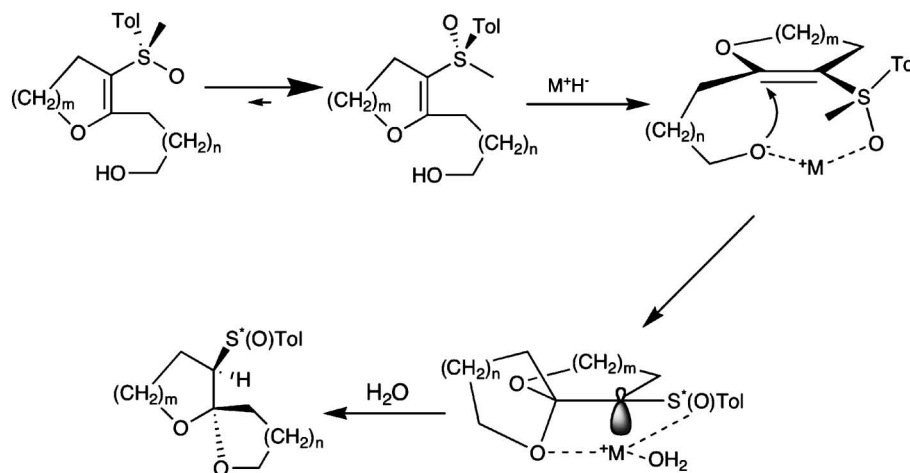
Fig. 10. Synthesis of (*R*)- and (*S*)-1,7-Dioxospiro [5.5]undecane

Fig. 11. Possible Mechanism for Stereoselective Spiroketal Ring Formation

用できている。例えば、化合物 **9** から高い光学純度で得られるスルフィド **10** は (–)-sibirine 不斉合成の中間体として有効に機能した (Fig. 13)。

3. 生命現象の分子メカニズムの基づく生物有機化学的研究

上述の如く、手法にかかわりを持ちながら天然化合物の合成を中心とした研究を進める一方で、これらの精密有機合成の知識や技術を天然物合成以外の領域に応用展開したいと考えるようになっていた。

それには2つの契機があったと認識している。第1は、金沢大学時代に武田科学振興財団の研究助成授与式で財団理事長から「数多くの化合物を合成しているが、それらの薬理活性はどうですか？」と尋ねられ「調べておりません」と応えざるを得なかったことがあり、「ただ創るだけの化学ではいけない」のではと考えるようになった。第2は、田伏岩夫著「化学で生命を創る」(共立出版, 1986) との出会いである。この書は、「化学」という「もの創り」の

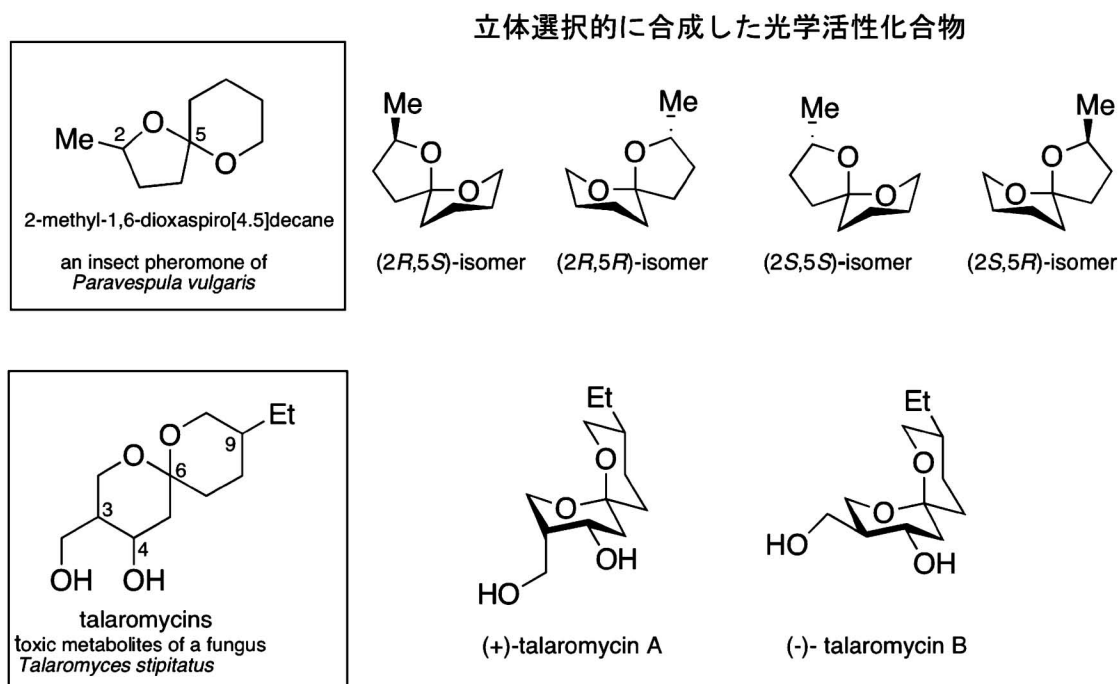
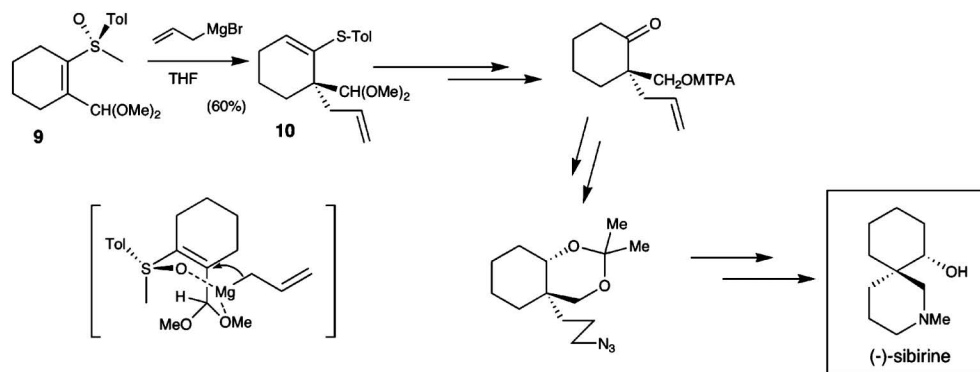


Fig. 12. Synthesis of Other Natural Spiroketal



道具を別の研究領域分野（特に生命科学）と融合しながら活用する重要性を実際の研究活動を通じて力説したもので、大変感銘を受けた。「何が創れるか？」も大切だが、「何のために何を創るか？」が大変重要であることを痛感させられたのである。生命現象が分子レベルで解き明かされつつある今日、生命科学分野で有機化学を活用し力量を発揮させることのできる環境は十分に整っていると言える。

3-1. 補酵素モデル化合物の研究⁶⁰⁻⁸²⁾ 最初に着手した生物有機化学的研究は酵素反応のモデル化である。酵素反応は多岐にわたるが、その中でも補酵素を必要とする生体反応では、様々な酸化還元反

応、アミノ酸の生合成・代謝反応、糖の新生や分解などなど、生体機能にとって重要な化学反応をアポ酵素+補酵素の連携で緩和な条件下でいとも容易かつ超立体特異的に成し遂げている。取り分け、酸化還元とアミノ酸生合成・代謝反応は、有機合成化学においても大変重要な反応でもあり (Fig. 14)、この生体内反応に関与するニコチンアミド系補酵素 NAD(P)⁺-NAD(P)H とビタミン B₆ 系補酵素 PLP-PMP に興味を抱いた。これらの補酵素は単独では、生体内外を問わず反応の立体特異性はおろか反応そのものほとんど機能せず、アポ酵素の存在が不可欠となっている。

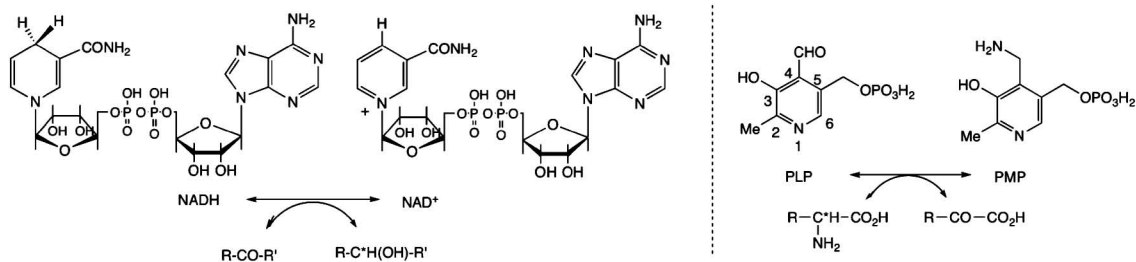
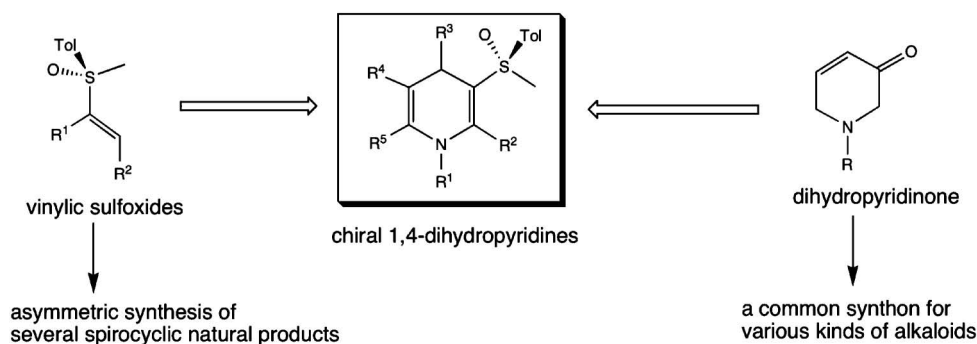
Fig. 14. NADH/NAD⁺ and PLP/PMP

Fig. 15. Molecular Design of NADH Model Compounds

そこで、NADH と PLP のキラルモデル化合物を設計・合成し、ケトンの不斉還元と人工アミノ酸の不斉合成研究を行った。

まず、NADH キラルモデル化合物の研究についてであるが、これまでの既知モデル化合物では 1,4-dihydropyridine 骨格の 3 位は NADH と同じアミド基がそのまま利用されており、キラル環境はアミド窒素上あるいは 1 位窒素上の置換基に組み入れられている場合がほとんどであった。

そこで、1,6-dihydro-3(2H)-pyridinone の研究及び天然スピロ化合物の不斉合成での経験を活用し、3 位にキラルスルフィニル基を置換した 1,4-dihydropyridine を新しい NADH モデル化合物として分子設計した (Fig. 15)。

この NADH キラルモデル化合物 **11** は、3-bromopyridine から容易に合成でき、1 位に各種アルキル基の導入も可能であった (Fig. 16)。化合物 **11** は、2 価金属イオン存在下で活性なケトン物質を不斉還元することができ、高エナンチオ選択的に光学活性アルコールを与えることが判明した。

このように、キラルなスルフィニル基を持つユニークでシンプルな構造の NADH モデル化合物 **11**

が化学的に程々安定であり、しかも活性ケトンを非常に高い光学収率で還元する機能を有していることは、偶然の産物ではない。すなわち、アミド基とスルフィニル基がほぼ同等の電子求引性であるため、ジヒドロピリジン構造の程よい安定性と反応性に寄与していることと、反応中心点であるジヒドロピリジンの 4 位が不斉環境に優れたスルフィニル基のイオウ原子と近い位置関係にあるためである。

実際、**11** (R = Bzl) の X 線構造解析、NMR スペクトルの詳細解析、4 位重水素置換体や 2-メチル誘導体を用いた各種実験により、**11** によるケトン還元は、4 位 pro-S の水素が 3 段階機構 (e⁻, H⁺, e⁻) でケトンに si 面から立体選択的に移動して進行することが明らかとなった。この **11** による高立体選択的なケトンの還元反応は、その利用範囲の特定やポリマー固定化による触媒的な利用についても検討している。

また、NADH と類似構造の Hantzsch 型 1,4-dihydropyridine は、nifedipine に代表されるように優れた薬理作用が知られている。そこで、**11** を基にして新しい Hantzsch 型 1,4-dihydropyridine 類 **12** の合成、ケトン還元能の検証及び薬理活性評価に関す

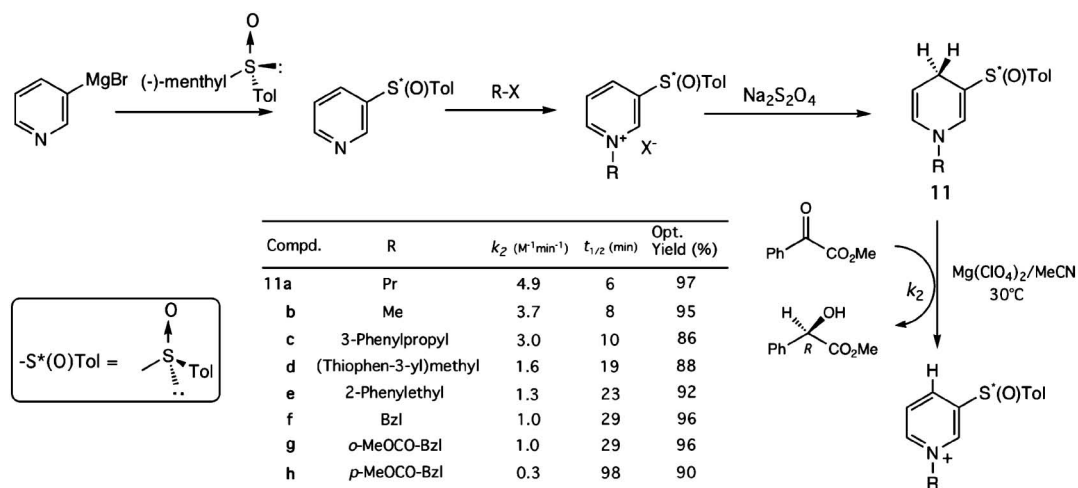


Fig. 16. Synthesis of the NADH Model Compounds 11 and Their Application to Asymmetric Reduction of Methyl Phenylformate

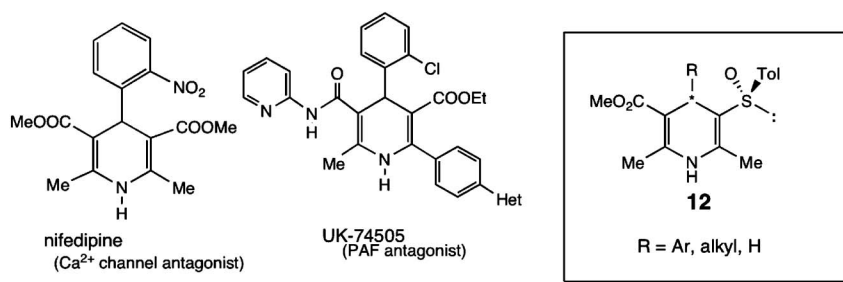


Fig. 17. Hantzsch-type 1,4-Dihydropyridines

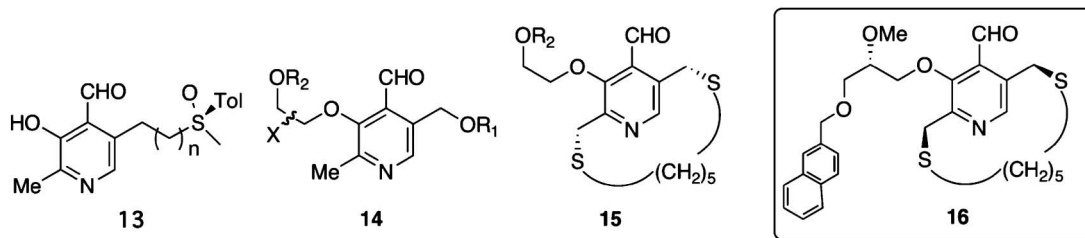


Fig. 18. Pyridoxal Model Compounds

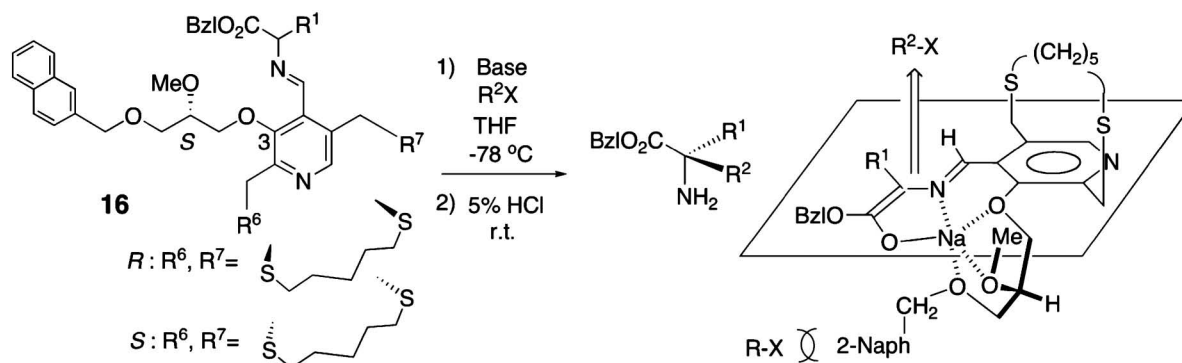
る研究も行った (Fig. 17).

なお、ビタミン B_6 系補酵素 (PLP-PMP) のキラルモデル化合物として、当初はスルフィニル基の利用を試み、化合物 **13** の合成とその機能性について研究したが、さほどの成果には結び付かなかった。そこで、これまでの PLP モデル化では行われていなかった 3 位水酸基の官能化による新展開を図り、化合物 **14** 及び **15** を PLP キラルモデル化合物とした研究に移った (Fig. 18).

最終的には、**14** と **15** のハイブリット型の化合物

16 が高エナンチオ選択的な α -アミノ酸の α -アルキル化で光学活性 α,α -ジアルキル- α -アミノ酸の合成に大変有用であることが分かった (Fig. 19).

上記のアミノ酸のアルキル化反応は、PLP-PMP のアミノ基転移反応を模倣したものであるが、この補酵素系はそれ以外にも生体内での様々な化学反応に関与している。その 1 つのアルキル基転移反応への応用についても検討した (Fig. 20)。その結果、PLP モデル化合物とセリンとで容易に生成するイミン体はチオール類と速やかに反応して、アミノ酸



Run	Reaction conditions			Amino ester			
	ansa	R ¹	R ² X	Base	Isolated yield ^a / %	e.e. / %	Config.
1	S	Me	benzyl bromide	NaH	40	8	R
2	R	Me	benzyl bromide	NaH	41	96	R
3	R	Me	benzyl bromide	LDA	32	55	R
4	R	Me	p-nitrobenzyl bromide	NaH	52	84	R
5	R	Me	ethyl bromoacetate	NaH	70	30	R
6	R	Me	allyl bromide	NaH	39	82	R
7	R	Me	g-methylcrotyl bromide	NaH	40	90	R
8	R	Bzl	methyl iodide	NaH	33	90	S

^aPLP model compound *S*-**16** and *R*-**16** was recovered in 66-86% yields.

Fig. 19. Enantioselective α -Alkylation of α -Amino Acids by Using **16**

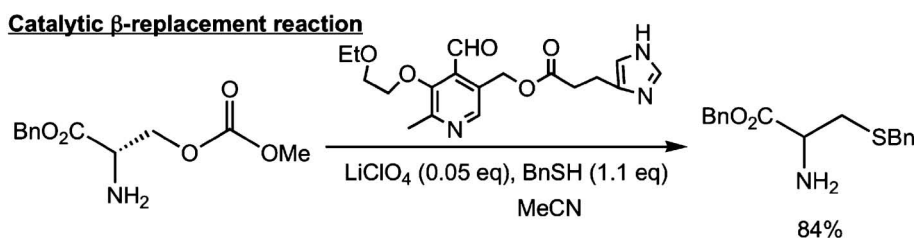


Fig. 20. Catalytic β -Replacement Reaction

の β -水酸基をチオエーテルに変換する効率的な手法の開発につながった。

このように、新しいタイプの補酵素モデル化合物を開発して有機合成化学として重要な不斉還元や不斉アルキル化などへ展開してきたが、本研究を通じて、既知の概念にあまりとらわれ過ぎないことが大切であることを学んだ。

3-2. 化学発光・蛍光性化合物の開発研究⁸³⁻⁸⁶⁾

ホタルを始め生命体のいくつかの種は、ルシフェラーゼとその基質ルシフェリンとで生物発光する能力を有しており、高い発光効率につながるその分子

メカニズムは有機化学者にとって大変魅力的で驚嘆にも値する (Fig. 21). 多くの場合、この酵素反応には化学的に不安定な 1,2-dioxetane 中間体が重要な役割をしているが、酵素なしに試験管中でこの反応を模倣することには困難を伴う。しかし、生物発光の量子収率は大変高く、理論的な検出感度はラジオアイソトープよりも高い。生命科学の発展に伴い、より安全で高感度な標識物質の創製が望まれ、生物発光のメカニズムを利用した化学発光物質の開発が注目されている中、「民間等との共同研究」制度を利用して新規化学発光物質を開発する研究機会

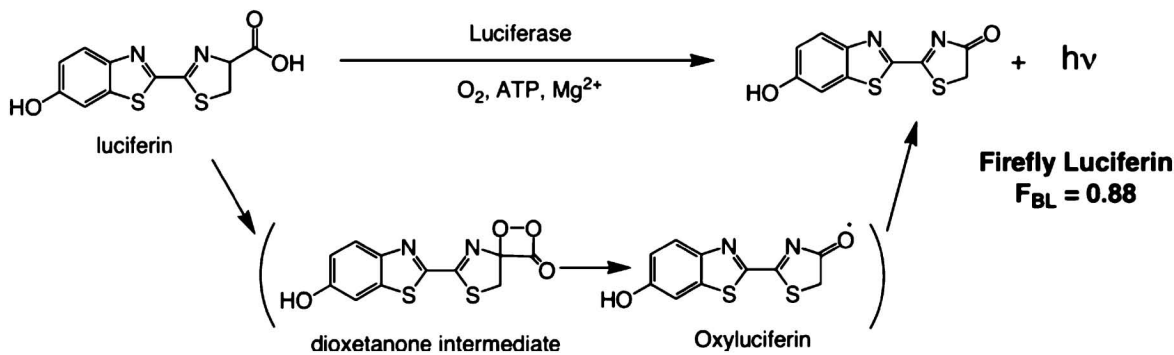


Fig. 21. Firefly's Luciferin-Luciferase Reaction

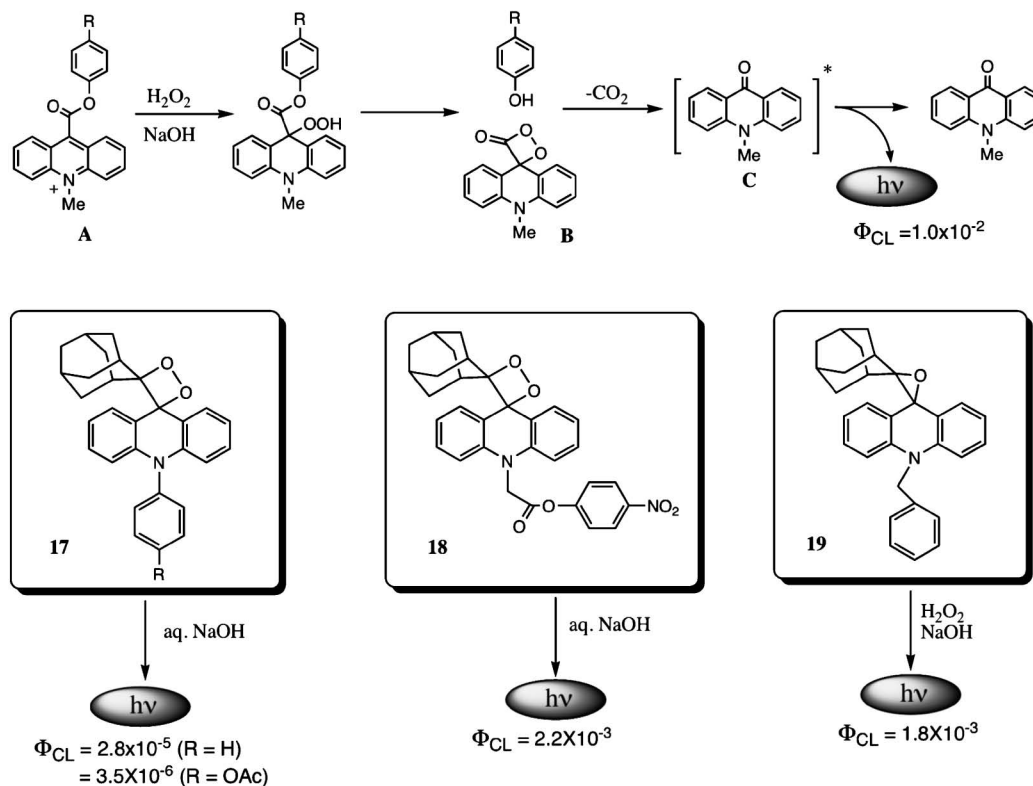


Fig. 22. Chemiluminescent Property of Acridine-dioxetane Compounds

を得た。

生体高分子，特にタンパク質の標識に実用化されている化学発光物質の1つにアクリジニウムエステル化合物 **A** があり，酸化すると中間体 **B** を経て励起状態の **C** が生成し，速やかに基底状態に変化する際に強い蛍光を発する。中間体 **B** はジオキセタン部分が不安定過ぎて単離できないが，この部分を安定化する工夫を施すことによって，ジオキセタン骨格を持つ新しい化学発光性化合物の創製に結び付けるものと考えた。まず，化合物 **17** を，続いて **18**

を開発し，その物性を詳細に検討した。その結果，**18** は発光量子収率 (F_{CL}) と化学的安定性（取り扱い易さ）の両面で最も優れた特性を持っていることが分かった。また，より化学的に安定なオキシラン類縁体 **19** もアルカリ性過酸化水素処理することで，**18** と同程度に発光することも見出した (Fig. 22)。しかし，**18** や **19** の F_{CL} はアクリジニウムエステル体 **A** の F_{CL} を超えるまでには至らなかったため，実用化に結び付けることにはならなかった。

一般に，蛍光標識は発光標識よりも感度が低いと

されている。それは、蛍光標識では励起に光エネルギーを用い、多くの場合に励起光と蛍光との波長の差（ストークスシフト）が小さいため結果として有効感度が低下する。したがって、ストークスシフトを十分に大きくできれば検出感度を高くすることができる。ホタルルシフェリンの発光（蛍光）本体であるオキシルシフェリンの化学修飾化研究中、偶然、大きなストークスを持った新規蛍光物質 **20** を見出すことができた (Fig. 23)。水中でのストークスシフト値は 150 nm 以上で、しかも蛍光量子収率も良好であり、今後は生体高分子や各種機能性分子プローブの高感度蛍光標識としての活用が大いに期待できる化合物である。

3-3. 多用途適合型人工核酸の開発⁸⁷⁻¹³⁶ 及びその関連研究¹³⁷⁻¹⁴⁷ 薬化学講座を主宰した当初は核酸化学にはあまり興味を持っていなかった。その訳は核酸を対象とした化学的研究に合成化学的技術の十分な応用展開が見通せていなかったからである。しかし、1990 年の Chemical Reviews に掲載された Uhlmann と Peyman の総説 “Antisense Oligonucleotides: A New Therapeutic Principles” に出会い、これまでの有機合成化学の知識や技術を核酸の分野に応用できる絶好の機会であると感じるに至った。

アンチセンスオリゴヌクレオチドは対象タンパク質をコードしているメッセンジャー RNA の部分配列領域と相補構造を持つ 15-20 mer のオリゴヌクレ

オチドで、そのメッセンジャー RNA と結合（ハイブリダイズ）することでタンパク質への翻訳を阻害することができ、そのタンパク質が病原となっている病気の治療が可能となる。

この論理的で画期的な治療手法には、越えなければならないいくつものハードルがあるが、最も重要なポイントは材料としての“オリゴヌクレオチド”の材質である。天然のオリゴヌクレオチド（核酸）は生体内で速やかに分解するため要を足さない。したがって、人工核酸の開発がこの手法の実用化に欠かせないので、世界で実用的な人工核酸の開発に向けた熾烈な競争が繰り広げられ、これまでに膨大な数の人工核酸が合成され、今なおその競争は続けられている。

最初に設計開発した人工核酸は、天然核酸のリボース環を鎖状構造としリン酸ジエステル結合をウレタン結合としたダイマーユニット **21** であった (Fig. 24)。光学活性グリシドールを出発原料として本化合物 **21** は比較的容易に合成することができた。天然非天然を問わずオリゴヌクレオチドの合成は一般的にはアミダイト法を用いて DNA 自動合成機上で行う (Fig. 31 を参照)。そこで、この人工核酸 **21** をアミダイト体に誘導して天然オリゴヌクレオチド中に組み入れた修飾オリゴヌクレオチドを合成し、相補構造の RNA や DNA との結合力（二重鎖の熱安定性）を UV 測定装置で調べたが、残念ながら期待したほどの「強い結合力」は得られなかつ

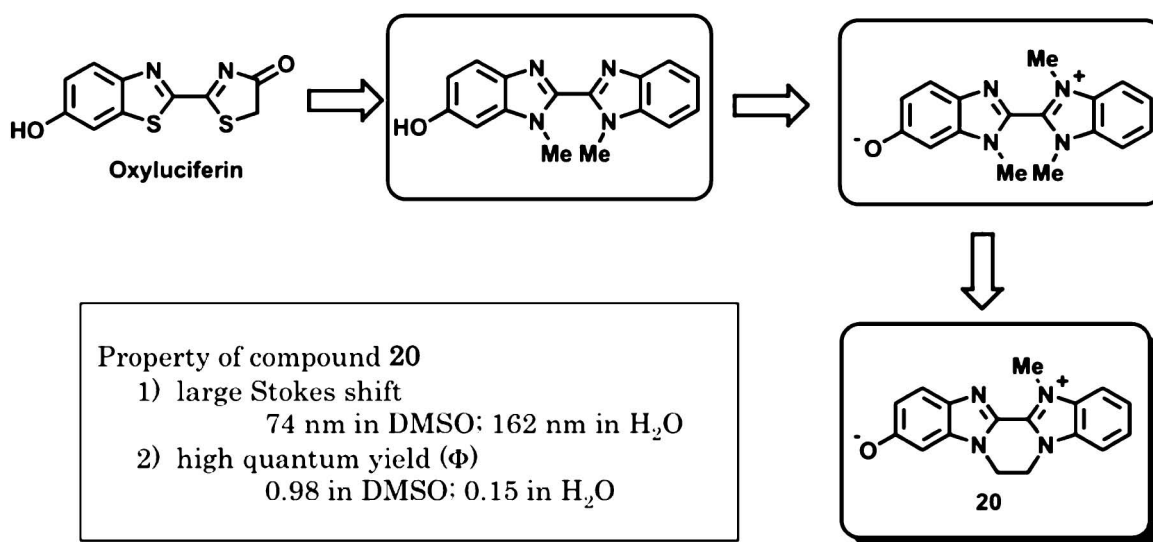


Fig. 23. Bis(benzimidazole) Analog **20**

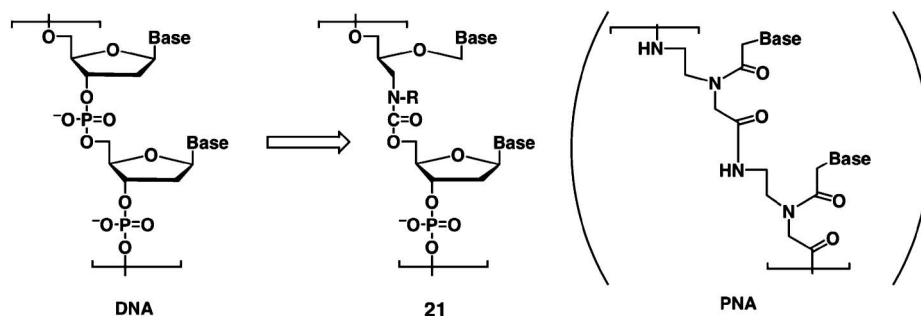
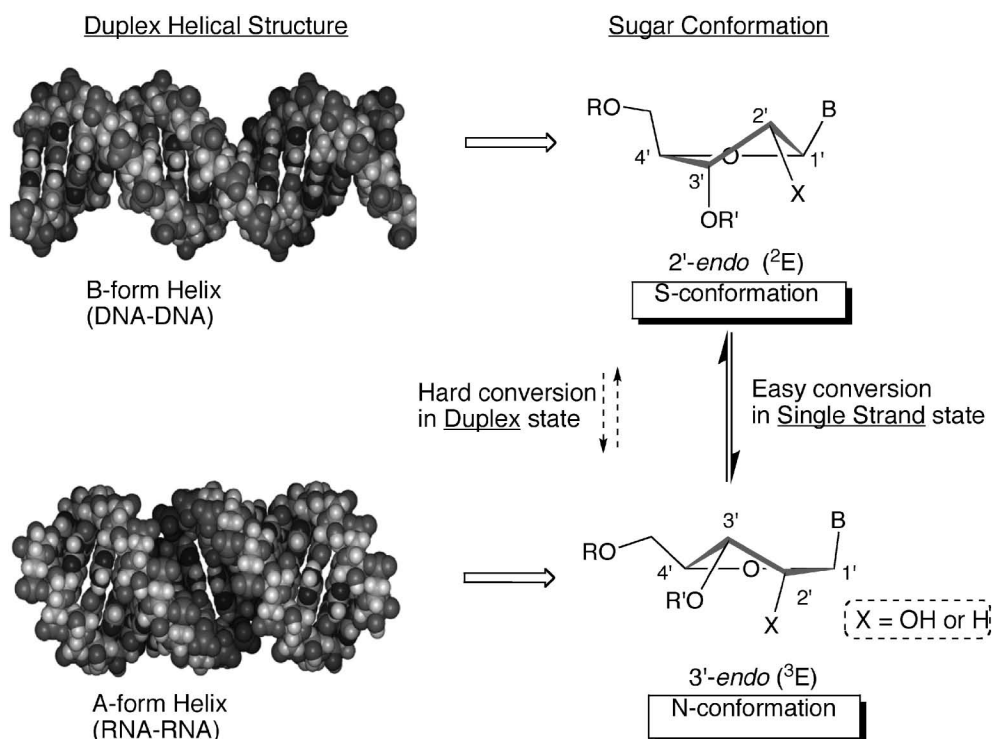
Fig. 24. A Seco-DNA Analog **21**

Fig. 25. Conformation of the Sugar Moiety in DNA and RNA

た。リボース環を鎖状構造にすることでオリゴヌクレオチド全体のコンホメーションが一層不安定となり標的の RNA や DNA への結合力が低下したものと考察できる。類似構造の peptide nucleic acid (PNA) は RNA や DNA への結合力が増強しているのとは対象的であった。ウレタン構造を前後逆にしたたり、窒素上にメチル基を入れたりもしたが、いずれの場合も好結果には結び付かなかった。

そこで、新たな人工核酸を天然核酸の糖部立体構造特性に着目して分子設計することとした。天然核酸の核酸糖部のコンホメーションは、一本鎖状態では、2'-endo 型 (S 型) と 3'-endo 型 (N 型) との

平衡状態で存在する。このコンホメーションの揺らぎは、一本鎖核酸の 2 分子が相補鎖間で二重らせんを形成すると極端に制約されて「ある形」に強く束縛される。DNA-DNA 二重鎖では B 型の、RNA-RNA では A 型のらせん構造となり、その時の糖部リボース環のコンホメーションはそれぞれ S 型、N 型に固定される (Fig. 25)。このことは、RNA との強い結合には N 型の核酸素材が有利に働き、DNA との結合には S 型の素材が効果的であることを示唆している。

しかし、不思議なことにその仮説を実証する素材の開発が不十分であった。すなわち、核酸糖部のコ

ンホメーションを厳密に N 型や S 型に固定化した人工核酸は、いまだ開発されていなかったのである。

そこで、糖部コンホメーションを N 型や S 型に固定化した新しい人工核酸の開発を試みることにした。特に N 型に強いこだわりを抱いた。それは、分子標的として一本鎖 RNA (メッセンジャー RNA など) が一本鎖 DNA よりも重要であるし、N 型核酸は一本鎖 RNA のみならず二重鎖 DNA (遺伝子 DNA など) とともに強く結合することが期待できたからである。核酸糖部を N 型に固定化した新しい人工核酸として Fig. 26 に示したビスクロ環構造体 **22** を分子設計したが、学生時代の合成対象であった lycopodine や securitinine がともにビスクロ環構造であったことが幸いしているようである。

この新しい人工核酸 **22** モノマーは、糖部分がビスクロ [2.2.1] ヘプタン骨格で環の歪みがあって安定に合成できるのか疑問視もあったが、幸いにも下

記の経路によりウリジンから合成することができた (Fig. 27)。このルートにおける鍵反応は化合物 **23** から **22-U** への変換であるが、**23** を直接塩基処理すると 3'-OH での環化反応が優先して **24-U** しか得られない。そこで、**23** のベンジリデン保護体に対する位置選択的な C-O 結合の開裂方法を見い出して 2'-OH 基のみをフリーとして、ようやく **22-U** を効率良く合成することができた。

予想通り **22-U** の糖部が厳密に N 型 (3'-endo) のコンホメーションで固定されていることは、化学構造特性から疑う余地はないが、X 線結晶構造解析や NMR スペクトルからも証明できている (Fig. 28)。**22-U** の核酸塩基部は常法によりウラシル (U) からチミン (T)、シトシン (C)、5-メチルシトシン (^mC) へと変換可能で、ここに各種ピリミジン塩基を持つ糖部が N 型に固定された最初の人工核酸モノマー (**22-U, T, C, ^mC**) の開発をなし遂げる

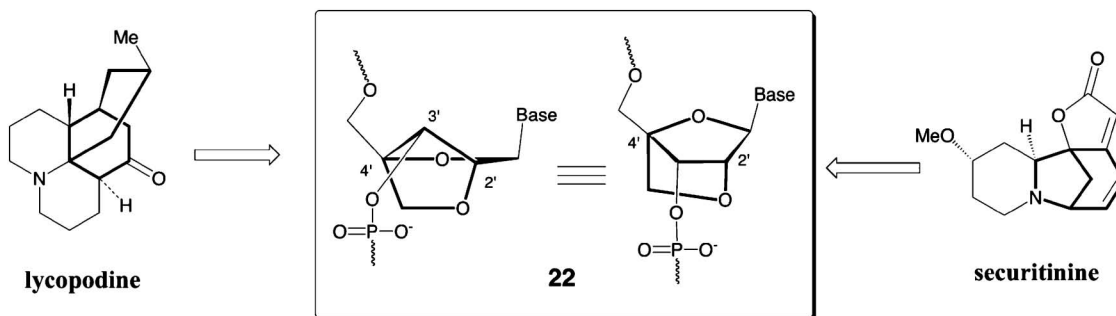
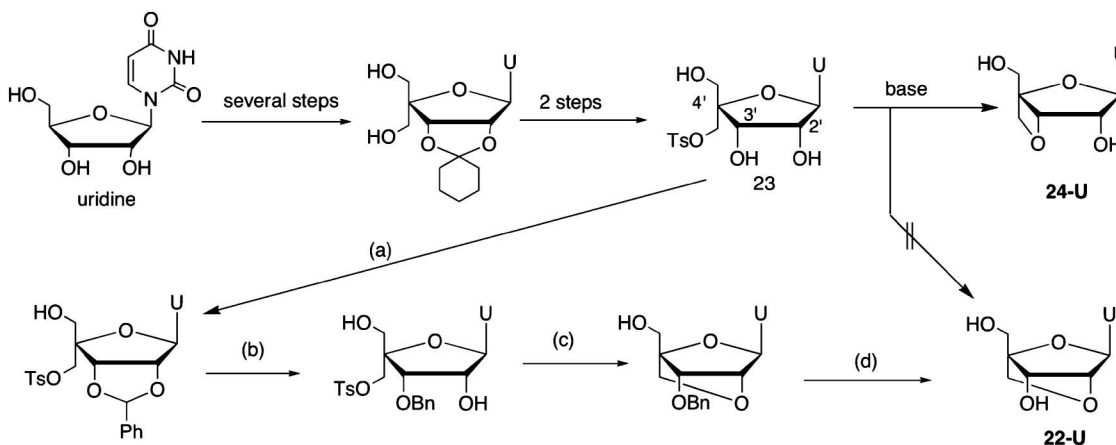


Fig. 26. Molecular Design of Novel DNA Analog **22**



Reagents and Conditions: (a) PhCHO, ZnCl₂, r.t., 80%; (b) NaBH₃CN, TiCl₄, MeCN, r.t., 75%; (c) NaHMDS (3.3 eq.), THF, r.t., 61%; (d) H₂ (1 atm), 10%Pd-C, MeOH, r.t., quant.

Fig. 27. Synthesis of 2',4'-BNA-U (**22-U**)

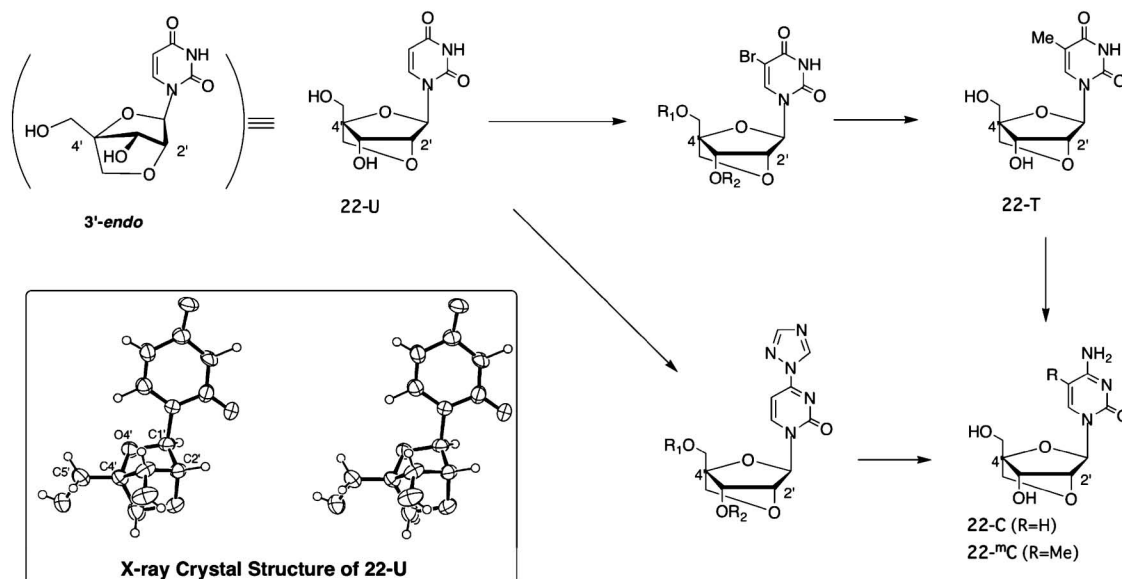
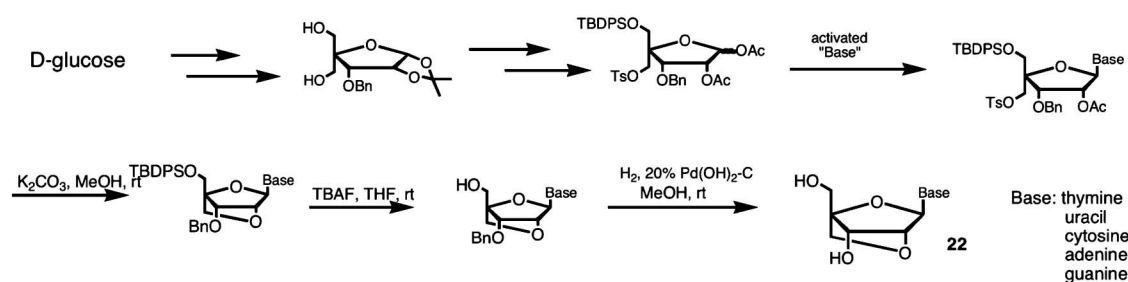
Fig. 28. Synthesis of 2',4'-BNA-T, C, and -^mC

Fig. 29. Synthetic Route for 2',4'-BNA Starting from D-Glucose

ことができた。

さらに、D-グルコースを出発原料とすることで、すべての天然核酸塩基を持つ **22** の合成ルートも確立できた (Fig. 29)。

このようにして開発した最初の N 型人工核酸 **22** は、その架橋構造的特徴から 2',4'-bridged nucleic acid (2',4'-BNA) と命名した。その後、幾種類もの BNA を開発することができた。D-グルコースから合成した代表的な BNA の構造を合成ルート概要とともに Fig. 30 に示した。また、チミジンなどの天然ヌクレオシドから新規な BNA 類の合成も達成している。

これら各種 BNA モノマーは、それぞれアミダイト体に誘導後に、天然ヌクレオシドのアミダイトとの組み合わせにより DNA 自動合成機上で BNA 修飾型オリゴヌクレオチドを合成する。一部の例外を

除き、天然 DNA (RNA) オリゴヌクレオチド中の任意の位置に任意の数だけ BNA ユニットを容易に導入できた (Fig. 31)。使用目的などに合わせて、BNA の種類、修飾の数や位置を選ぶことが可能である。

BNA 修飾オリゴヌクレオチド (以下、「BNA オリゴ」) は、Fig. 32 に示した通り、これまでの人工核酸と比べて非常に優れた特性を持っていることが判明した。特に、N 型 BNA は、一本鎖 RNA に対して、その塩基配列を十分に識別しながら強固に結合 (ハイブリダイズ) する能力を有しており、核酸分解酵素への抵抗力にも秀でていることが分かった。

唯一アンチセンス医薬品として使用されている S-オリゴと比べ、N 型 BNA オリゴがいかに強く RNA と結合する能力に優れているかが分かる。これら N 型 BNA オリゴのアンチセンス医薬品とし

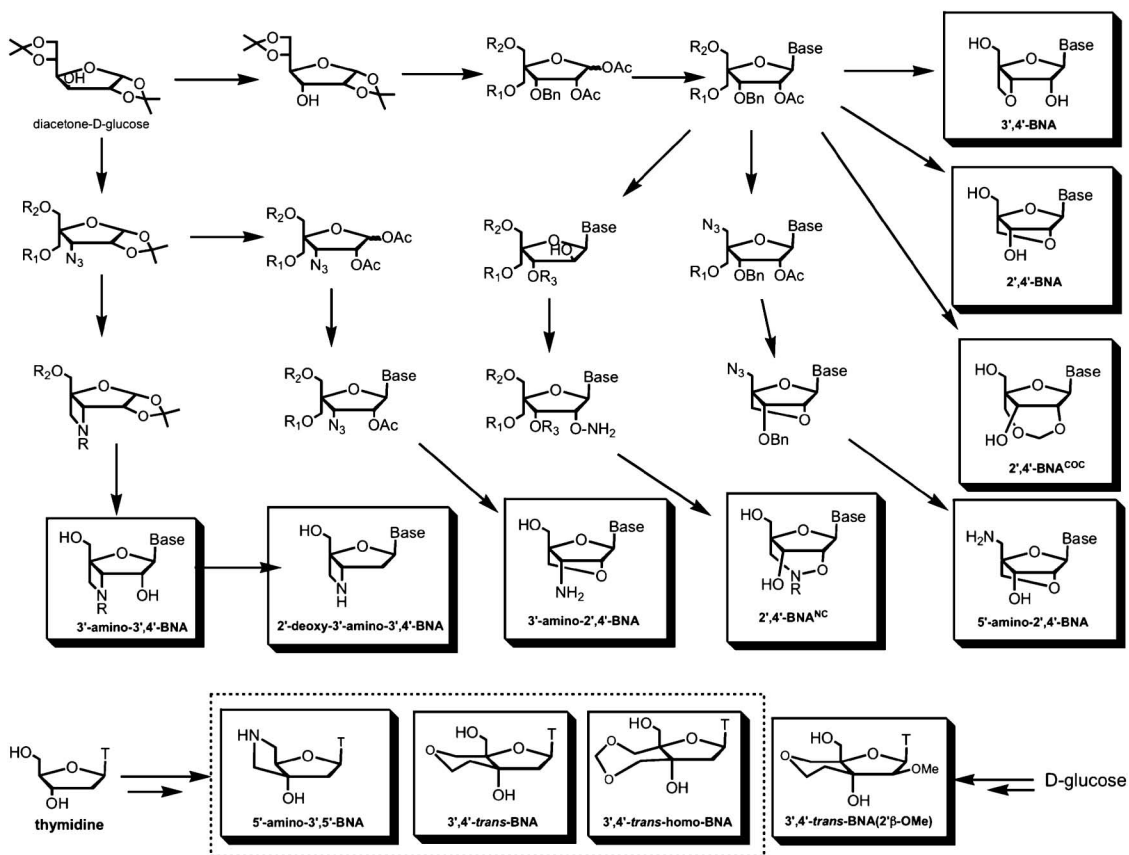


Fig. 30. Various BNAs

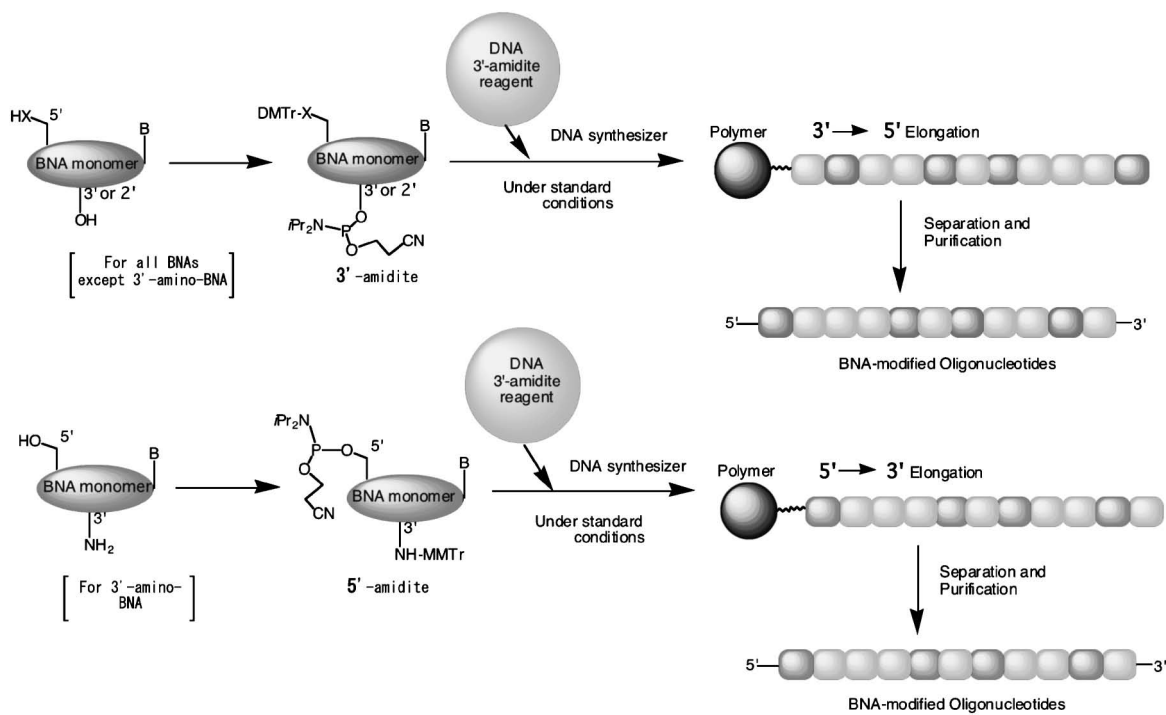


Fig. 31. Preparation of BNA Modified Oligonucleotide

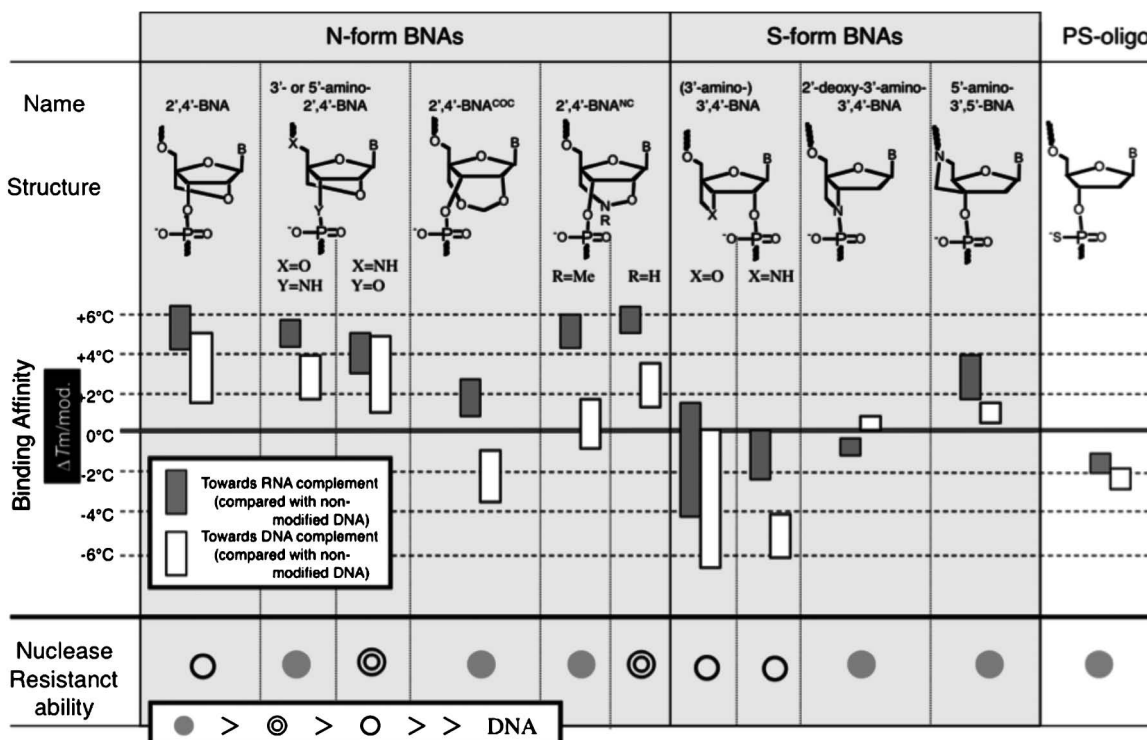


Fig. 32. Properties of Various BNA-modified Oligonucleotides

ての有用性評価については、われわれのみならず、外国において種々検討が進められており、特に第一世代 BNA である 2',4'-BNA は商品名「LNA」として流通している。また、外国企業で *bcl-2* 遺伝子を標的とした慢性骨髄性白血病のアンチセンス医薬品への実用化に向け臨床試験中 (phase 2) である。

2',4'-BNA 及び他の N 型 BNA オリゴのアンチセンス分子としての有用性評価について検討したわれわれの研究の一端を簡単に紹介しておこう。標的は、アポトーシス阻害因子の遺伝子である *bcl-xL* で、この遺伝子の発現を抑制することでアポトーシスを誘導し、癌治療に結び付けられると考えられている。その遺伝子のメッセンジャー RNA の開始コドンを含む 18 ヌクレオチド部分を標的とし、天然オリゴ、S-オリゴ、2',4'-BNA オリゴ (BNA)、2',4'-BNA^{COC} オリゴ (COC) 及び 2',4'-BNA^{NC} オリゴ (NC) のアンチセンス並びにスクランブル配列オリゴを用いて機能評価した。各種 BNA オリゴ中の BNA 修飾個数はそれぞれ 4, 6, 9 の 3 種類とし、Fig. 33 にその修飾位置を C, T で表示している。これらのオリゴヌクレオチドによる *bcl-xL* アンチセンス機能評価は Fig. 34 のプロトコルに従って行っ

た。

その結果、Fig. 35 に示したように、いずれの BNA アンチセンスオリゴも優れたアンチセンス効果を示した。2',4'-BNA^{NC} はその効果が特に顕著であり、様々な遺伝子を標的としたアンチセンス医薬品の基盤材料としての高い有用性を示唆する結果となった。なお、Fig. 35 ではメッセンジャー RNA レベルでの IC₅₀ 及び経日持続効果の評価のみを示したが、タンパク質レベル及びアポトーシス発現レベルでも同様な結果が得られている。また、スクランブル配列のいずれのオリゴヌクレオチドでも遺伝子発現制御を示さなかった。

このように、一連の N 型 BNA オリゴはアンチセンスオリゴヌクレオチドとしてとても有効であることが判明したが、遺伝子を対象とした他の様々なゲノムテクノロジー (Fig. 36) にも BNA の有用性が期待でき、実際、アンチジーン法、RNA 干渉法、デコイ法や遺伝子相同組換え法などにも有用性が高いことを確かめている。

中でも、アンチジーン法への応用について種々検討を重ねた。二重鎖のゲノム DNA を直接標的としてオリゴヌクレオチドにより三重鎖形成することで

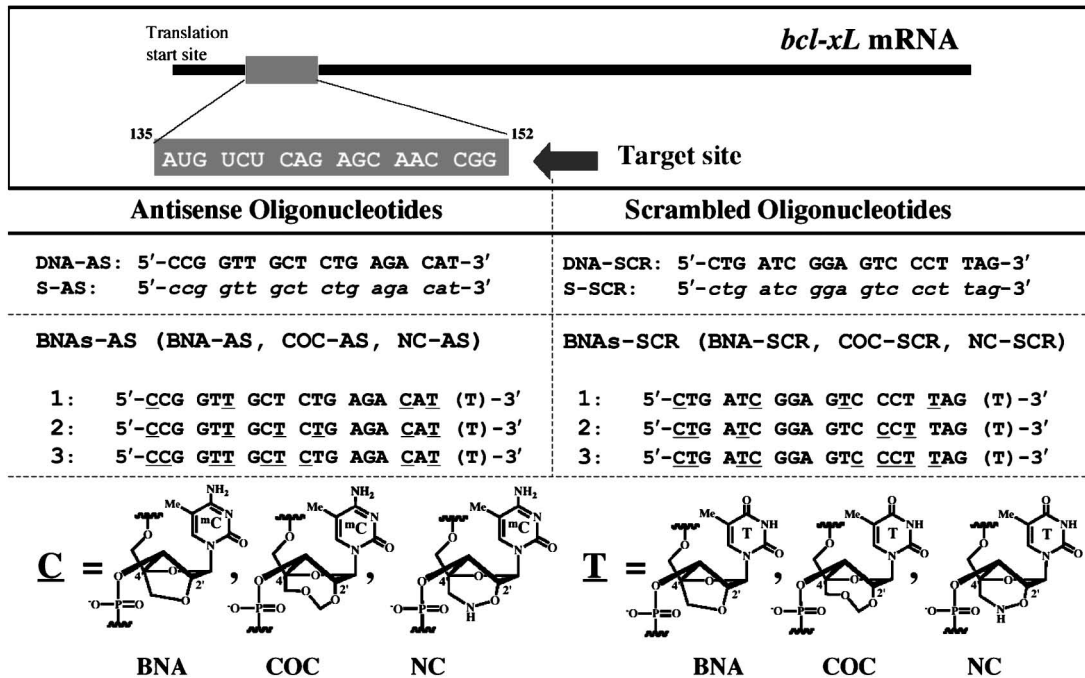


Fig. 33. Antisense BNA-modified Oligonucleotides Targeting *Bcl-xL* mRNA

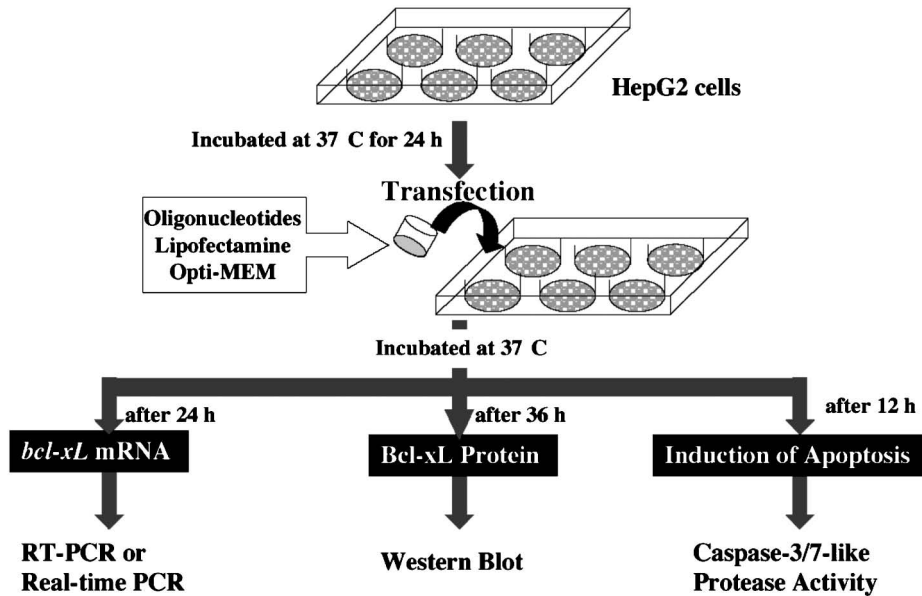


Fig. 34. Protocol for Assay of BNA-modified Antisense Oligonucleotides

メッセンジャー RNA への転写を制御するアンチセンス法は、効率的な遺伝子発現制御法として大変魅力的な医薬品開発手法であるが、1) 三重鎖結合力が弱い、2) 標的の配列がホモプリン領域に限定される、などの問題から実用化が困難視されていた。幸いにも、N型 BNA は課題 1) を解決できる

強い三重鎖形成能力が備わっており、実用化に向けた残る課題 2) の克服を目指した。すなわち、二重鎖 DNA の G-C 対の G, A-T 対の A は BNA^{mC}, BNA-T がそれぞれを識別して強く結合できるが、C-G 対の C と T-A 対の T を認識して結合できる天然や人工の核酸がなかったのでその開発を試みた

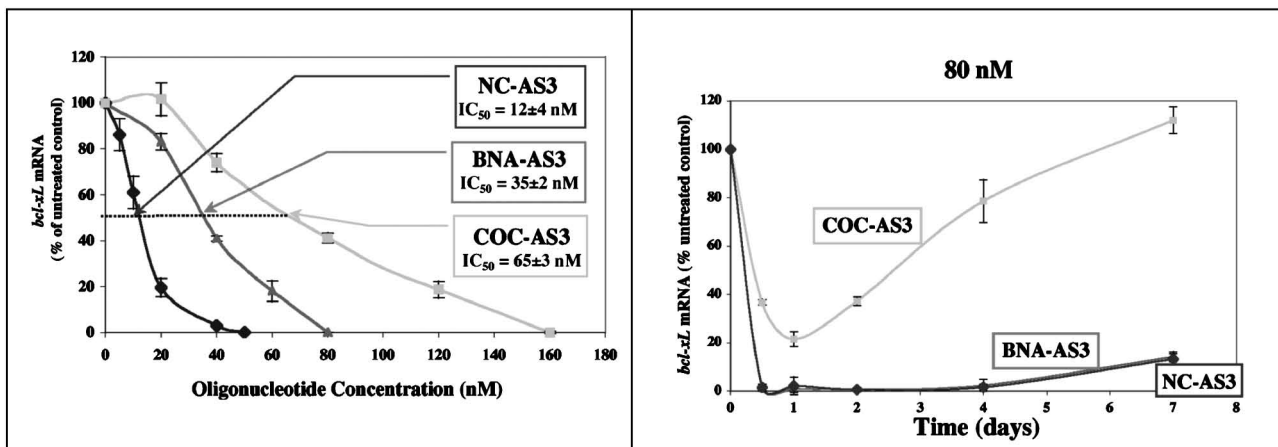


Fig. 35. Antisense Effects of Various BNA-modified Oligonucleotides

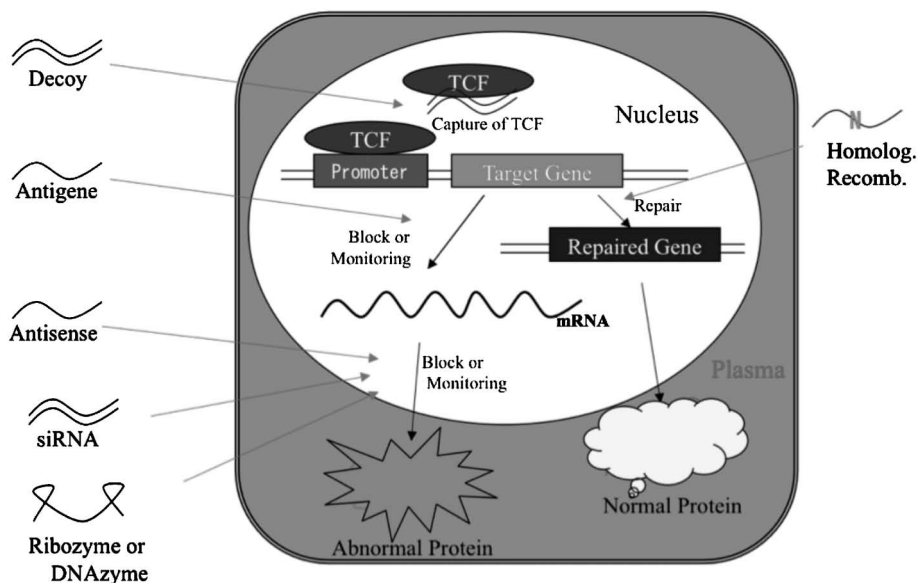


Fig. 36. Biotechnologies Targeting Genomic DNA and mRNA

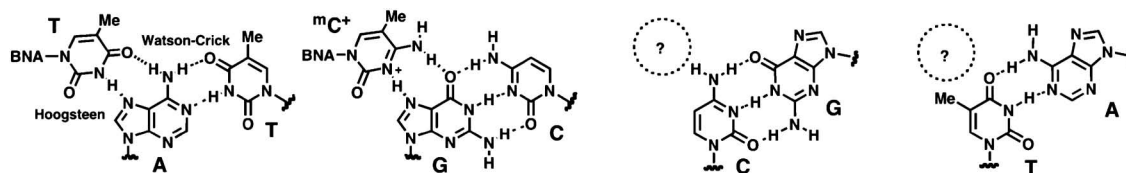


Fig. 37. Fundamental Base Pairing for Triplex Formation

(Fig. 37).

2',4'-BNA を母核として多種多様な非天然核酸塩基との組み合わせ化合物を合成して検証した結果、C-G 対の C の認識には 2-ピリドン塩基とした **BNA-Pⁿ** が、T-A 対の T にはインドールを含む

BNA-Iⁿ が適していることが明らかとなった。これにより、二重鎖 DNA のいかなる配列にも対応して三重鎖を形成できる材料が揃ったことになる (Fig. 38)。実際、プリンとピリジンが混在する DNA 二重鎖領域を標的としたアンチジーン効果を評価し

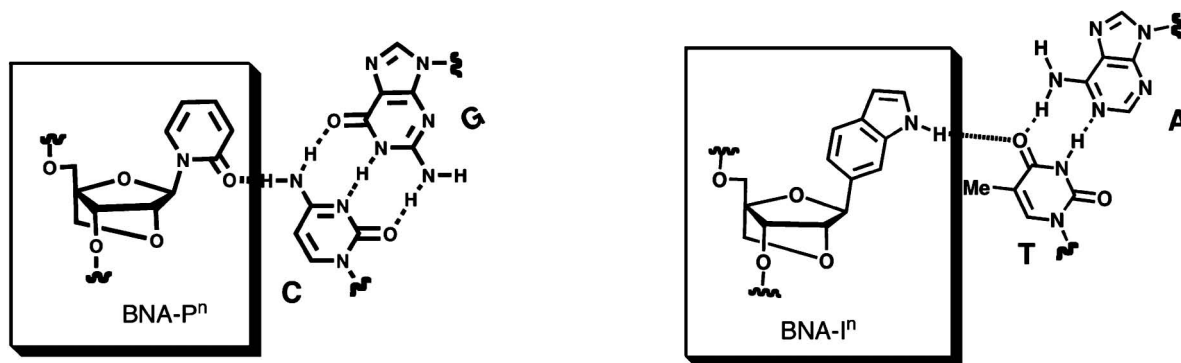
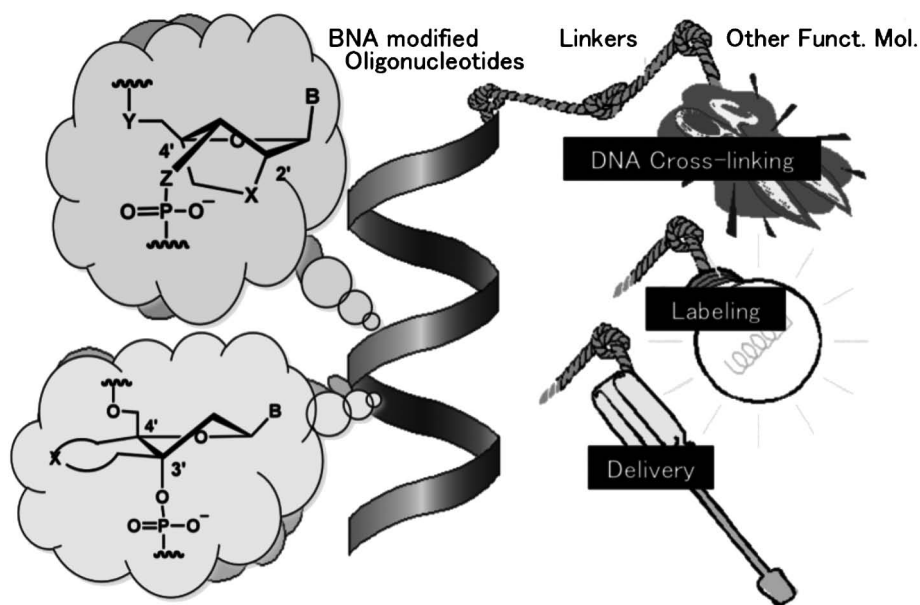
Fig. 38. BNA-Pⁿ and BNA-Iⁿ

Fig. 39. BNA-modified Oligonucleotides Conjugated with Other Compounds

た結果、これら BNA が有効に機能することを検証している。

このように、アンチジーン法の実用化の障害となっていた課題の克服に向けた研究により、ゲノム創薬の一手法としてアンチジーン法が決して夢物語ではなく現実のものになりつつあると確信している。

人工核酸を用いるゲノムテクノロジーでは、医薬品の創製が唯一の目的ではなく、遺伝子の発現状況や配列情報をモニターすることで病気の診断や予防にも資することができるし、遺伝子の機能解析の道具としての活用も望める。実際、2',4'-BNA (LNA) は遺伝子増幅技術 PCR のプライマーとして威力を発揮し、ある診断薬メーカーで遺伝子診断キットに活用されている。しかし、人工核酸 BNA の特性を

十分に引き出して多様な応用に資するには、人工核酸単独では十分に機能を発揮することができない場合が多々ある。それゆえ、別機能を持つ化合物との協調効果が求められる。例えば、いかに BNA が優れた生体機能特性を持っていても細胞内や核内に到達しなければ役に立たないし、生体内動態を調べるためには「標識化」が必要となる。そのため、最終的には人工核酸 BNA と別機能性化合物とのコンジュゲート（複合体）を作成し、BNA の特性を高め、汎用性を広げるための基礎的研究も同時に進めている (Fig. 39)。

標識分子の開発としては、既に述べたようにホタルルシフェリンをベースとした新しい蛍光剤ジベンズイミダゾール系化合物 **20** があり、細胞内移行性

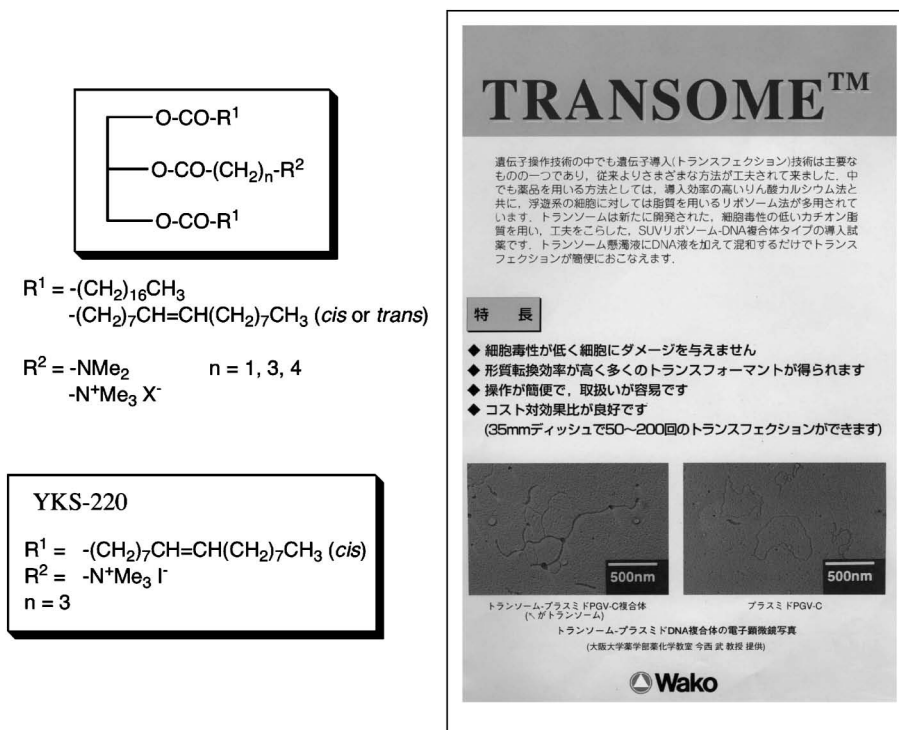


Fig. 40. A Novel Cationic Lipid and Its Application to Gene Transfection

分子の候補素材となり得る人工アミノ酸の合成研究も先に紹介した。その一方で、核酸類を細胞内へ安全に導入するための別の機能性素材として、新規カチオン性リポソームの開発研究も行った。その結果、対称構造のカチオン性トリグリセリド **YKS-220** を開発しリポソーム化した分子複合体は、プラスミド核酸を種々の培養細胞に効率良く導入することができることを見出した。¹³⁷⁻¹⁴⁰⁾ この物質は「Transome」として試薬化することにも成功した (Fig. 40)。残念ながら、この物質は小さな核酸分子のオリゴヌクレオチドに対する細胞内導入の有効性を見出すまでには至っていない。

また、核酸分子切断ユニットとしては抗がん性天然化合物に素材を求めるとし、主として核酸が標的となっている抗がん性天然化合物類の合成を進めた。¹⁴¹⁻¹⁴⁷⁾ 天然物化合物の合成を取って行った別の理由は、有機合成化学の幅広い知識と技術能力を高め維持することにあった。その結果、fostriecin, leustroducsin B 及び spiroxine C の全合成を達成することに成功した。さらに、azinomycin B の機能前駆体としてピペリジン誘導体を想定してその重要中間体の合成にも成功している (Fig. 41)。今後

は、優れた抗がん剤の創製に結び付くことを期待して、これらの天然物類の合成研究成果を基にしてより構造単純化した人工的な核酸分子切断ユニットを構築し、BNA 人工核酸とのコンジュゲートを合成していければと考えている。

4. おわりに

これまで長きにわたる大学での研究活動の主なものについて、その折々でのいろいろな思い出に浸りながら綴ってきたが、大学院生・教務職員・助手・助教授時代には大勢の諸先生や諸先輩から暖かい指導を受け色々なことを教え授けられ、後輩・学生から実験研究の協力支援あってこそこの今日であることを思い知らされている。諸先生並びに当時の学生であった皆様に厚く御礼を申し上げる次第です。

大阪大学薬学部薬化学講座(現、薬学研究科生物有機化学分野)の教授になって18年あまりが過ぎた。改めて振り返れば、その道のりは決して平淡であった訳ではなく、就任当初は研究する器具や装置類に窮し研究費もままならない厳しい毎日であった。知人友人の厚意で企業から研究機器を譲り受けたり奨学寄付金を頂戴したりし、また、スタッフや学生諸君からの多大なサポートを得ながら必死な思

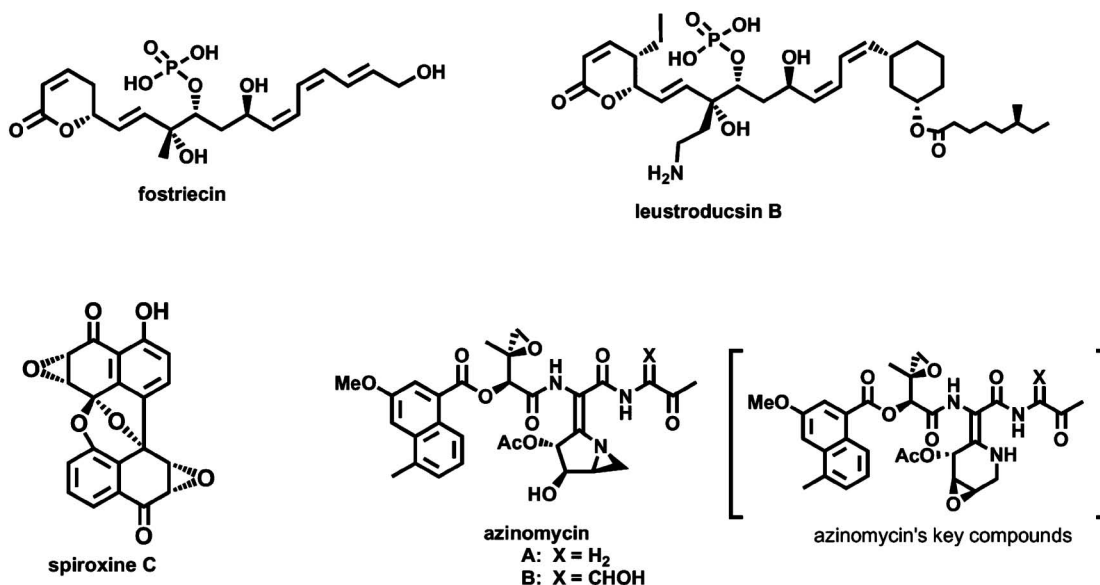


Fig. 41. Fostriecin, Leustroducsin B, Spiroxine C, and Azinomycins

いで逐次研究環境を整え、その後次第に各種の公的資金が獲得できるようになり、研究も漸く軌道に乗るようになった。その矢先の1997年末にはよもやの重い心臓病に倒れ、いまだにその難治性疾患と付き合いながらもやっと今日まで何とか無事に過ごすことができた。関係者の皆様にとだけ感謝、感謝の一念である。

教授時代の主たる研究成果として紹介した内容は、土井健史博士（平成2-4年：助手，平成4-10年：助教授，平成10年-：蛋白情報解析学分野教授），宮下和之博士（平成3-10年：助手，平成10-18年：助教授，平成18年-：大阪大谷大学薬学部教授），小比賀 聡博士（平成4-18年：助手，平成18-20年：助教授/准教授，平成20年-：教授），兒玉哲也博士（平成18年-：助手/助教）に中心となって進めてもらい、また、これらの実験研究を実際に精力的に行ってくれた多くの学生や研究員の努力の賜物であり、関係各位に改めて感謝を申し述べたい。なお、研究を推進する上で資金面のバックアップは大変重要な要素であり、科学研究費・創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業・大阪北部(彩都)地区知的クラスター事業・地域新生コンソーシアム研究開発事業・独創的シーズ展開事業（大学発ベンチャー創出推進）・分子イメージング研究プログラム個別研究開発などの公的資金及び企業・財団などからの奨学寄附金などで大いに支援を頂いた。ここ

に厚く御礼を申し述べたい。

さらに、ここには紹介することができなかったその他の課題研究で大変な苦勞をともにしてくれた研究協力者の皆様にも心から感謝してこの稿を閉じることとする。

REFERENCES

- 1) Horii Z., Imanishi T., Kim S., Ninomiya I., *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 1918-1926 (1968).
- 2) Horii Z., Kim S., Imanishi T., Ninomiya I., *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 2107-2113 (1968).
- 3) Horii Z., Kim S., Imanishi T., Momose T., *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 2235-2241 (1970).
- 4) Horii Z., Imanishi T., Tanaka T., Mori T., Hanaoka M., Iwata C., *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 1768-1773 (1972).
- 5) Horii Z., Imanishi T., Hanaoka M., Iwata C., *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 1774-1777 (1972).
- 6) Horii Z., Imanishi T., Hanaoka M., Iwata C., *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 2269-2271 (1972).
- 7) Imanishi T., Imanishi I., Momose T., *Synth. Commun.*, **8**, 99-102 (1978).
- 8) Imanishi T., Shin H., Hanaoka M., Momose T., *Heterocycles*, **14**, 1111-1114 (1980).
- 9) Imanishi T., Shin H., Yagi N., Hanaoka M., *Tetrahedron Lett.*, **21**, 3285-3288 (1980).
- 10) Imanishi T., Wada Y., Inoue M., Hanaoka M., *Heterocycles*, **16**, 2133-2136 (1981).

- 11) Imanishi T., Yagi N., Shin H., Hanaoka M., *Tetrahedron Lett.*, **22**, 4001–4004 (1981).
- 12) Imanishi T., Nakai A., Yagi N., Hanaoka M., *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 901–903 (1981).
- 13) Imanishi T., Yagi N., Hanaoka M., *Tetrahedron Lett.*, **22**, 667–670 (1981).
- 14) Imanishi T., Shin H., Hanaoka M., Momose T., Imanishi I., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 3617–3623 (1982).
- 15) Imanishi T., Shin H., Hanaoka M., Momose T., Imanishi I., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4037–4045 (1982).
- 16) Imanishi T., Yagi N., Shin H., Hanaoka M., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4052–4059 (1982).
- 17) Imanishi T., Inoue M., Wada Y., Hanaoka M., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 1925–1928 (1982).
- 18) Imanishi T., Miyashita K., Nakai A., Inoue M., Hanaoka M., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 1521–1524 (1982).
- 19) Imanishi T., Hanaoka M., *J. Synth. Org. Chem., Jpn.*, **41**, 403–417 (1983).
- 20) Imanishi T., Shin H., Yagi N., Nakai A., Hanaoka H., *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 1183–1190 (1983).
- 21) Imanishi T., Miyashita K., Nakai A., Inoue M., Hanaoka M., *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 1191–1198 (1983).
- 22) Imanishi T., Inoue M., Wada Y., Hanaoka M., *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 1235–1242 (1983).
- 23) Imanishi T., Yagi N., Hanaoka M., *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 1243–1253 (1983).
- 24) Imanishi T., Inoue M., Wada Y., Hanaoka M., *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 1551–1560 (1983).
- 25) Imanishi T., Inoue M., Hanaoka M., *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 4135–4138 (1983).
- 26) Imanishi T., *Yakugaku Zasshi*, **104**, 549–568 (1984).
- 27) Imanishi T., Yagi N., Hanaoka M., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 4202–4211 (1985).
- 28) Imanishi T., Matsui M., Yamashita M., Iwata C., *Tetrahedron Lett.*, **27**, 3161–3164 (1986).
- 29) Imanishi T., Matsui M., Yamashita M., Iwata C., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1802–1804 (1987).
- 30) Imanishi T., Yamashita M., Matsui M., Ninbari F., Tanaka T., Iwata C., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 1351–1357 (1988).
- 31) Imanishi T., Yamashita M., Ninbari F., Tanaka T., Iwata C., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 1371–1378 (1988).
- 32) Imanishi T., Yamashita M., Matsui M., Tanaka T., Iwata C., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2012–2016 (1988).
- 33) Imanishi T., Yamashita M., Matsui M., Tanaka T., Iwata C., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 3114–3116 (1989).
- 34) Imanishi T., Yamashita M., Hirokawa Y., Tanaka T., Iwata C., *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 1124–1128 (1990).
- 35) Imanishi T., Yamashita M., Matsui M., Tanaka T., Miyashita K., Iwata C., *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 2691–2693 (1992).
- 36) Imanishi T., Hirokawa Y., Yamashita M., Tanaka T., Miyashita K., Iwata C., *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 31–35 (1993).
- 37) Imanishi T., Yamashita M., Hirokawa Y., Tanaka T., Miyashita M., Iwata C., *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 1695–1697 (1993).
- 38) Iwata C., Hattori K., Uchida S., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **25**, 2995–2998 (1984).
- 39) Iwata C., Fujita M., Hattori K., Uchida S., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **26**, 2221–2224 (1985).
- 40) Iwata C., Hattori K., Fujita M., Uchida S., Imanishi T., *Heterocycles*, **23**, 229–229 (1985).
- 41) Iwata C., Fujita M., Moritani Y., Hattori K., Imanishi T., *J. Pharm. Sci.*, **76**, S234–S234 (1987).
- 42) Iwata C., Moritani Y., Sugiyama K., Fujita M., Imanishi T., *J. Pharm. Sci.*, **76**, S235–S235 (1987).
- 43) Iwata C., Fujita M., Moritani Y., Sugiyama K., Hattori K., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **28**, 3131–3134 (1987).
- 44) Iwata C., Fujita M., Moritani Y., Hattori K., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **28**, 3135–3138 (1987).
- 45) Iwata C., Moritani Y., Sugiyama K., Fujita M., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **28**, 2255–2258 (1987).
- 46) Iwata C., Hattori K., Kuroki T., Uchida S., Imanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2909–2917 (1988).
- 47) Iwata C., Fujita M., Kuroki T., Hattori K.,

- Uchida S., Imanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 3257–3263 (1988).
- 48) Iwata C., Moritani Y., Sugiyama K., Izaki H., Kuroki T., Imanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 4785–4793 (1988).
- 49) Iwata C., Takemoto Y., Kubota H., Yamada M., Uchida S., Tanaka T., Imanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 4581–4584 (1988).
- 50) Iwata C., Maezaki N., Kurumada T., Fukuyama H., Sugiyama K., Imanishi T., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1408–1409 (1991).
- 51) Imanishi T., Kurumada T., Maezaki N., Sugiyama K., Iwata C., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1409–1411 (1991).
- 52) Takemoto Y., Ohra T., Yonetoku Y., Imanishi T., Iwata C., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 192–193 (1992).
- 53) Iwata C., Maezaki N., Murakami M., Soejima M., Tanaka T., Imanishi T., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 516–518 (1992).
- 54) Imanishi T., Ohra T., Sugiyama K., Ueda Y., Takemoto Y., Iwata C., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 269–270 (1992).
- 55) Iwata C., Maezaki N., Hattori K., Fujita M., Moritani Y., Takemoto Y., Tanaka T., Imanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 339–345 (1993).
- 56) Iwata C., Maezaki N., Hattori K., Fujita M., Moritani Y., Takemoto Y., Tanaka T., Imanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 946–950 (1993).
- 57) Imanishi T., Iwata C., *Stud. Nat. Prod. Chem.*, **14**, 517–550 (1994).
- 58) Takemoto Y., Ohra T., Sugiyama K., Imanishi T., Iwata C., *Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 571–577 (1995).
- 59) Maezaki N., Murakami M., Soejima M., Tanaka T., Imanishi T., Iwata C., *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 1146–1151 (1996).
- 60) Imanishi T., Hamano Y., Yoshikawa H., Iwata C., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 473–475 (1988).
- 61) Imanishi T., Obika S., Nishimoto M., Shikada K., Miyashita K., Iwata C., *J. Pharm., Dynamics*, **15**, S39–S39 (1992).
- 62) Miyashita K., Miyabe H., Kurozumi C., Imanishi T., *Chem. Lett.*, 487–488 (1995).
- 63) Miyashita K., Nishimoto M., Ishino T., Obika S., Imanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 711–713 (1995).
- 64) Miyashita K., Nishimoto M., Murafuji H., Murakami A., Obika S., In Y., Ishida T., Imanishi T., *Chem. Commun.*, 2535–2536 (1996).
- 65) Miyashita K., Miyabe H., Kurozumi C., Tai K., Imanishi T., *Tetrahedron*, **52**, 12125–12136 (1996).
- 66) Miyashita K., Miyabe H., Tai K., Kurozumi C., Imanishi T., *Chem. Commun.*, 1073–1074 (1996).
- 67) Miyashita K., Nishimoto M., Murafuji H., Obika S., Imanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 457–459 (1996).
- 68) Obika S., Nishiyama T., Tatematsu S., Miyashita K., Imanishi T., *Chem. Lett.*, 853–854 (1996).
- 69) Imanishi T., Obika S., Nishiyama T., Nishimoto M., Hamano Y., Miyashita K., Iwata C., *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 267–272 (1996).
- 70) Obika S., Nishiyama T., Tatematsu S., Miyashita K., Iwata C., Imanishi T., *Tetrahedron*, **53**, 593–602 (1997).
- 71) Obika S., Nishiyama T., Tatematsu S., Miyashita K., Imanishi T., *Tetrahedron*, **53**, 3073–3082 (1997).
- 72) Miyashita K., Nishimoto M., Ishino T., Murafuji H., Obika S., Muraoka O., Imanishi T., *Tetrahedron*, **53**, 4279–4290 (1997).
- 73) Obika S., Nishiyama T., Tatematsu S., Nishimoto M., Miyashita K., Imanishi T., *Heterocycles*, **44**, 537–542 (1997).
- 74) Obika S., Nishiyama T., Tatematsu S., Nishimoto M., Miyashita K., Imanishi T., *Heterocycles*, **49**, 261–267 (1998).
- 75) Miyashita K., Iwaki H., Tai K., Murafuji H., Imanishi T., *Chem. Commun.*, 1987–1988 (1998).
- 76) Miyashita K., Miyabe H., Tai K., Kurozumi C., Iwaki H., Imanishi T., *Tetrahedron*, **55**, 12109–12124 (1999).
- 77) Miyashita K., Miyabe H., Tai K., Iwaki H., Imanishi T., *Tetrahedron*, **56**, 4691–4700 (2000).
- 78) Miyashita K., Iwaki H., Tai K., Murafuji H., Sasaki N., Imanishi T., *Tetrahedron*, **57**, 5773–5780 (2001).
- 79) Miyashita K., Murafuji H., Iwaki H., Yoshio-

- ka E., Imanishi T., *Chem. Commun.*, 1922–1923 (2002).
- 80) Miyashita K., Murafuji H., Iwaki H., Yoshio-ka E., Imanishi T., *Tetrahedron*, **59**, 4867–4872 (2003).
- 81) Miyashita K., Murafuji H., Iwaki H., Yoshio-ka E., Imanishi T., *Tetrahedron*, **59**, 4873–4879 (2003).
- 82) Miyashita K., Imanishi T., *Recent Res. Devel. Org. Chem.*, **8**, 65–83 (2004).
- 83) Imanishi T., Ueda Y., Minagawa M., Hoshino N., Miyashita K., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 3967–3970 (1997).
- 84) Imanishi T., Ueda Y., Tainaka R., Miyashita K., Hoshino N., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 841–844 (1997).
- 85) Imanishi T., Ueda Y., Tainaka R., Kuni N., Minagawa M., Hoshino N., Miyashita K., *Heterocycles*, **47**, 829–838 (1998).
- 86) Miyashita K., Minagawa M., Ueda Y., Tada Y., Hoshino N., Imanishi T., *Tetrahedron*, **57**, 3361–3367 (2001).
- 87) Obika S., Takashima Y., Matsumoto Y., Kuromaru K., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **36**, 8617–8620 (1995).
- 88) Obika S., Takashima Y., Matsumoto Y., Shimoyama A., Koishihara Y., Ohsugi Y., Doi T., Imanishi T., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **6**, 1357–1360 (1996).
- 89) Obika S., Nanbu D., Hari Y., Morio K., In Y., Ishida T., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 8735–8738 (1997).
- 90) Obika S., Morio K., Nanbu D., Imanishi T., *Chem. Commun.*, 1643–1644 (1997).
- 91) Obika S., Nanbu D., Hari Y., Andoh J., Morio K., Doi T., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **39**, 5401–5404 (1998).
- 92) Obika S., Morio K., Hari Y., Imanishi T., *Chem. Commun.*, 2423–2424 (1999).
- 93) Obika S., Andoh J., Sugimoto T., Miyashita K., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **40**, 6465–6468 (1999).
- 94) Obika S., Morio K., Hari Y., Imanishi T., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **9**, 515–518 (1999).
- 95) Imanishi T., Obika S., *J. Synth. Org. Chem. Jpn.*, **57**, 969–980 (1999).
- 96) Obika S., Hari Y., Sugimoto T., Sekiguchi M., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **41**, 8923–8927 (2000).
- 97) Obika S., Hari Y., Morio K., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **41**, 215–219 (2000).
- 98) Obika S., Hari Y., Morio K., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **41**, 221–224 (2000).
- 99) Obika S., Onoda M., Morita K., Andoh J., Koizumi M., Imanishi T., *Chem. Commun.*, 1992–1993 (2001).
- 100) Obika S., Uneda T., Sugimoto T., Nanbu D., Minami T., Doi T., Imanishi T., *Bioorg. Med. Chem.*, **9**, 1001–1011 (2001).
- 101) Obika S., Hari Y., Sekiguchi M., Imanishi T., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40**, 2079–2081 (2001).
- 102) Torigoe H., Obika S., Imanishi T., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **20**, 1235–1238 (2001).
- 103) H. Torigoe, Hari Y., Sekiguchi M., Obika S., Imanishi T., *J. Biol. Chem.*, **276**, 2354–2360 (2001).
- 104) Obika S., Hari Y., Sekiguchi M., Imanishi T., *Chem. Eur. J.*, **8**, 4796–4802 (2002).
- 105) Obika S., Sekiguchi M., Osaki T., Shibata N., Masaki M., Hari Y., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **43**, 4365–4368 (2002).
- 106) Imanishi T., Obika S., *Chem. Commun.*, 1653–1659 (2002).
- 107) Obika S., Morio K., Nanbu D., Hari Y., Itoh H., Imanishi T., *Tetrahedron*, **58**, 3039–3049 (2002).
- 108) Hari Y., Obika S., Sekiguchi M., Imanishi T., *Tetrahedron*, **59**, 5123–5128 (2003).
- 109) Torigoe H., Hari Y., Obika S., Imanishi T., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1097–1099 (2003).
- 110) Torigoe H., Hari Y., Obika S., Imanishi T., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1571–1573 (2003).
- 111) Koizumi M., Morita K., Daigo M., Tsutsumi S., Abe K., Obika S., Imanishi T., *Nucleic Acids Res.*, **31**, 3267–3273 (2003).
- 112) Morita K., Yamate K., Kurakata S. I., Watanabe K., Imanishi T., Koizumi M., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1619–1621 (2003).
- 113) Morita K., Takagi M., Hasegawa C., Kaneko M., Tsutsumi S., Sone J., Ishikawa T., Imanishi T., Koizumi M., *Bioorg. Med. Chem.*, **11**, 2211–2226 (2003).
- 114) Obika S., Nakagawa O., Hiroto A., Hari Y.,

- Imanishi T., *Chem. Commun.*, 2202–2203 (2003).
- 115) Obika S., Andoh J., Onoda M., Nakagawa O., Hiroto A., Sugimoto T., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **44**, 5267–5270 (2003).
- 116) Torigoe H., Katayama T., Obika S., Maruyama A., Imanishi T., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **24**, 635–638 (2005).
- 117) Obika S., Hiroto A., Nakagawa O., Imanishi T., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **24**, 1055–1058 (2005).
- 118) Obika S., Hiroto A., Nakagawa O., Imanishi T., *Chem. Commun.*, 2793–2795 (2005).
- 119) Obika S., Sekiguchi M., Somjing R., Imanishi T., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 1944–1947 (2005).
- 120) Sekiguchi M., Obika S., Somjing R., Imanishi T., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **24**, 1097–1100 (2005).
- 121) Imanishi T., Obika S., “Frontiers in Organic Chemistry,” ed. by Atta-ur-Rahman, Bentham Science Publishers, Hilversum, 2005, pp. 209–228.
- 122) Warashina M., Nawrot B., Obika S., Woniak LA., Kuwabara T., Imanishi T., Stec W. J., Taira K., “Synthetic Nucleic Acids as Inhibitors of Gene Expression,” ed. by Khachigian L. M., CRC Press, Boca Raton, 2005, pp. 95–113.
- 123) Hari Y., Obika S., Inohara H., Ikejiri M., Une D., Imanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **53**, 843–846 (2005).
- 124) Hari Y., Obika S., Ohnishi R., Eguchi K., Osaki T., Ohishi H., Imanishi T., *Bioorg. Med. Chem.*, **14**, 1029–1038 (2006).
- 125) Morita K., Yamate K., Kurakata S., Abe K., Watanabe K., Koizumi M., Imanishi T., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **25**, 503–521 (2006).
- 126) Sekiguchi M., Obika S., Harada Y., Osaki T., Somjing R., Mitsuoka Y., Shibata N., Masaki M., Imanishi T., *J. Org. Chem.*, **71**, 1306–1316 (2006).
- 127) Rahman S. M. A., Seki S., Obika S., Haitani S., Miyashita K., Imanishi T., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, 4306–4309 (2007).
- 128) Obika S., Tomizu M., Negoro Y., Orita A., Nakagawa O., Imanishi T., *ChemBioChem*, **8**, 1924–1928 (2007).
- 129) Miyashita K., Rahman S. M. A., Seki S., Obika S., Imanishi T., *Chem. Commun.*, 3765–3767 (2007).
- 130) Osaki T., Obika S., Harada Y., Mitsuoka Y., Sugaya K., Sekiguchi M., Imanishi T., *Tetrahedron*, **63**, 8977–8986 (2007).
- 131) Morita K., Kaneko M., Obika S., Imanishi T., Kitade Y., Koizumi M., *ChemMedChem*, **2**, 1703–1707 (2007).
- 132) Obika S., Tomizu M., Negoro Y., Osaki T., Orita A., Ueyama Y., Nakagawa O., Imanishi T., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **26**, 893–896 (2007).
- 133) Rahman S. M. A., Seki S., Utsuki K., Obika S., Miyashita K., Imanishi T., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **26**, 1625–1628 (2007).
- 134) Osaki T., Obika S., Harada Y., Mitsuoka Y., Sugaya K., Sekiguchi M., Somjing R., Imanishi T., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **26**, 1079–1082 (2007).
- 135) Obika S., Inohara H., Hari Y., Imanishi T., *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 2945–2954 (2008).
- 136) Rahman S. M. A., Seki S., Obika S., Yoshikawa H., Miyashita K., Imanishi T., *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 4886–4896 (2008).
- 137) Obika S., Yu W., Shimoyama A., Uneda T., Minami T., Miyashita K., Doi T., Imanishi T., *Biol. Pharm. Bull.*, **22**, 187–190 (1999).
- 138) Obika S., Yu W., Shimoyama A., Uneda T., Miyashita K., Doi T., Imanishi T., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **7**, 1817–1820 (1997).
- 139) Yu W., Shimoyama A., Uneda T., Obika S., Miyashita K., Doi T., Imanishi T., *J. Biochem.*, **125**, 1034–1038 (1999).
- 140) Obika S., Yu W., Shimoyama A., Uneda T., Miyashita K., Doi T., Imanishi T., *Bioorg. Med. Chem.*, **9**, 245–254 (2001).
- 141) Miyashita K., Park M., Adachi S., Seki S., Obika S., Imanishi T., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **12**, 1075–1077 (2002).
- 142) Miyashita K., Ikejiri M., Kawasaki H., Maemura S., Imanishi T., *Chem. Commun.*, 742–743 (2002).
- 143) Miyashita K., Sakai T., Imanishi T., *Org. Lett.*, **5**, 2683–2686 (2003).
- 144) Miyashita K., Ikejiri M., Kawasaki H., Maemura S., Imanishi T., *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 8238–8243 (2003).

-
- 145) Ikejiri M., Miyashita K., Tsunemi T., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **45**, 1243–1246 (2004).
- 146) Miyashita K., Imanishi T., *Chem. Rev.*, **105**, 4515–4536 (2005).
- 147) Miyashita K., Tsunemi T., Hosokawa T., Ikejiri M., Imanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **48**, 3829–3833 (2007).