



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	新規イミダゾール、イミダゾアゼピン及びデアザプリンヌクレオシド類の合成：プリンヌクレオチド生合成阻害剤の分子設計
Author(s)	南川, 典昭
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬学)
Dissertation Number	乙第4354号
Issue Date	1993-09-30
DOI	https://doi.org/10.11501/3074859
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/49918
Type	doctoral thesis
File Information	000000269598.pdf



新規イミダゾール、イミダゾアゼピン及びデアザプリン
ヌクレオシド類の合成

— プリンヌクレオチド生合成阻害剤の分子設計 —

南 川 典 昭

①

新規イミダゾール、イミダゾアゼピン及びデアザプリン
ヌクレオシド類の合成

— プリンヌクレオチド生合成阻害剤の分子設計 —

1993年

南 川 典 昭

本文中、以下の略語を使用した。

Adm	adenosine deaminase
Ado	adenosine
AdoP	adenosine 3'-monophosphate
AdoPT	adenosine phosphoribosyl transferase
DBU	1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane
DEAB	diethyl azodicarboxylate
DMP	N,N-dimethylformamide
DMSO	dimethyl sulfoxide
ECAR	5-ethyl-4-methylcarbazone riboside
UMP	uracil 5'-monophosphate
HEPES	N-(2-hydroxyethyl)piperazine-N'-sulfo-3-carboxylic acid
EGPPT	hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase
HPLC	high-performance liquid chromatography
IMP	inosine 5'-monophosphate
IMPDH	inosine 5'-monophosphate dehydrogenase
isoPr	isopropyl
NAD	nicotinamide adenine dinucleotide
NH ₂	N-methylacetamide
NCS	N-chlorosuccinimide
NH	N-methylsuccinimide
NCE	nuclear Overhauser effect
PRPP	phosphoribosyl pyrophosphate
Py	pyridine
RNase	ribonuclease
RSV	respiratory syncytial virus
SAHase	S-adenosylhomocysteine hydrolase
THF	tetrahydrofuran
THF	tetrahydrofuran
YbCl	p-toluenesulfonyl chloride
TLC	thin-layer chromatography
UMP	uracil 5'-monophosphate

新規イミダゾール、イミダゾアゼピン及びデアザプリン ヌクレオシド類の合成

— プリンヌクレオチド生合成阻害剤の分子設計 —

北海道大学

南川典昭

略語表

本論文中、以下の略語を使用した。

ADA	adenosine deaminase
AIBN	azobisisobutyronitrile
AICAR	5-amino-4-imidazolecarboxamide riboside
AICARP	5-amino-4-imidazolecarboxamide 5'-phosphoriboside
AMP	adenosine 5'-monophosphate
APRT	adenine phosphoribosyl transferase
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
DEAE	diethylaminoethyl
DMAP	4-dimethylaminopyridine
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	dimethylsulfoxide
EICAR	5-ethynyl-4-imidazolecarboxamide riboside
GMP	guanosine 5'-monophosphate
HEPES	<i>N</i> -2-hydroxyethylpiperazine- <i>N'</i> -ethanesulfonic acid
HGPRT	hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase
HIV	human immunodeficiency virus
HPLC	high-performance liquid chromatography
IMP	inosine 5'-monophosphate
IMPDH	inosine 5'-monophosphate dehydrogenase
isoPr	isopropyl
NAD	nicotinamide adenine dinucleotide
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NCS	<i>N</i> -chlorosuccinimide
NIS	<i>N</i> -iodosuccinimide
NOE	nuclear Overhauser effect
PRPP	phosphoribosyl pyrophosphate
Py	pyridine
RNase	ribonuclease
RSV	respiratory syncytial virus
SAHase	<i>S</i> -adenosylhomocysteine hydrolase
TBAF	tetrabutylammonium fluoride
THF	tetrahydrofuran
TsCl	<i>p</i> -Toluenesulfonyl chloride
TLC	thin-layer chromatography
XMP	xanthosine 5'-monophosphate

また保護基には以下の略号を使用した。

Ac	acetyl
TBS	<i>t</i> -butyldimethylsilyl
TIPDS	1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl
TMS	trimethylsilyl

第2章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の合成	19
第3章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸下位の細胞増殖抑制活性	23
第4章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の合成	28
第5章	3-ヒドロキシ-5-アルキニル-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の合成	32
第6章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸下位の細胞増殖抑制活性	38
第7章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	41
第8章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	45
第9章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	49
第10章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	52
第11章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	58
第12章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	62
第13章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	63
第14章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	64
第15章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	66
第16章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	70
第17章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	74
第18章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	78
第19章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	84
第20章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	89
第21章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	91
第22章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	94
第23章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	98
第24章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	101
第25章	5-アルキニル-3-メチル-2-ヒドロキシ-2H-ピラゾール-4-カルボキシ酸の細胞増殖抑制活性	104

目 次

序論	1
本論	13
第1章 5-アルキニルイミダゾールヌクレオシド類の合成および生物活性	13
第1節 5-ヨードイミダゾールヌクレオシドの合成	17
第2節 5-アルキニルイミダゾールヌクレオシド類の合成	19
第3節 5-アルキニルイミダゾールヌクレオシド類の細胞増殖抑制活性	25
第4節 EICARデオキシ誘導体およびEICAの合成	28
第5節 5位炭素置換イミダゾールヌクレオシドの合成	32
第6節 EICA誘導体および5位炭素置換イミダゾールヌクレオシド類の細胞増殖抑制活性	38
第7節 EICARの抗ウイルス活性	41
第2章 イミダゾアゼピンヌクレオシド類の合成	45
第1節 遷移状態アナログの合成	49
第2節 プリンヌクレオチド拮抗型イミダゾアゼピンヌクレオシドの合成	52
第3節 イミダゾアゼピンヌクレオシド類の細胞増殖抑制活性	58
第3章 3-デアザプリンヌクレオシド類の合成	60
第1節 合成計画	63
第2節 3-デアザイノシンの合成	64
第3節 3-デアザグアノシンの合成	68
第4節 3-デアザアデノシンの合成	70
第4章 3-ハロゲノ-3-デアザプリンヌクレオシド類の合成	74
第1節 3-ハロゲノ-3-デアザプリンヌクレオシド類の合成と生物活性	79
第2節 3-ハロゲノ-3-デアザプリンヌクレオシドのNMRを用いた立体構造解析	84
第3節 3-ハロゲノ-3-デアザプリンヌクレオシドのpKa値	89
第5章 3-デアザグアノシン誘導体とRNase T ₁ の相互作用	91
第1節 3-デアザグアノシン誘導体の2',3'-環状リン酸の合成	94
第2節 RNase T ₁ による加水分解反応の速度論的解析	98
結語	103
謝辞	104

実験の部	105
第1章の実験	106
第2章の実験	131
第3章の実験	141
第4章の実験	150
第5章の実験	159
引用文献	166
発表論文目録	178

序論

がんやウイルス感染症の克服は今や人類最大の課題の一つとなっている。日本におけるがんによる年間死亡者数は1981年に遂に脳卒中や心臓病による死亡者数を上回り、さらに1988年には20万人を突破した。じつに4人に1人ががんにより命を失っていることになる。またウイルス感染症についても生命の危機という点についてはがんの比ではないが、その感染力の為、地域社会に重大な事態を引き起こすことも稀ではない。既に1950年頃から人類は、細菌感染症に対して勝利を治めた化学療法剤という武器を持ちがんやウイルス感染症の完全制圧への試みを行なってきた^{1, 2, 3}。核酸化学の領域においても核酸系代謝拮抗剤の開発という立場からがんやウイルス感染症治療薬の開発に古くから取り組んできた。そして現在ではHichings、Elion両博士のノーベル賞受賞^{注1}という功績に代表されるように核酸系代謝拮抗剤は化学療法剤の中心的存在になっていると言っても過言ではない。しかし、この分野においても特效薬と呼ぶに相応しい薬物を得るには至っておらず、これまでにがん細胞やウイルスに関して集積された知識に基づき、さらに優れた核酸塩基やヌクレオシド誘導体のデザイン、合成が必要とされている。

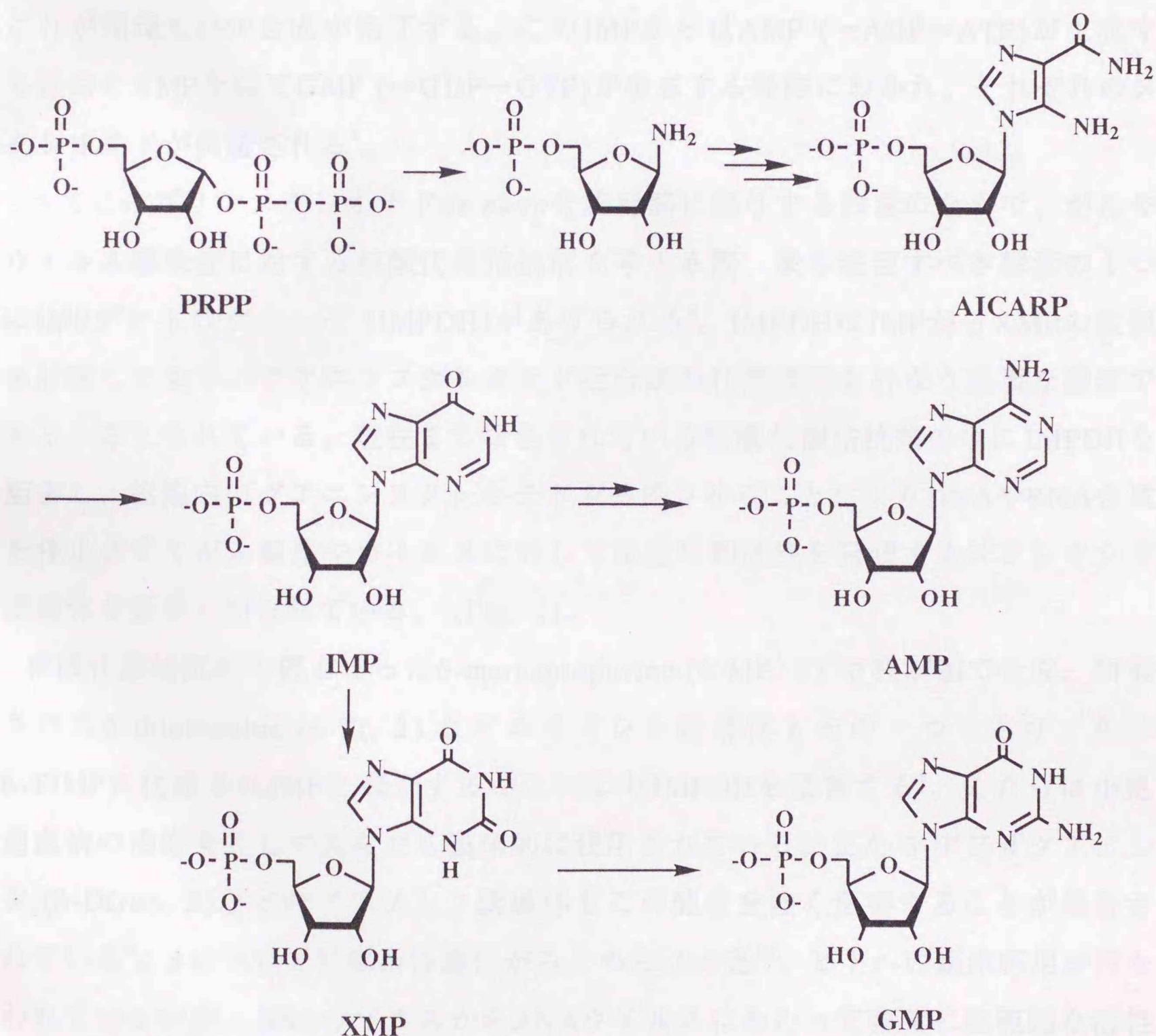
ところで核酸系代謝拮抗剤は宿主であるヒト細胞とそれに感染したウイルス、あるいは正常細胞とがん細胞の間の増殖過程の微妙な差異を利用してウイルス、がん細胞の核酸代謝を攪乱させ、その成長を止めて臨床効果をあげるものである。従って、対象となるものは核酸代謝に関係する酵素全般ということになる。それらを作用機序別に整理すると、次の3つに大別することができる。

- 即ち、1) DNAやRNA合成の前駆体であるヌクレオチドの生合成を阻害し、ヌクレオチドプールのバランスを崩すことにより活性を発現するものの、
- 2) トリリン酸体にまで代謝されポリメラーゼを阻害したり、基質類似体としてDNAやRNAに誤って取り込まれてその機能を損なうことにより活性を発現するもの、

^{注1} 両博士は制がん剤である6-メルカプトブリン及び抗ウイルス剤であるアシクロビル発明の功績により1988年度のノーベル医学生理学賞を受賞した。

3) DNAやRNA合成を直接には阻害しないがその成熟過程などを阻害することにより活性を発現するもの、
 があげられる。その中で特に、ヌクレオチド供給のバランスを崩し、活性発現を期待する方法は増殖速度の速いがん細胞やウイルスに対して非常に効果的であると考えられている³。

生体内ではDNAやRNA合成の前駆体となるプリン、ピリミジンヌクレオチドは *de novo*, Salvage^{注1}の2つの経路によって供給されているが、その様式はそれぞれの塩基で異なっている。



Scheme 1 *De novo* synthesis of purine nucleotides

^{注1} 4種のヌクレオチドを供給する経路で、前者はそれぞれの骨格をアミノ酸、ギ酸、二酸化炭素および、PRPPより形成していく経路であり、後者は核酸が分解されて放出された各ユニットの再利用の経路である。

ピリミジンヌクレオチドでは*de novo* 合成同様、Salvage 合成も重要な経路であるのに対し、プリンヌクレオチドではそのプールの確保を*de novo* 合成に依存する割合が高く、したがってプリンヌクレオチド*de novo* 合成の阻害はヌクレオチドプールのアンバランスを引き起こすのに最も適した作用点であると考えられる。Scheme 1にこの経路の主要部分を示した。

この経路では、まずPRPPとL-グルタミンから β -D-リボフラノシルアミン-5-リン酸が生成し、さらに数行程を経てAICARPが合成される。ひき続き10-ホルミルテトラヒドロ葉酸がホルミル供与体となりAICARPのアミノ基がホルミル化され、これが閉環しIMP合成が完了する。このIMPからはAMP ($\rightarrow$ ADP $\rightarrow$ ATP)が生成する経路とXMPを経てGMP ($\rightarrow$ GDP $\rightarrow$ GTP)が生成する経路にわかれ、それぞれのヌクレオチドが供給される⁴。

さてこのプリンヌクレオチド*de novo*合成経路に關与する酵素のなかで、がんやウイルス感染症に対する核酸代謝拮抗剤を考える際、最も注目すべき酵素の1つにIMPデヒドロゲナーゼ (IMPDH)があげられる⁵。IMPDHはIMPからXMPの変換を触媒しており、グアニンヌクレオチド生合成の代謝調節を行なう重要な酵素であると考えられている。現在まで報告されている核酸代謝拮抗剤の中にIMPDHを阻害し、細胞内のグアニンヌクレオチドを枯渇させることによりDNAやRNA合成を停止させてがん細胞やウイルスに対して増殖抑制活性を発現するヌクレオシド誘導体が数多く知られている。(Fig. 1)。

核酸代謝拮抗剤の礎となった6-mercaptopurine (6-MP, **1**)⁶や我が国で合成、開発された6-thioinosine (6-TI, **2**)⁷などのイノシン誘導体もその一つであり、共に6-TIMPに代謝されIMPと競合することによりIMPDHを阻害する⁸。これらは小児白血病の治療薬として現在でも臨床的に使用されている。また3-デアザグアノシン (3-DGuo, **3**)などのグアノシン誘導体もこの酵素を強く阻害することが報告されている⁹。**3**については蓄積性毒性がみとめられた為¹⁰、ヒトへの臨床応用が行なわれていないが、DNAウイルスからRNAウイルスにわたって非常に広範囲な活性を示すことから大変注目されている化合物である¹¹。これらはいずれも細胞内でSalvage酵素であるヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (HGPRT)によって代謝活性化を受けヌクレオシドモノリン酸体となり酵素を阻害

する。

さらにIMPDHを阻害する化合物としてribavirin (4)やtiazofurin (5)、bredinin (6)など、5員複素環を有するアゾール系ヌクレオシド誘導体があげられる。4と5はいずれも1970年代にRobinsらによって合成された化合物であり^{12, 13}、また6は*Eupenicillium brefeldianum*より単離されたヌクレオシド系抗生物質である¹⁴。

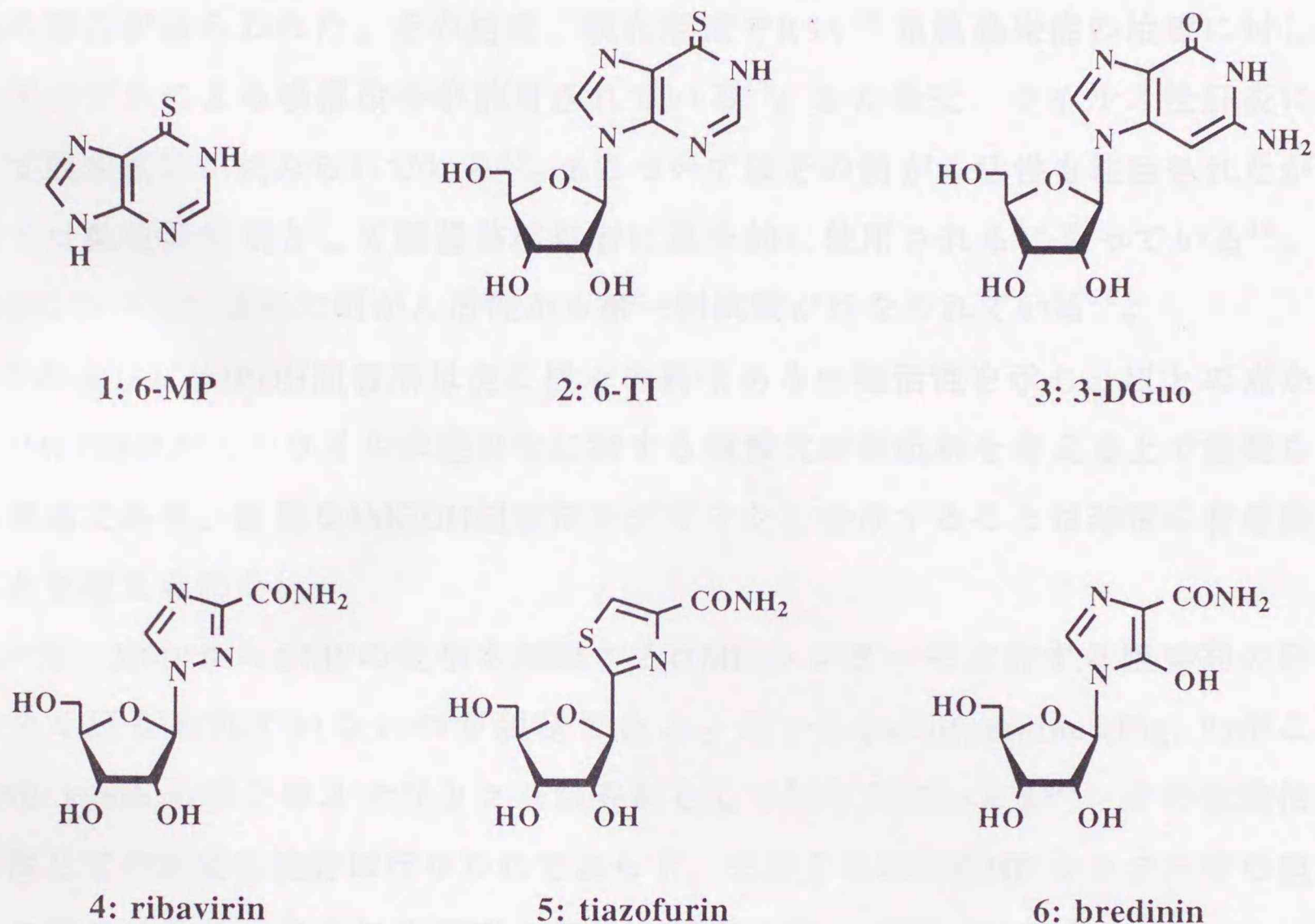


Fig. 1

4の単結晶X線解析によりその立体構造が解析された結果¹⁵、4のカルバモイル基がグアノシンの-CONH-部分と立体化学的に非常に近い配置をとっており、この構造の類似性が阻害活性に関与していると考えられている。さらにこれらの化合物の興味深い点は先のイノシン、グアノシン誘導体とは異なり、アデノシンキナーゼによって対応するモノリン酸体に代謝される点である。細胞内にはイノシンやグアノシンを直接リン酸化する酵素は知られていない。そのため2や3が細胞内で活性化体となるためにはヌクレオシドホスホリラーゼによって核酸塩基に変換されて、その後ホスホリボシル化される必要がある。その点、これらアゾール系ヌ

クレオシド誘導体はカルバモイル基の自由回転が可能であり、アデノシン誘導体として認識されリン酸化をうける¹⁶。それらは構造的にはAICARPと類似していると考えられるが、AICARPとは競合せずIMPDHを阻害する。**4**が示す抗ウイルス活性はインターフェロンやワクチン、免疫増強剤などを含むそれまでに知られていた抗ウイルス作用物質のいずれよりも強い活性を示すものであり、臨床使用の為の努力がはらわれた。その結果、現在米国でRSV^{注1} 重篤感染症の治療に対してエアロゾルによる噴霧投与が許可されている¹⁷。また最近、ウイルス性肝炎に対して臨床試験が試みられている¹⁸。**6**についてはその制がん活性も注目されたが現在では免疫抑制剤として臓器移植患者に臨床的に使用されるに至っている¹⁹。また**5**についても優れた制がん活性から第一相試験が行なわれている²⁰。

このようにIMPDH阻害剤は実に様々の興味ある生物活性を示し、以上の点からもIMPDHはがんやウイルス感染症に対する核酸代謝拮抗剤を考える上で重要な標的酵素であり、新規なIMPDH阻害剤をデザイン、合成することは非常に有意義なことから考えられた。

一方、XMPからGMPの変換を触媒するGMP シンターゼに対する阻害剤の研究は全く行なわれていないのが現状である。唯一、psicofuranine (Fig. 2)がこのGMP synthaseのアロステリックな阻害剤として知られているが²¹、その生物活性に関しての詳細な検討は行なわれておらず、またそれ以降GMP シンターゼの阻害剤の報告はない。さらに本酵素に関する研究については1950年代にLagerkvistにより反応機構等の若干の知見は得られてはいるが²²、IMPDHと比較してその情報量は極めて少ない。

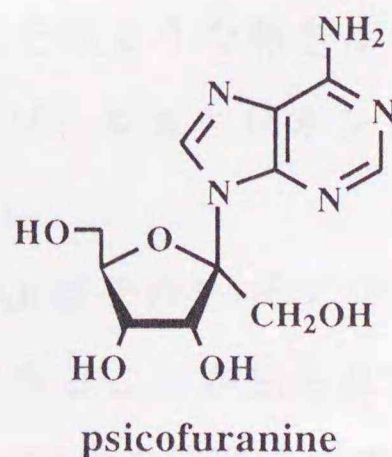


Fig. 2

注1 Respiratory syncytial virus; 幼若者の肺炎、気管支炎、下気道疾患の病原ウイルス

しかしGMP シンターゼもIMPDH同様、細胞内のグアニンヌクレオチドプールを調節する重要な働きをしていると考えられる。従って、現時点ではGMP シンターゼは核酸代謝拮抗剤の標的酵素としては認識されていないが、この酵素の阻害剤の合成研究を行なうことも重要であると考えた。

そこで著者はプリンヌクレオチド *de novo* 合成経路の中で、特にグアニンヌクレオチドの供給を行なっているIMP→XMP→GMPの変換経路に着目し、その代謝酵素の阻害剤のデザイン、合成を行なうことを計画した。

ところで近年、発酵技術の発達により多くの天然ヌクレオシドが比較的容易に、且つ大量に入手可能となり、またヌクレオシドにも適応できる優れた有機反応や有機合成試薬が開発され、ヌクレオシド誘導体の化学合成が天然ヌクレオシドを出発原料として行なえるようになってきた。このような化学変換法は、従来からのグリコシル化法やグリコシルアミンからのヌクレオシドへの誘導²³と比較して行程数、収率ならびに立体制御の面で優れており、特に生物活性を期待した核酸代謝拮抗剤の合成研究において大きな発展をとげている。つまり核酸代謝拮抗剤としてヌクレオシドアナログの合成を行なう場合、その立体化学は天然基質と同一である必要がある。しかしながらグリコシル化法やグリコシルアミンを経る方法では立体化学を完全に制御することは困難であり、目的化合物とその位置、あるいは立体異性体の分離が必要となる。その点、天然ヌクレオシドを素材とした場合には一般的にそのような問題は生じない。既に、プリン、ピリミジンヌクレオシドを用いた新規ヌクレオシド誘導体の合成や代謝拮抗剤の改良合成法に関する研究は盛んに行なわれており、大きな進歩をとげている。それに対し、イミダゾールヌクレオシドについてはそのような報告は極めて例が少ないのが現状である。現在、入手が容易なイミダゾールヌクレオシドとしては唯一、AICA-riboside (AICAR)が知られている(Fig. 3)。

Scheme 1で示したようにAICARはその5'-モノリン酸体がプリンヌクレオチド *de novo* 合成経路の重要な中間体であることが知られているが、AICARは今回著者がターゲットとしたIMP→XMP→GMPの経路の阻害剤を合成するうえで以下の2点から優れた原料になりうると考えられた。即ち、1) AICARアナログとしての生物活性、2) 4位カルバモイル基と5位置換基の閉環より合成されるプリンヌクレ

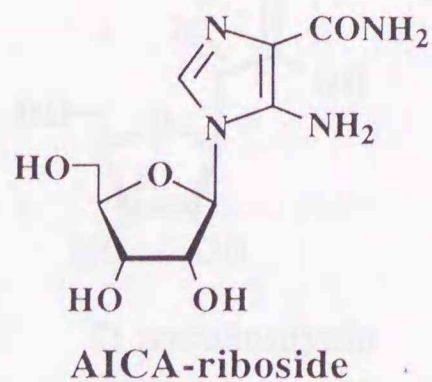


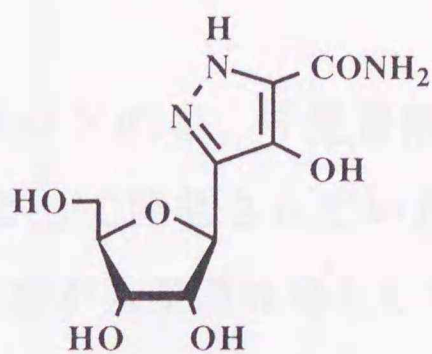
Fig. 3

オシド誘導体の生物活性の2点である。尚、このような観点に着目したイミダゾールヌクレオシドの合成ならびにその利用は古くから行なわれており、また優れた核酸代謝拮抗剤の合成も報告されている^{11, 25}。しかしその合成法は前述したようにグリコシル化法やグリコシルアミンからのヌクレオシドへの誘導が大半を占めている。そのため立体異性体や位置異性体が生成し、その分離精製のための操作が必要となり合成法としては決して満足の行くものではなく、天然ヌクレオシドであるAICARを出発原料とし化学変換を行ない、その目的を達成することは意義深いことであると考えられた。

さてAICARアナログ合成の歴史は古く、1952年、Greenbergにより葉酸合成を阻害した*Escherichia coli* 培養細胞よりAICARが単離され²⁴、プリンヌクレオチド合成経路にイミダゾール塩基をもつヌクレオチドが関与していることが示されたときから既に始まっていた。その後、十数年の間に数多くの4,5二置換イミダゾールヌクレオシドがグリコシル化法により合成されたが²⁵ 6-MP (1)や6-TI (2)前駆体のチオアミド誘導体²⁶を除き興味ある活性を示す化合物は合成されるに至らなかった。

AICARアナログが核酸代謝拮抗剤として脚光を浴びたのは1969年、Williamsらによって*Streptomyces candidus*よりpyrazomycin (7)がヌクレオシド系抗生物質として発見され、抗ウイルス活性が報告されてからである²⁷。7はピラゾール骨格をもつC-ヌクレオシドであるが構造上、AICARと非常に類似している(Fig. 4)。

さらに7が注目された点はこの化合物がDNAウイルスのみならずRNAウイルスに対しても活性を示したことである。既に、5-iodo-2'-deoxyuridine²⁸や9-β-D-arabinofuranosyladenine²⁹などDNAウイルスに対して効果を示す化合物は知



7: pyrazomycin

Fig. 4

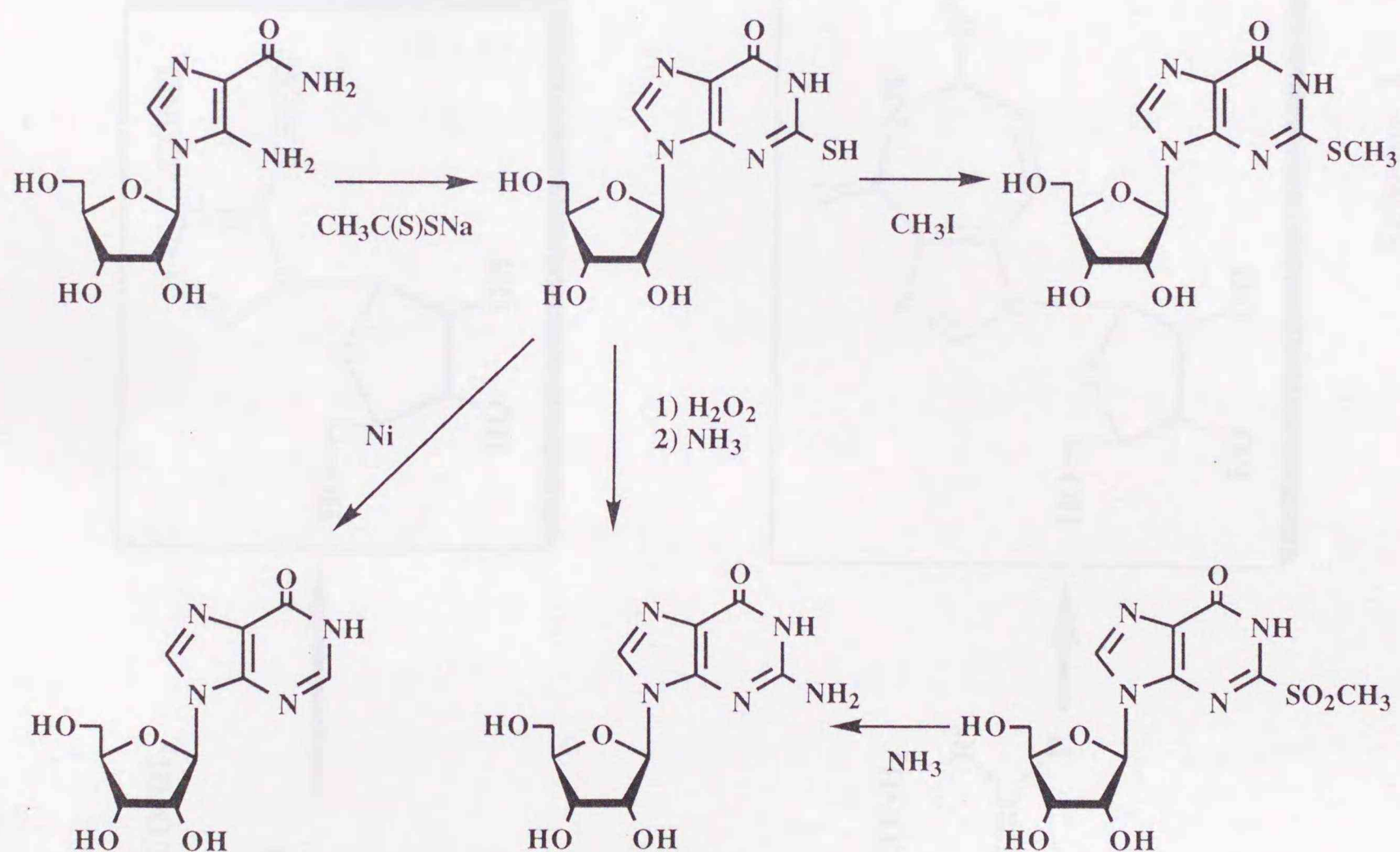
られていたがRNAウイルスに対して効果を示す核酸誘導体の報告はなく、RNAウイルス感染症治療薬としての期待が集まった。その後の研究により7の生物活性はピリミジンヌクレオチド UMP 生合成の鍵酵素であるオロチジル酸デカルボキシラーゼを阻害することに因るものであることが報告された³⁰。この化合物の発見に端を発し、Robinsらのグループにより実に多くのAICARアナログの合成研究が行なわれ、先に示した4や5など優れた生物活性を示すIMPDH阻害剤が合成されたという点では7はリード化合物であったと考えられる。しかしそれ以降のAICARアナログの合成研究はイミダゾール環の炭素原子や窒素原子を他のヘテロ原子に置換したアゾール、チアゾール誘導体合成が主流となった³¹。その理由としては、1950-60年代にかけて数多くのイミダゾールヌクレオシドが合成されたが生物活性の点からは満足な結果が得られなかったこと²⁵、さらにはAICARアナログとして4, 5, 7などの化合物に優れた活性を示すものがみいだされたこと^{12, 13, 27}などによると考えられる。

1974年にbredinin (6)が単離されたこと¹⁴により、AICARの5位アミノ基を他の官能基に置換する試みが行なわれ、Robinsらによりイミダゾール5位にハロゲンや硫黄原子を導入した化合物が合成され、制がん、抗ウイルス活性の検討が行なわれた³²。この研究によりIMPDH阻害剤としてイミダゾール4位に対応する位置にカルバモイル基が必要であるということに加えて、5位置換基が活性に影響することが示唆されたが、その後この分野における発展はほとんど無く、さらに5位置換基と活性の相関についても詳細な議論はなされていない。

以上の点からもAICARを出発原料としたIMPDH阻害剤の合成研究は未開の分野であり、新規な阻害剤をデザイン、合成することは非常に興味深いことと考えら

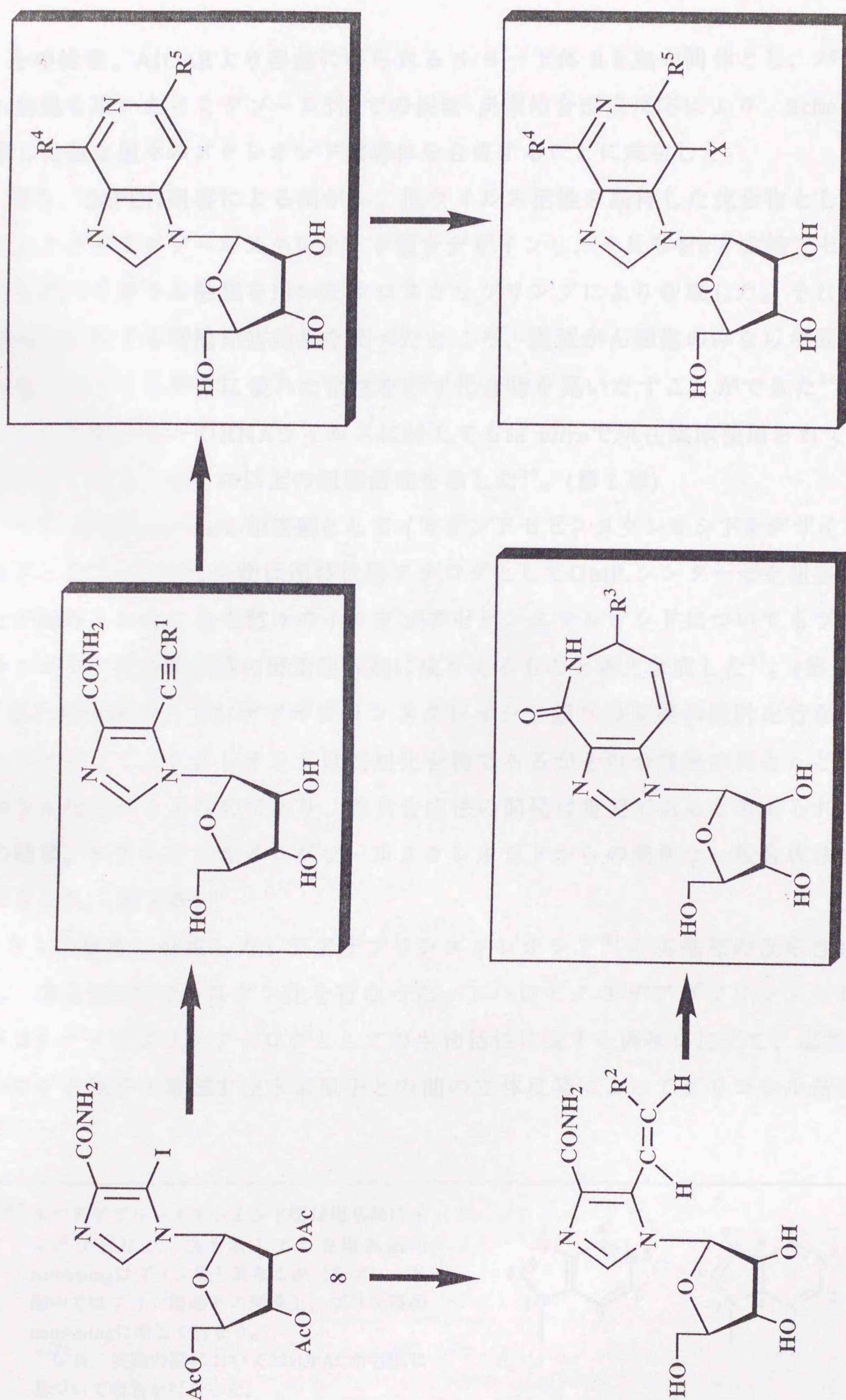
れた。

一方、イミダゾールヌクレオシドの4、5位置換基の閉環反応も古くからプリンヌクレオシド合成法の一つとして開発されていた²³。またAICARの閉環反応についてもイノシン酸やグアニル酸が人工調味料として開発されたことに端を発し、YamazakiらによりAICARを用いたイノシン、グアノシン、およびその誘導体の合成が数多く報告されている³³。Scheme 2にその合成行程を示したが、彼らはこの方法により年間数百トンのイノシン酸、グアニル酸の供給を行なっている。このように食品産業においてはAICARの利用価値は多大である。しかしながら医薬品、即ち核酸代謝拮抗剤の開発という点に関しては、AICARを用いたプリンヌクレオシド誘導体の合成報告は、先のAICARアナログの合成研究同様、極めて例が少ない。



Scheme 2

以上の様な背景から著者は今回目的としたIMP→XMP→GMPの変換経路の阻害剤のデザイン、合成研究をAICARを共通の出発原料として行なうことにした。



その結果、AICARより容易に得られる 5-ヨード体 **8** を鍵中間体とし、パラジウム触媒を用いたイミダゾール5位での炭素-炭素結合形成反応により、Scheme 3に示した様な種々のヌクレオシド誘導体を合成することに成功した。

即ち、IMPDH阻害による制がん、抗ウイルス活性を期待した化合物として5-アルキニルイミダゾールヌクレオシド類をデザインし、それらを**8**と末端アセチレン類とのパラジウム触媒を用いたクロスカップリングにより合成した。それらの腫瘍細胞に対する増殖阻害効果を調べたところ、血液がん細胞のみならず固形がん細胞に対しても非常に優れた活性を示す化合物を見いだすことができた³⁴。またその化合物は種々のRNAウイルスに対しても*in vitro*で現在臨床使用されている**4**と同等、あるいはそれ以上の阻害活性を示した³⁵。(第1章)

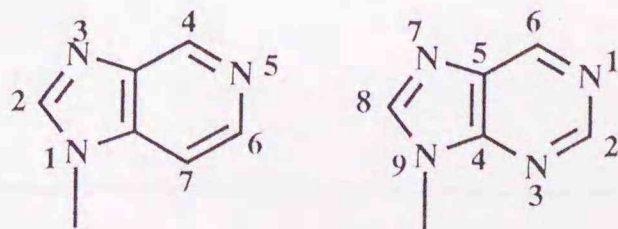
一方、GMP synthase 阻害剤としてイミダゾアゼピンヌクレオシドをデザインし、合成した³⁶。この化合物は遷移状態アナログとしてGMP シンターゼを阻害することが期待された。また種々のイミダゾアゼピンヌクレオシドについてもプリンヌクレオチド生合成経路の酵素阻害剤に成りえるものと考え合成した³⁷。(第2章)

またAICARからの3-デアザプリンヌクレオシド類への変換の検討を行なった。3-デアザプリンヌクレオシドは既知化合物であるがその合成法のほとんどがグリコシル化法によるものであり、改良合成法の開発は重要であると考えられた。その結果、5-アルキニルイミダゾールヌクレオシドからの簡便な一般合成法を確立できた³⁸。(第3章)

さらに著者は合成した3-デアザプリンヌクレオシド^{注1}の塩基部の反応性に着目し、塩基部3位のハロゲン化を行なった。3-ハロゲノ-3-デアザプリンヌクレオシドは3-デアザプリンアナログとしての生物活性に関する興味に加えて、塩基部3位ハロゲン原子と糖部2'位水素原子との間の立体反発によってグリコシル結合回り

注1 3-デアザプリンヌクレオシド類は塩基部にイミダゾピリジン環を有しており塩基部の numbering はプリン環と異なるが(右図)、本論中ではプリン塩基との関連上、プリン環の numbering に準じて行なう。

なお、実験の部においてはIUPAC命名法に基づいて命名を行なった。



のコンホメーションがanti配座に固定^{注1}された基質になりえるものと考えた。

合成した3-ハロゲノ-3-デアザプリンヌクレオシドはNMR実験よりanti配座を優先することが確認された。(第4章)

第4章に記述した3-ハロゲノ-3-デアザプリンヌクレオシドの中で、3-デアザグアノシン誘導体を対応する2', 3'-環状リン酸体へと導きRNase T₁による加水分解反応の速度論的解析を行なった。(第5章)

これらの研究結果に関して以下、章を追って詳細に述べる。なお、各章のはじめにそれぞれの研究の背景となる事柄について概説した。

^{注1} 実際にはコンホメーションを固定している訳ではないが、グリコシル結合回りの自由回転を制限するという意味で本文中では“固定”という表現を用いている。詳細については第4章で述べる。

第1章 5-アルキニルイミダゾールヌクレオシド類の合成

および生物活性^{34, 35, 39}

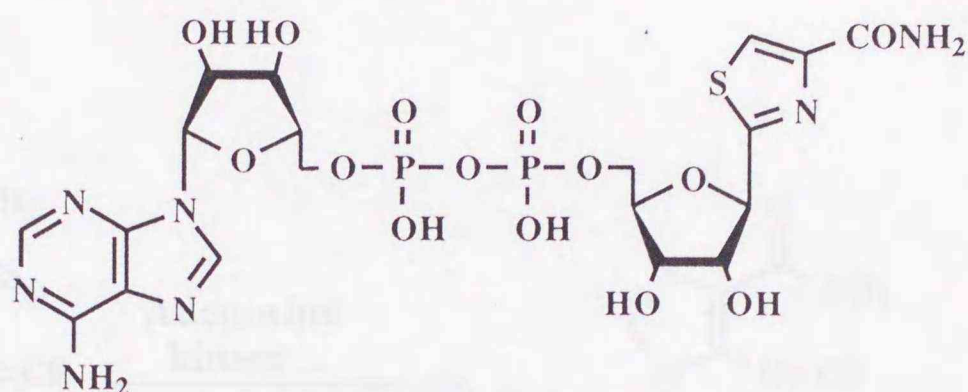
プリンヌクレオチド *de novo* 合成に関与する酵素の中で、IMPからXMPの変換を触媒するIMPDHはグアニンヌクレオチドの代謝調節を行なう重要な酵素であり、またがんやウイルス感染症に対する核酸代謝拮抗剤の標的酵素の1つとして考えられている⁵。Weberらはがん細胞と正常細胞のプリン代謝の比較を行ない、がん細胞の増殖速度に比例してIMPDH活性が高くなっていることを発見し、特に増殖の速いhepatoma 3924A や 9618A細胞においてはその活性が正常細胞の10倍以上になっていると報告している⁴⁰。同様の酵素活性の増加は白血病細胞に関しても観察されている⁴¹。またIMPDH阻害剤がヒト固形がん細胞の分化誘導を引き起こすことがごく最近報告されている⁴²。

序論において述べたように、ribavirin (4), tiazofurin (5), bredinin (6)などのAICARアナログがこのIMPDHの優れた阻害剤として現在までに報告されている。これらの阻害作用はグアノシン、キサントシンのようなグアノシン類似体では拮抗することができるが、アデノシン、デオキシグアノシンなどでは拮抗できないこと、さらには細胞内のIMP濃度が上昇することからも証明されているが⁴³、その阻害機序は今なお不明な点はあるが次のように考えられている。これらはいずれもアデノシンキナーゼによってモノリン酸体に代謝され活性体となるが、4や6についてはそのモノリン酸体がIMPと競合することにより活性を発現すると考えられている。それに対して5はそのモノリン酸体がさらにNAD ピロホスホリラーゼ^{注1}によってthiazole-4-carboxamide adenine dinucleotide (TAD, 9)に代謝される(Fig. 5)⁴⁴。IMPDHはIMPからXMPの変換にNADを補酵素として必要としており、TADはNADアナログとして作用することによりIMPDHを阻害する。同様の阻害様式を示す化合物として5の硫黄原子をゼレン原子で置換したselenazofurin (10)が報告されている⁴⁵。

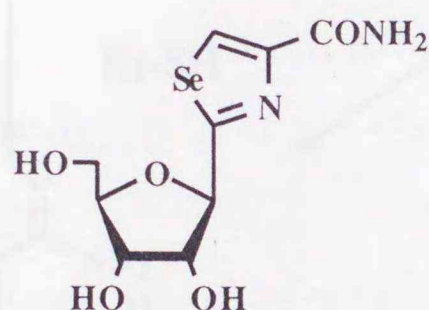
一方、5員環複素環を持つヌクレオシドアナログには showdmycin (11)⁴⁶のよう

^{注1} NMNアデニルトランスフェラーゼ。NADを合成する酵素。ニコチンアミドモノヌクレオチドにATPのアデニル酸が転移してNADが生成し、ピロリン酸が遊離する。

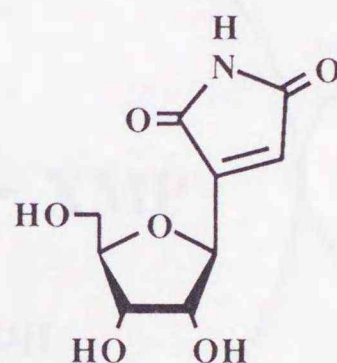
に先の AICAR アナログとは全く異なる作用機序により活性を発現するものがある。**11**は核酸代謝酵素の基質とはならない。その為、細胞内に取り込まれてもリン酸化などの代謝活性化はうけない。しかし細胞内の求核性分子に対して活性なマレイミド環を有しており、この部位が酵素のシステインチオール基をアルキル化することにより細胞毒性を示すと考えられている⁴⁷。



9: TAD



10: selenazofurin



11: showdmycin

Fig. 5

そこで著者はこれらの特性を併せ持つような化合物が合成できればさらに優れた IMPDH 阻害剤になりうると考え、AICAR のイミダゾール 5 位にアルキニル基を有する化合物をデザインし合成することにした (Fig. 6)。

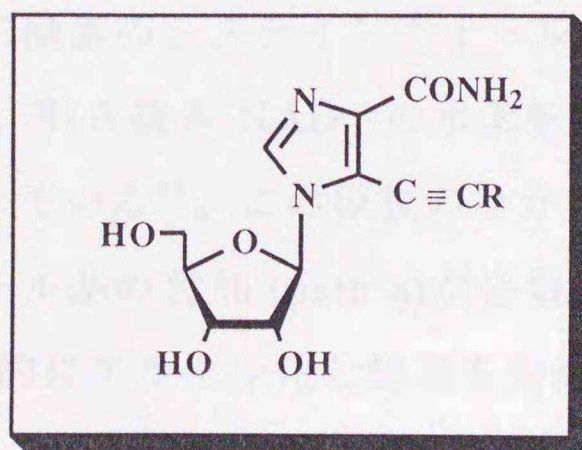
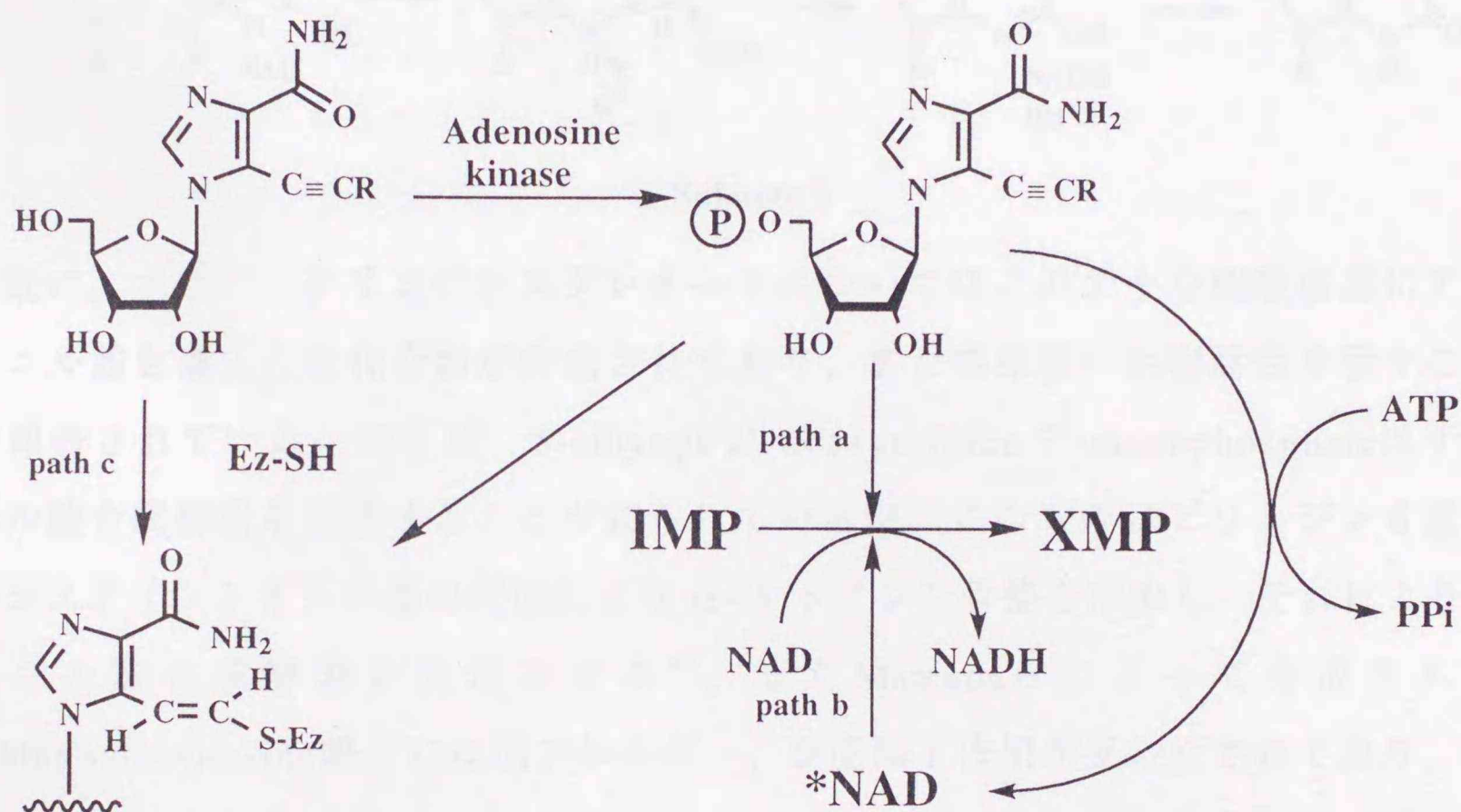


Fig. 6

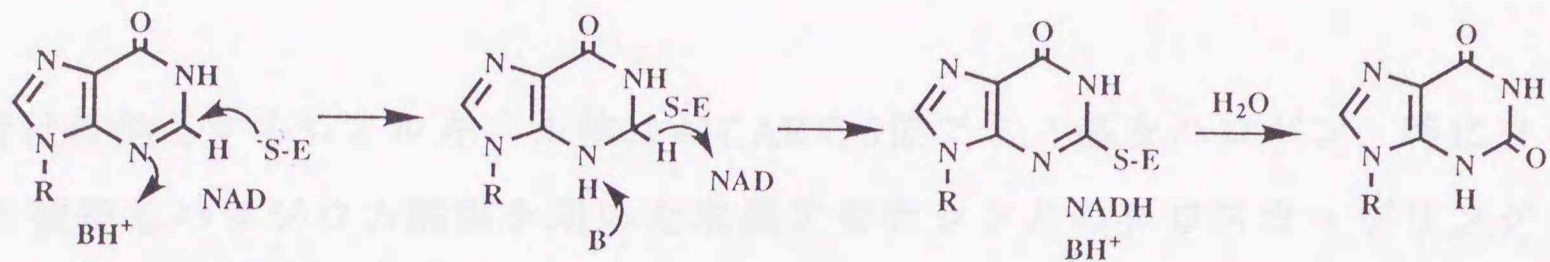
即ち、このものは4位カルバモイル基の存在によりアデノシンキナーゼによってモノリン酸体へと代謝され、IMPアナログとして競合的に IMPDHを阻害する (path a)、あるいは NAD型 (*NAD)に代謝され IMPDHを阻害する (path b)という作用機序に加えて、細胞内求核性分子に対して活性であると考えられる不飽和炭素部位によるアルキル化作用 (path c)の相乗的な効果を期待できると考えた (Scheme 4)。



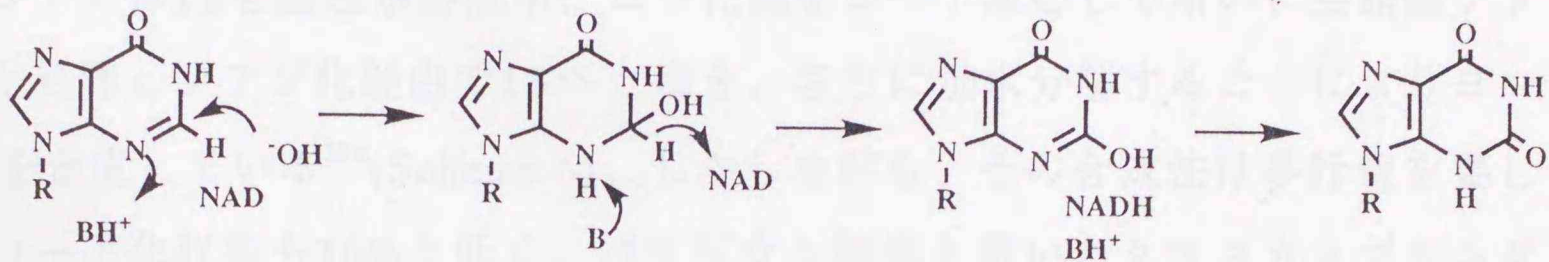
Scheme 4

IMPDHによる IMPの変換メカニズムに関する研究については多くの報告がなされているが、極めて最近、HedstromとWongはScheme 5に示したようにこの変換過程において IMPの2位に酵素のシステインチオール(path a)あるいはヒドロキシアニオン(path b)が付加し、引き続き NADへの水素転移が起こり XMPが生成するというメカニズムを提唱している⁴⁸。この仮説のなかで、もし IMPDHによる変換に酵素のシステインチオール基の付加 (path a)が必須であれば、この5-アルキニル誘導体は IMPDHを特異的にアルキル化し酵素を失活させることも可能である。

Path a



Path b

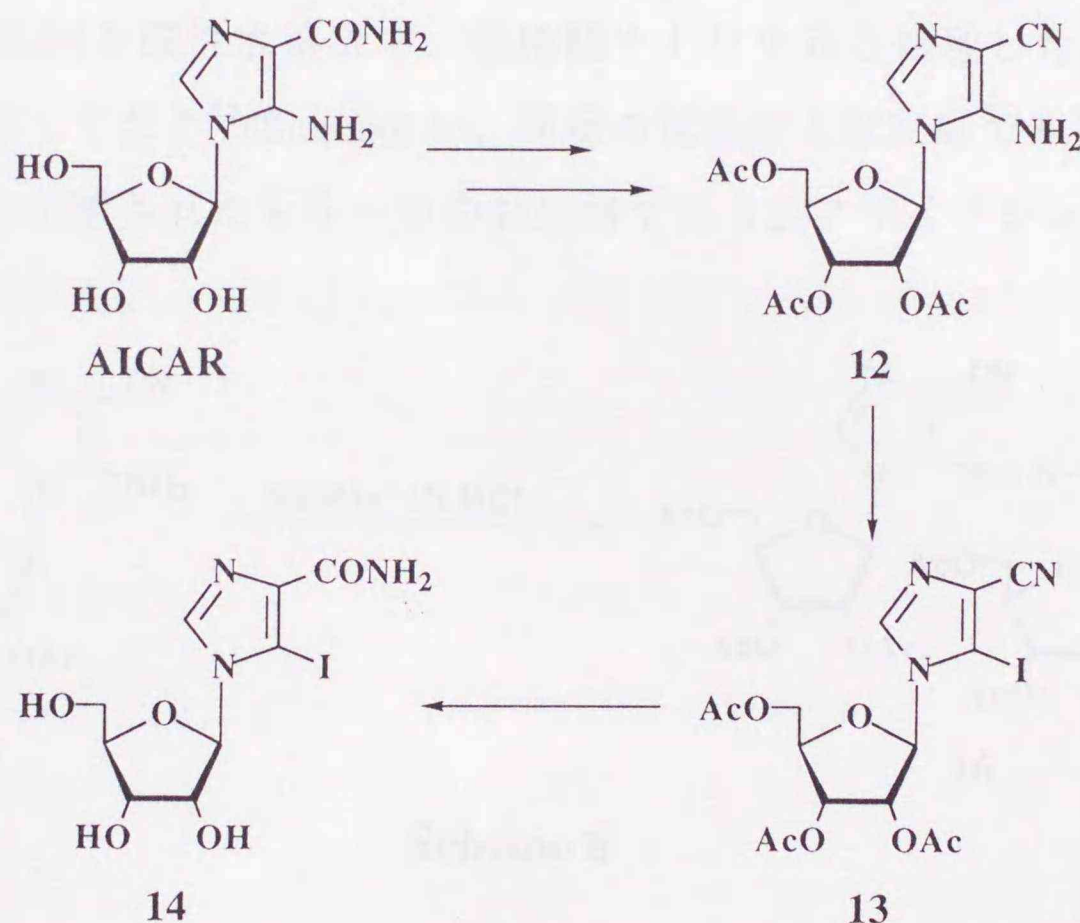


Scheme 5

既に、プリン、ピリミジンヌクレオシドについてはこのような核酸塩基にアルキニル基を導入した化合物が合成されており、また興味深い生物活性を示すことが報告されている。例えば、5-ethynyl-2'-deoxyuridine 5'-monophosphateはチミジル酸合成酵素を阻害することが知られているが、このものはピリミジン6位へのシステインシオール基の付加により α -ケトアレン骨格を形成し、それによりチミジル酸合成酵素を失活させる⁴⁹。また Matsudaらによって合成された 2-alkynyladenosine類⁵⁰には抗アレルギー、血圧降下作用が見いだされており、そのような点からもイミダゾール5位にアルキニル基を導入することは興味深いことと考えられた。

第1節 5-ヨードイミダゾールヌクレオシドの合成

著者は目的とする5-アルキニル体はAICARの5位アミノ基をハロゲン、特にヨードへと変換しパラジウム触媒を用いた末端アセチレンとのクロスカップリングにより合成することができると考えた。既にSrivastavaらはAICARより2行程で得られるシアノ体**12**を酸性水溶液中、ヨウ化銅をヨード源として用い、亜硝酸ナトリウムと処理しジアゾ化経由で**13**へと導き、さらに加水分解することによりヨード体**14**を合成している^{32a}(Scheme 6)。しかしながら、その合成法は多行程を要し、またヨード化収率も10%と低く、パラジウム触媒を用いたクロスカップリングを行なう際の原料供給の方法としては満足のゆくものではないと考えられた。

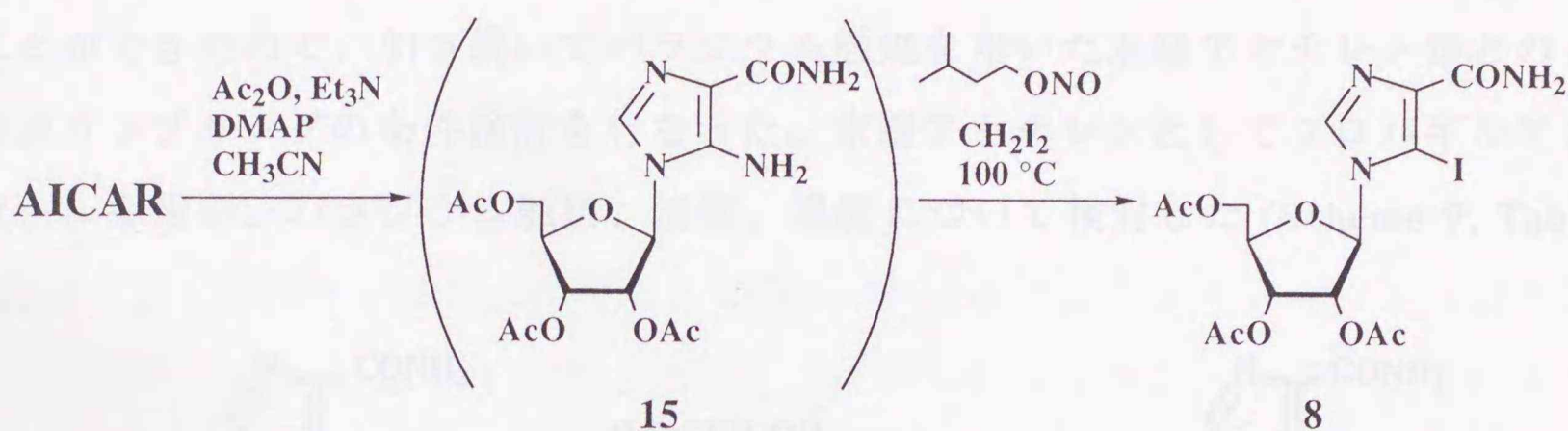


Scheme 6

Nairらはハロメタンをハロゲン源とし、亜硝酸アルキルを用いた非水系での効率よい核酸塩基のアミノ基のハロゲン化を報告している⁵¹。著者はこの方法を用いヨード化の検討を行なった。即ち、AICARの糖部水酸基をアセチル化後、**15**を単離精製することなくジヨードメタン中100℃で亜硝酸イソアミルと処理した。その結果、ヨード体**8**を2行程、55%の収率で得ることができた(Scheme 7)。

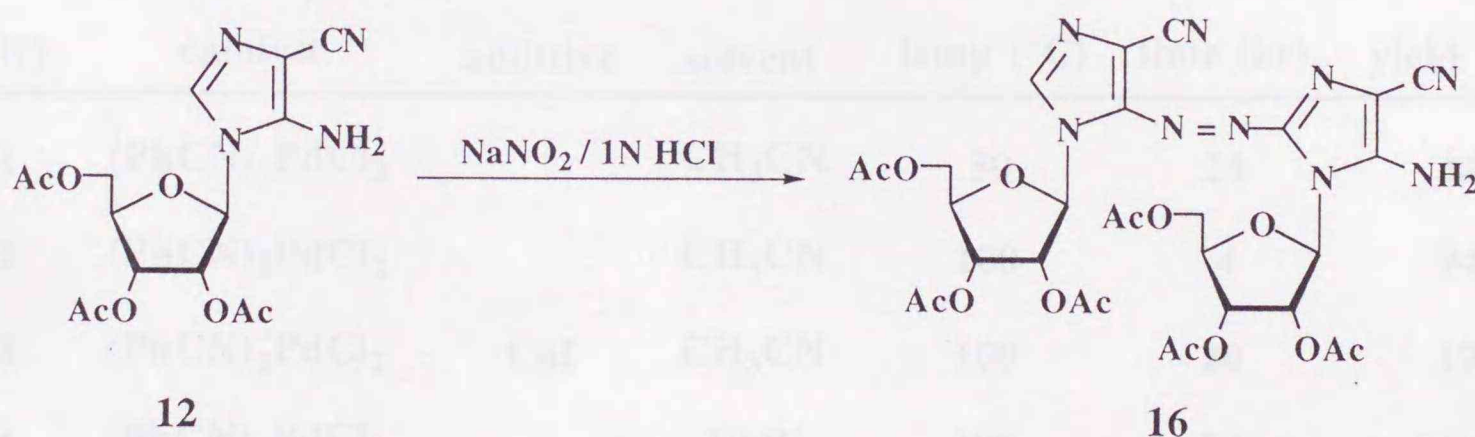
なお、この反応の際かなりの割合でタール状物質の副生が観察されたが、これ

は**15**のジヨードメタンに対する溶解性が低く、反応液が均一とならないために原料間でのジアゾカップリングが進行したのではないかと考えられた。



Scheme 7

Fukukawaらは**12**を酸性水溶液中、亜硝酸ナトリウムと処理した際、2量体**16**が得られたと報告しており⁵²(Scheme 8)、同様の反応が上記反応でも起こったものと思われる。また予想されたもう一つの副生物である2-アザイノシン⁵³はこの反応では観察されなかった。



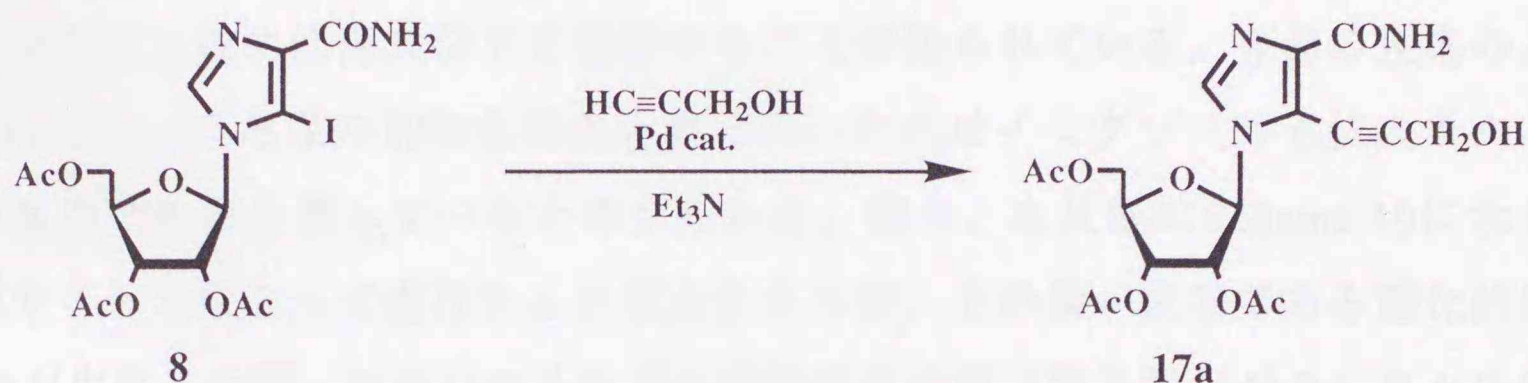
Scheme 8

著者はヨード化の収率をさらに向上させるために、予めジヨードメタンの溶液に亜硝酸イソアミルを加え加熱した溶液に**15**のクロロホルム溶液を滴下するという方法を試みたところ、タール状物質の副生は減少し、ヨード体**8**を69%の収率で得ることができた。

また本反応で用いるジヨードメタンは高価な試薬であるがシリカゲルカラムにより回収した後、チオ硫酸ナトリウム水溶液で還元し減圧蒸留で精製することにより繰り返し用いることが可能である。

第2節 5-アルキニルイミダゾールヌクレオシド類の合成

本研究を行なう上での共通の原料となるヨード体**8**の効率よい合成法を確立することができたので、引き続いてパラジウム触媒を用いた末端アセチレン類とのクロスカップリングの条件検討を行なった。末端アセチレンとしてプロパギルアルコールを用い、パラジウム触媒、溶媒、温度について検討した (Scheme 9, Table 1)。



Scheme 9

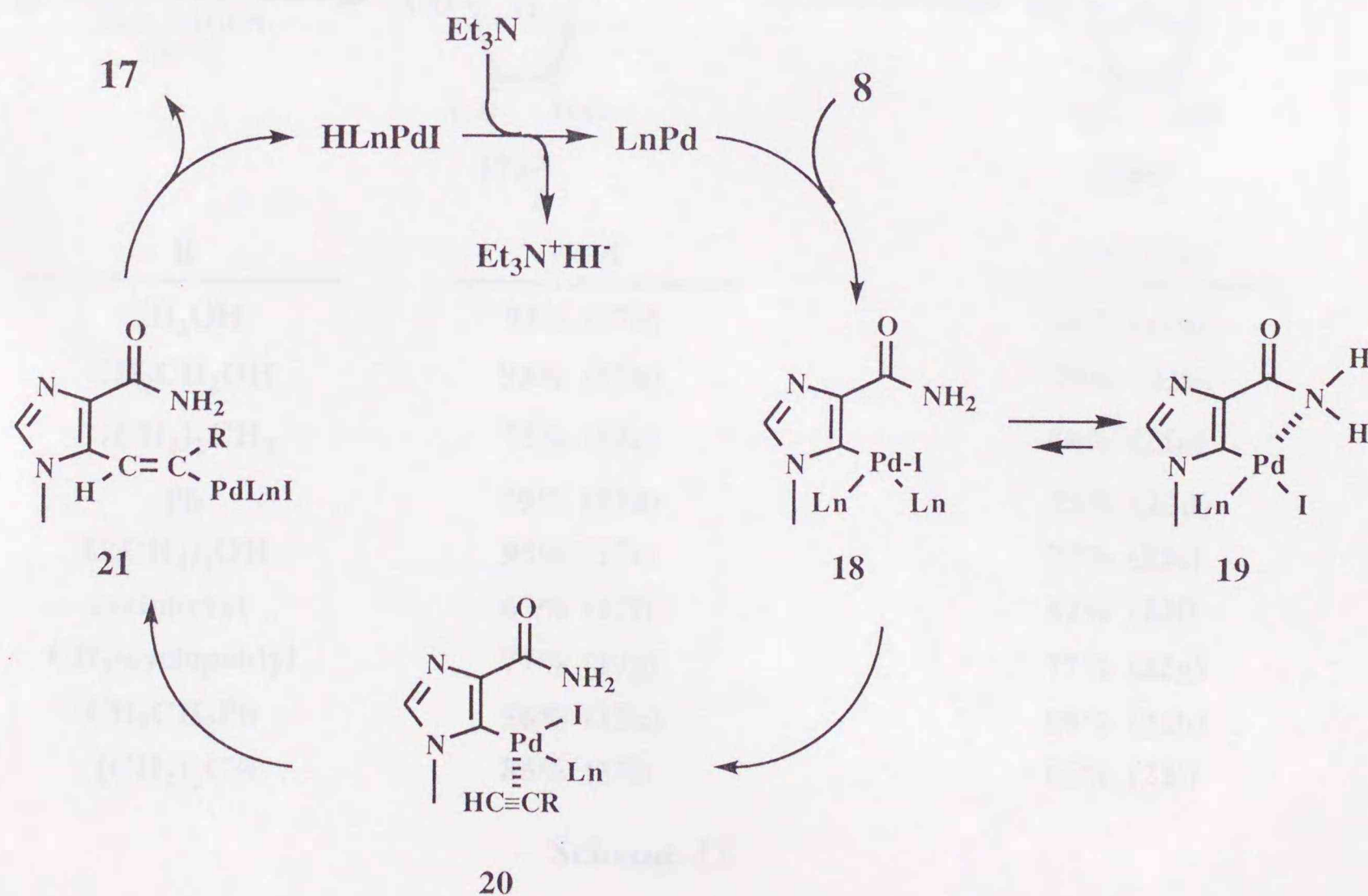
Table 1 The cross-coupling reaction of **8** with propargyl alcohol

entry	catalyst	additive	solvent	temp (°C)	time (hr)	yield (%)
1	$(\text{PhCN})_2\text{PdCl}_2$		CH_3CN	50	24	34
2	$(\text{PhCN})_2\text{PdCl}_2$		CH_3CN	100	4	94
3	$(\text{PhCN})_2\text{PdCl}_2$	CuI	CH_3CN	100	20	19
4	$(\text{PhCN})_2\text{PdCl}_2$		DMF	100	24	trace
5	$(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$		CH_3CN	100	21	42
6	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$		CH_3CN	100	23	32

まず触媒としてビスベンズニトリルパラジウムジクロリドを用いトリエチルアミン存在下、アセトニトリル中50 °Cで反応を行なった (entry 1)。しかしこの条件では反応の進行は遅く、24時間後でも原料は完全に消失せず、目的化合物であるプロパギルアルコール体**17a**を34%でしか得ることができなかった。そこでガラス封管を用い反応温度を100 °Cにあげて反応を行なったところ、4時間で原料は消失し、**17a**を収率良く得ることができた (entry 2)。Sonogashiraらは反応系内に触

媒量のヨウ化銅を存在させた場合、このタイプの反応が非常に温和な条件下で進行することを報告している⁵⁴。そこで5 mol%のヨウ化銅を加えて同様に反応をおこなった。しかしこの反応においてはヨウ化銅の添加は反応速度を遅くさせる結果となりその収率は19%にまで低下した (entry 3)。またビストリフェニルホスフィンパラジウムジクロリド、酢酸パラジウムや溶媒をDMFに変更して検討したがいずれも満足のいく結果は得られなかった (entry 4-6)。

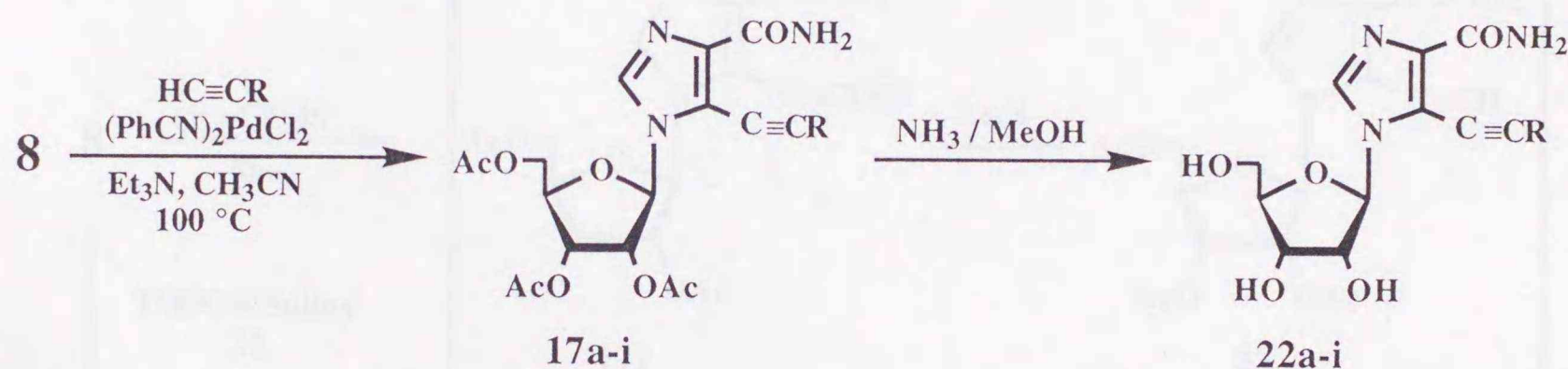
一般に芳香族ハライドと末端アルキン類とのパラジウム触媒を用いたクロスカップリングは比較的低温条件下で進行することが知られている。今回の反応のように100℃という高温の加熱条件が必要であったのはイミダゾール4位のカルバモイル基の存在が影響していると考えられた。即ち、本反応はScheme 10に示した触媒サイクルによって進行すると考えられるが、その第一段階である酸化的付加体**18**が生成した際、カルバモイル基の窒素原子の孤立電子対がパラジウムに配位した5員環キレート錯体**19**を形成し、このものが比較的安定であるために引き続くアルキンの配位、挿入、脱離反応が進行しにくくなったものと思われる。



Scheme 10

またヨウ化銅の添加についてはScheme 10に示したメカニズムとは異なり、系内で銅アセチリドが生成し、パラジウムとトランスメタル化、続いて還元的脱離が進行することによりアルキニル化が起こると考えられている。ヨード体**8**との反応で収率の著しい低下が見られたのも同様に4位カルバモイル基によって**19**が形成しトランスメタル化が起こりにくくなることが一つの要因ではないかと考えられた。

最も良い結果を与えたTable 1, entry 2の条件を用いて種々の末端アセチレン類との反応を行なったがいずれもプロパギルアルコールの場合と同様、反応は速やかに進行しカップリング体**17a-i**を収率良く得ることができた。化合物**17a-i**はそれぞれメタノール性アンモニアと処理することによりアセチル基を除去し5-アルキニルイミダゾール誘導体**22a-i**へと変換した (Scheme 11)。



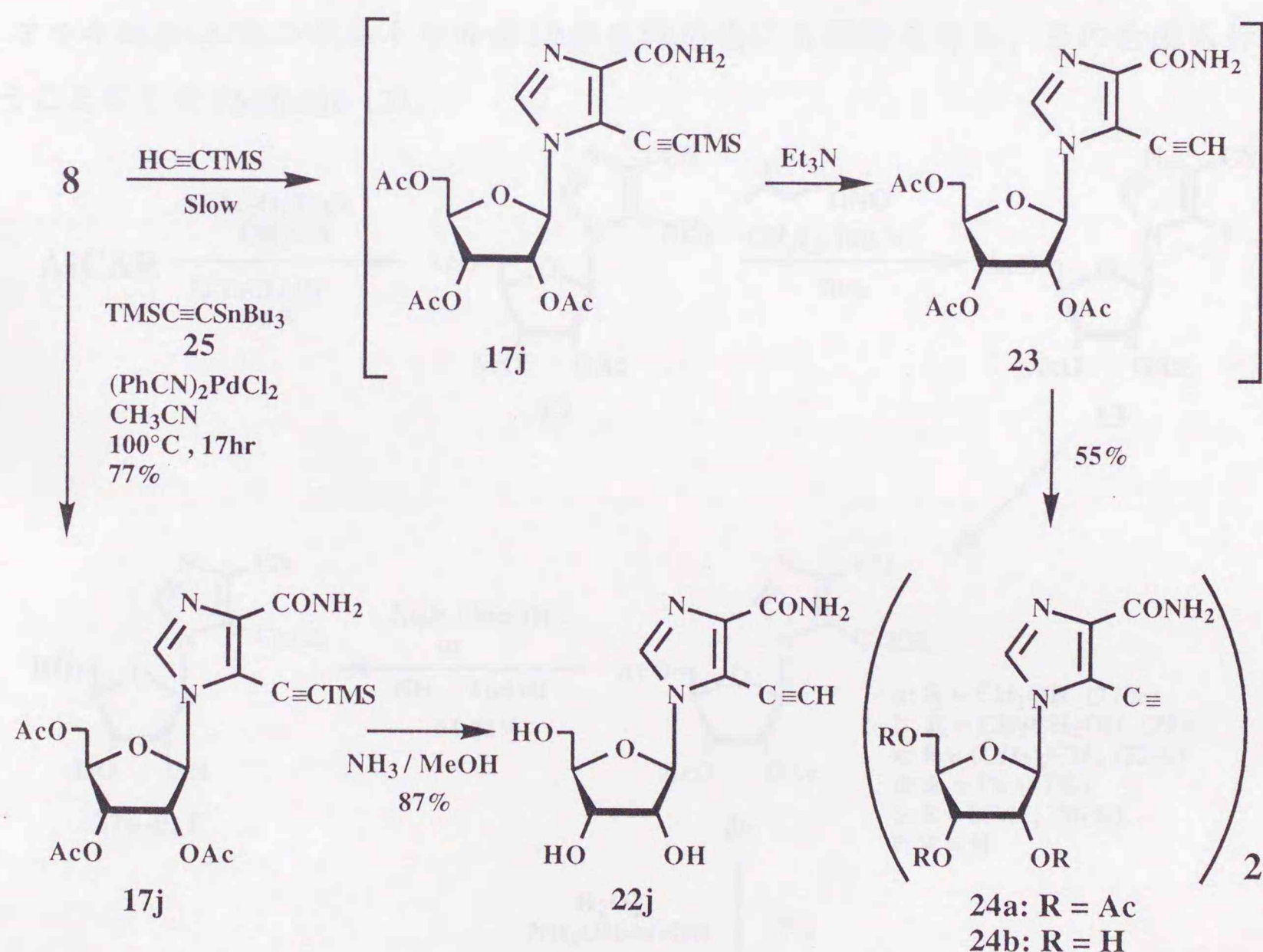
R	yield	yield (%)
CH ₂ OH	94% (17a)	86% (22a)
CH ₂ CH ₂ OH	93% (17b)	79% (22b)
(CH ₂) ₂ CH ₃	75% (17c)	80% (22c)
Ph	79% (17d)	75% (22d)
C(CH ₃) ₂ OH	95% (17e)	77% (22e)
cyclohexyl	63% (17f)	82% (22f)
CH ₂ -cyclopentyl	77% (17g)	77% (22g)
CH ₂ CH ₂ Ph	56% (17h)	88% (22h)
(CH ₂) ₃ CN	86% (17i)	66% (22i)

Scheme 11

それに対してTMSアセチレンとの反応は目的物は全く得られず、極性の高い化合物が得られる結果となった。この化合物は¹H-NMRスペクトルにおいてトリメ

チルシリル基のプロトン由来のシグナルが観察されなかったこと、マスペクトルにおいて m/z 760 に分子イオンピークが認められたこと、また uv スペクトルに 340 nm と 320 nm に極大吸収波長が観察され 5-アルキニル体と比較して大きく長波長にシフトしていることよりその構造を **24a** と決定した。化合物 **24a** はさらにメタノール性アンモニアと処理し **24b** へと導き、各種機器分析によりその構造を確認した。

TMS アセチレンとの反応の場合、反応の進行が遅いためにカップリング体 **17j** が生成しても反応系内に加えたトリエチルアミンによってトリメチルシリル基が除去されエチニル体 **23** が生成し、このものが TMS アセチレンよりも速やかにもう一分子の **8** とクロスカップリングするために 2 量体 **24a** が生成するものと考えた。



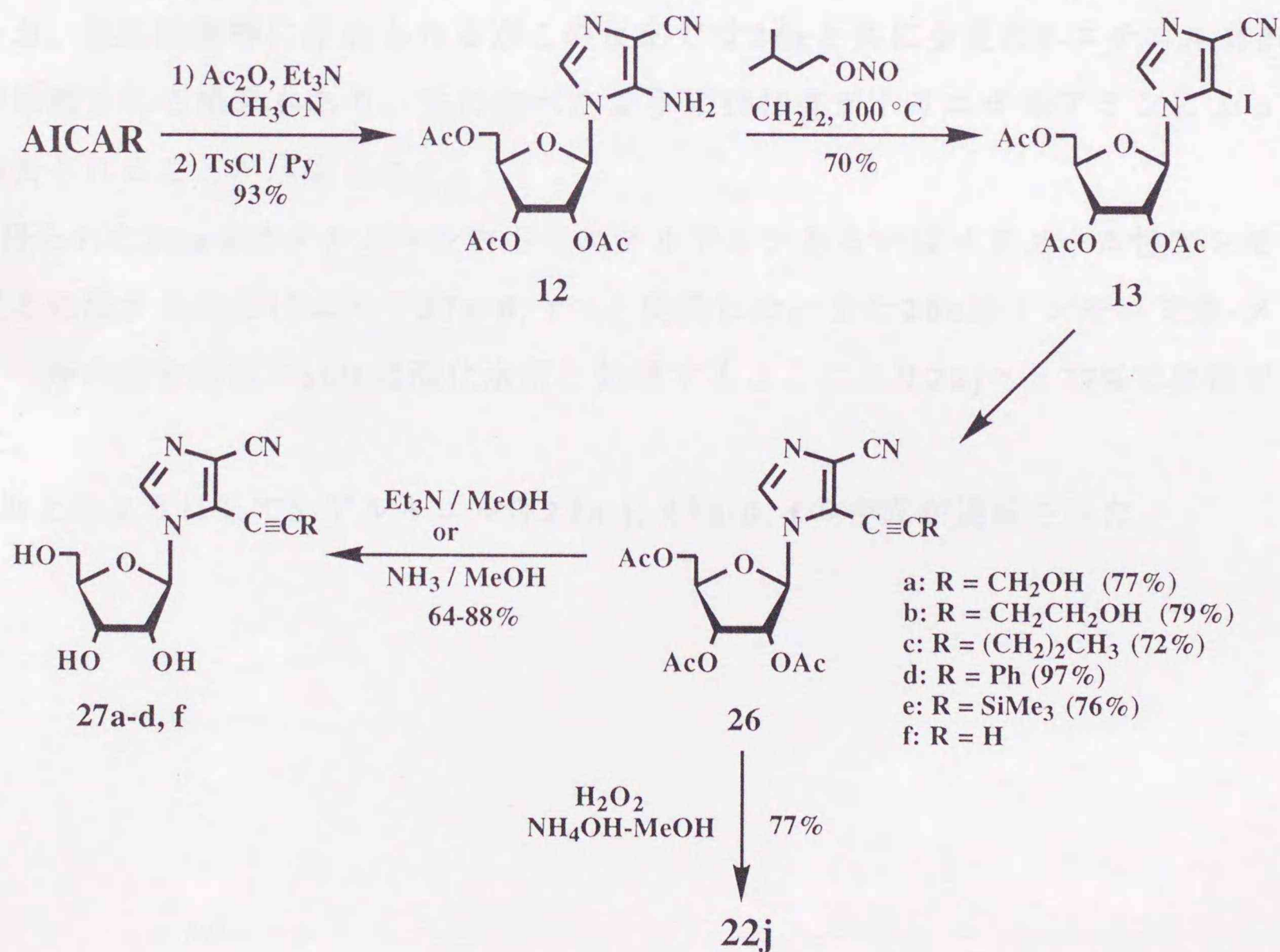
Scheme 12

そこで **17j** の合成については有機スズ試薬を用いて行なうことにした。この場合、反応が進行してもヨウ化水素は発生せず、ヨウ化トリブチルスズとしてトラップ

されるために反応を塩基非存在下で行なうことができる⁵⁵。別途合成した有機スズ試薬 **25**^{55b}をトリエチルアミン非存在下、ビスベンゾニトリルパラジウムジクロリドを用い**8**と処理したところ77%で**17j**を得ることができた。化合物**17j**は先と同様にメタノール性アンモニアで処理したところTMS基の除去も同時に起こり**22j**へと変換できた (Scheme 12)。

なお、合成したカップリング体のなかで**17c-e, f-g**についてはTLC上、Rf値が原料の**8**と極めて似ているために反応の進行をTLCによって確認することは困難であった。そこでこれらについてはuvスペクトルの極大吸収波長の変化によって反応の進行を追跡した。(8, 245 nm; **17c**, 266 nm; **17d**, 300 nm; **17e**, 267nm; **17f**, 268nm; **17g**, 268nm)。

以上、5-アルキニル-4-カルボキサミド体 **22**の合成ができたが、さらに著者は5-アルキニル-4-カルボニトリル体**27**の生物活性にも興味を持ち、その合成も行なうことにした (Scheme 13)。



Scheme 13

AICARの糖部水酸基をアセチル保護した後、ピリジン中トシルクロリドと室温で反応を行ない**12**を得た。ヨード化については先と同様、**12**のクロロホルム溶液を亜硝酸イソアミル-ジヨードメタンの混合溶液に滴下するという方法を取りヨード体**13**を70%の収率で合成できた。化合物**13**の構造はSrivastavaらの報告^{32a}と各種機器データが一致していることより確認した。

パラジウム触媒を用いた末端アルキン類との反応はいずれも収率良く5-アルキニル体**26a-e**を与えた。化合物**13**とのクロスカップリングにおいて注目すべき点は、TMSアセチレンとの反応で**26e**が83%で得られたことである。化合物**8**との反応では2量体**24a**が生成することを述べたが、**13**との反応ではそのような2量体は全く観察されなかった。イミダゾール4位がカルバモイル基の場合と異なり**13**の場合は電子求引性基であるシアノ基がイミダゾール4位に結合しているため、パラジウムへの酸化的付加が起こりやすく、またScheme 10に示した**19**のような5員環キレート錯体が形成されないために反応が速やかに進行し**26e**を与えたと考えられた。なお、反応時間等に左右されるがこの反応では**26e**と共に少量の5-エチニル体**26f**が単離される場合もあり、先に述べたようにTMS基がトリエチルアミンによって除去されることが示唆された。

得られた**26a-e**はメタノール中トリエチルアミンあるいはメタノール性アンモニアと処理することによって**27a-d, f**へと変換した。また**26e**はアンモニア水-メタノールの混合溶媒中30%過酸化水素と処理することにより**22j**へと77%で変換できた。

以上のようにして5-アルキニル体**22a-j, 27a-d, f**の合成が達成された。

第3節 5-アルキニルイミダゾールヌクレオシド類の細胞増殖抑制活性

以上合成した各種イミダゾールヌクレオシドのマウス白血病細胞 L1210細胞に対する *in vitro*での増殖抑制活性を検討した。細胞増殖抑制活性は50%増殖抑制を示す濃度、即ちIC₅₀を用いて表示した(Table 2)。

まず、5-アルキニル-4-カルボキサミド体**22a-j**に関しては**22j** (以下、EICARと称する)に極めて強い抑制活性が観察された。またイミダゾール5位アセチレン側鎖の置換基の立体的嵩高さが大きくなるに従い、抑制活性が低下しているが**22a-c, e**には依然強い活性が保持されている。

一方、5-アルキニル-4-カルボニトリル体**27a-d, f**に関しても4-カルボキサミド体と比較すると活性は低下するものの細胞増殖抑制活性が観察されており、またアセチレン側鎖の置換基に関しては同様にその立体的嵩高さが活性に影響していることが示唆された。

Table 2 Inhibitory effects of 5-alkynyl-1- β -D-ribofuranosyl-imidazole-4-carboxamides and -carbonitriles on the growth of murine L1210 cells *in vitro*

compd	IC ₅₀ ^a μ g / ml
22j (EICAR)	0.18
22a	0.70
22b	1.28
22c	2.29
22d	20.6
22e	4.8
22f	(18.9%)
22g	(-10.7%)
22h	(8.5%)
22i	(3.6%)

27f	1.9
27a	4.1
27b	3.3
27c	14.8
27d	80.3

^a IC₅₀ (μ g / ml) was given as the concentration required for 50% inhibition of cell growth. The number in the parentheses shows the growth inhibition rate at 100 μ g / ml.

白血病細胞に対して特に優れた活性の見られたEICAR、22a,bについてさらにヒト固形がん由来細胞に対する*in vitro*での細胞増殖抑制スペクトルをAICARアナログであるbredinin (6)と比較して検討した(Table 3)。先に述べたように6は現在、有用な免疫抑制剤として臓器移植患者に臨床的に用いられているが、同時に制がん活性に関しても注目された化合物であり、L5178Y, Hela S-3, RK-13等の培養細胞に対して*in vitro*で増殖抑制活性を示すことが報告されている⁵⁶。

Table 3 Inhibitory effects of 5-alkynyl-1- β -D-ribofuranosyl-imidazole-4-carboxamides on the growth of human tumor cells *in vitro*

Cell line	IC ₅₀ (μ g / ml)			
	EICAR	22a	22b	bredinin (6)
PC-3 ^a	96	54	>100	>100
PC-6 ^b	0.46	ND ^j	12	49
PC-13 ^c	86	44	26	>100
Lu-65 ^d	3.8	54	15	>100
KB ^e	12	7.5	9.5	>100
SW-480 ^f	3.3	3.8	6.2	42
T-24 ^g	0.88	8.8	15	>100
OST ^h	28	>100	51	>100
HT-1080 ⁱ	3.0	ND	>100	>100

^aHuman lung adenocarcinoma. ^bHuman lung small-cell carcinoma. ^cHuman large-cell carcinoma.

^dHuman giant-cell carcinoma. ^eHuman oral epidermoid carcinoma. ^fHuman colon adenocarcinoma.

^gHuman bladdertransitional-cell carcinoma. ^hHuman osteosarcoma. ⁱHuman fibrosarcoma. ^jNot determined.

今回検討を行なったcell lineに対して6が全く抑制効果を示さないのに対して、特にEICARはPC-6, Lu-65, SW-480, T-24, HT-1080培養細胞等に対して優れた活性を示し、白血病細胞のみならず固形がん細胞に対しても抑制効果を示すことが明かになった。

さらにTable 4には*in vitro*での各種がん細胞に対する細胞増殖スペクトルを5-fluorouracil (5-FU)⁵⁷と比較した結果を示した。5-FUは周知のとうり固形がん、特に乳がんや消化器がんなどの治療に臨床的に用いられている化合物である。今回合成したEICARは5-FUとは活性発現のメカニズムは異なっていると予期されるが種々のcell lineに対して極めて類似した制がんスペクトルを示した。またその活性は5-FUと同等、あるいはそれ以上であり、現在報告されているAICARアナログ

の中では最も強力なものであった。

Table 4 Inhibitory effects of EICAR and 5-FU on the growth of various mammalian tumor cells *in vitro*

Cell line	IC ₅₀ (μg / ml)	
	EICAR	5-FU
CCRF-CEM ^a	1.03	2.10
HL-60 ^b	0.23	1.33
K562 ^c	0.17	2.20
U937 ^d	0.11	0.11
RPMI 8226 ^e	0.44	0.07
QG-56 ^f	0.18	0.18
Calu-1 ^g	0.21	>3.3
QG-90 ^h	0.23	0.22
PC-8 ⁱ	0.54	0.42
KU-2 ^j	<0.1	0.28
COLO 205 ^k	0.11	0.10
HT 1376 ^l	0.14	0.58
PANC-1 ^m	0.16	0.22
HOS ⁿ	0.28	0.79
G-292 ⁿ	2.55	>3.3
Saos-2 ⁿ	4.23	0.78

^aHuman acute lymphocytic leukemia, ^bHuman promyelotic leukemia, ^cHuman chronic myelogenous leukemia, ^dHuman hystocytic lymphoma, ^eHuman myeloma, ^fHuman lung squamous-cell carcinoma, ^gHuman epidermoid carcinoma, ^hHuman lung small-cell carcinoma, ⁱHuman lung adenocarcinoma, ^jHuman renal-cell carcinoma, ^kHuman colon adenocarcinoma, ^lHuman bladder carcinoma, ^mHuman pancreas epitheloid carcinoma, ⁿHuman osteogenic sarcoma.

第4節 EICAR デオキシ誘導体およびEICAの合成

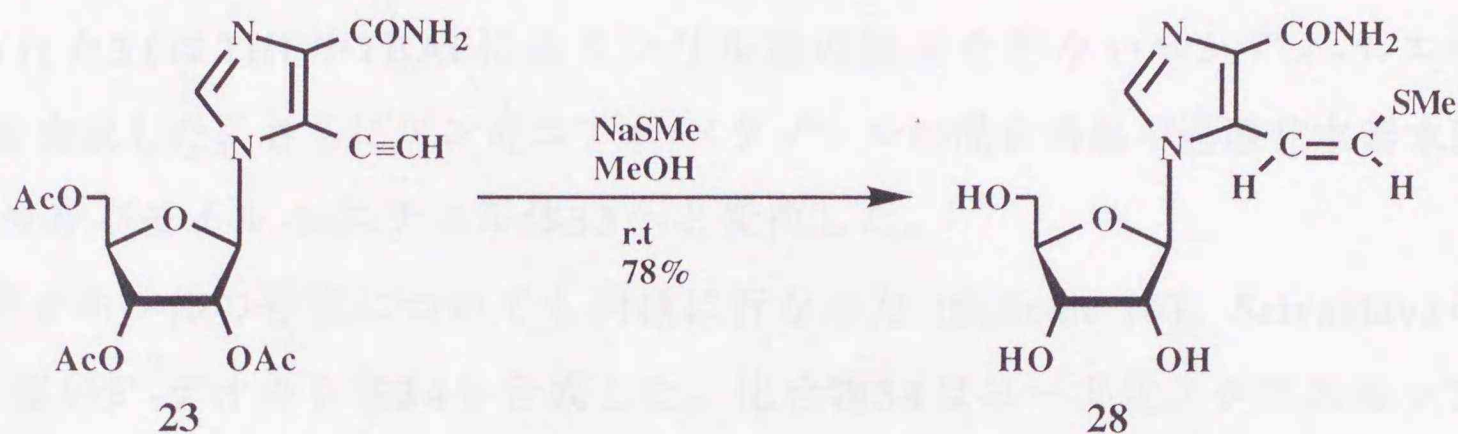
第3節で示したように5-アルキニルイミダゾールヌクレオシド類の中でEICARに期待通りの優れた制がん活性を見いだすことができた。そこで著者はEICARの示す生物活性がどのような作用機序に拠るものかに興味を持ち、その解明の一助として糖部変換体、及びアグリコンの合成を行なうことにした。

当初、著者はScheme 4に示したようにEICARに3つの阻害様式を期待した。その中でpath a, path bについては共に細胞内でリン酸化酵素によってリン酸体へと代謝される必要がある。EICARがこの経路によって活性を発現しているのかどうかを調べるうえで、代謝酵素が異なることが予想される2'-デオキシ体、あるいはリン酸化を受けない5'-デオキシ体を合成し、活性の検討を行なうことは非常に興味深いことと考えられた。一方、path cによって活性を発現するのならばリン酸化を受けないような基質にも同様の活性が期待できることになり、そのような点からも糖部変換体、アグリコンの合成は意義があると考えられた。またEICARの4-シアノ誘導体である**27f** (EICNR)にも白血病細胞に対する強い細胞毒性が見いだされており、その変換体についても併せて行なうことにした。

ところでAICARアナログの中でbredinin (**6**)については既に上述したような検討が行なわれており、5'-デオキシ体、及びアグリコンに**6**と同等の細胞増殖抑制活性があることが報告されている^{16b, 58}。このことについては5'-デオキシ体がヌクレオシドホスホリラーゼの基質となり、一旦アグリコンが生成し、これがアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (APRT)によってモノリン酸体へと代謝されることによると考えられている。

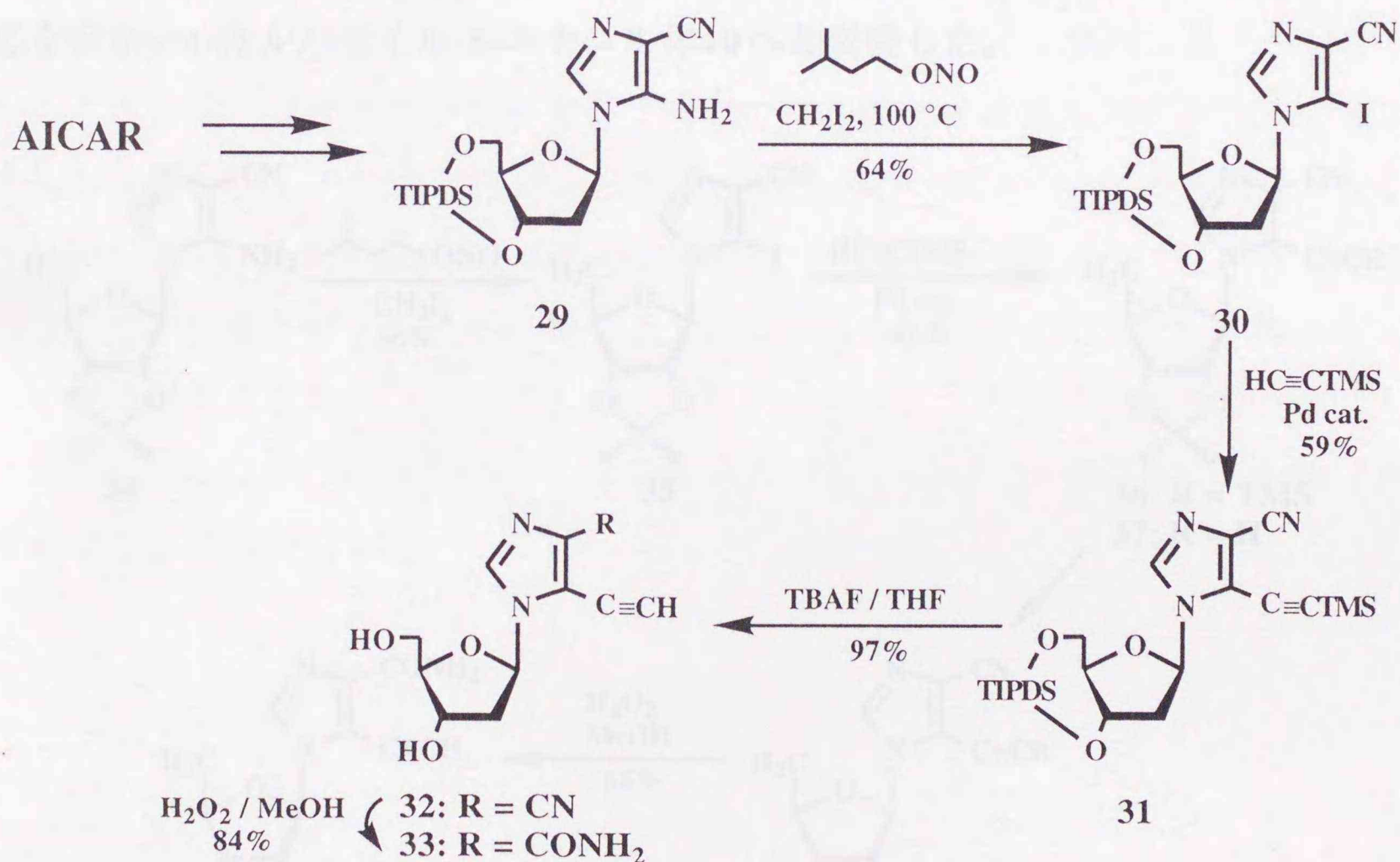
EICA誘導体合成に先立ち、著者はまず5位エチニル基が求核性分子に対してどのような反応性を示すかを調べる目的でナトリウムチオメトキシドとの反応を試みた(Scheme 14)。EICARの糖部水酸基をアセチル保護した化合物**23**をメタノールに溶解し、ナトリウムチオメトキシド水溶液を加えたところメチルチオビニル体**28**が78%の収率で得られた。この結果から5位エチニル基と酵素のシステインチオール基との反応の可能性が示され、EICA誘導体合成が意義のあるものと考えられた。なお、**28**の構造はFAB-MSにおいて m/z 316に分子イオンピークが観察され

たこと、また ^1H -NMRスペクトルにおいてアセチレン由来のプロトンシグナルが消失し、新たに6.63 ppmと6.34 ppmにビニルプロトンに由来するシグナルがダブルレットで観察され、そのカップリング定数が10.4 Hzであったことからジオメトリーは(Z)体であると決定した。



Scheme 14

さてEICARデオキシ誘導体の合成法についてはリボ体での方法がそのまま適応できると考えられる。まず、2'-デオキシ体の合成を行なった (Scheme 15)。



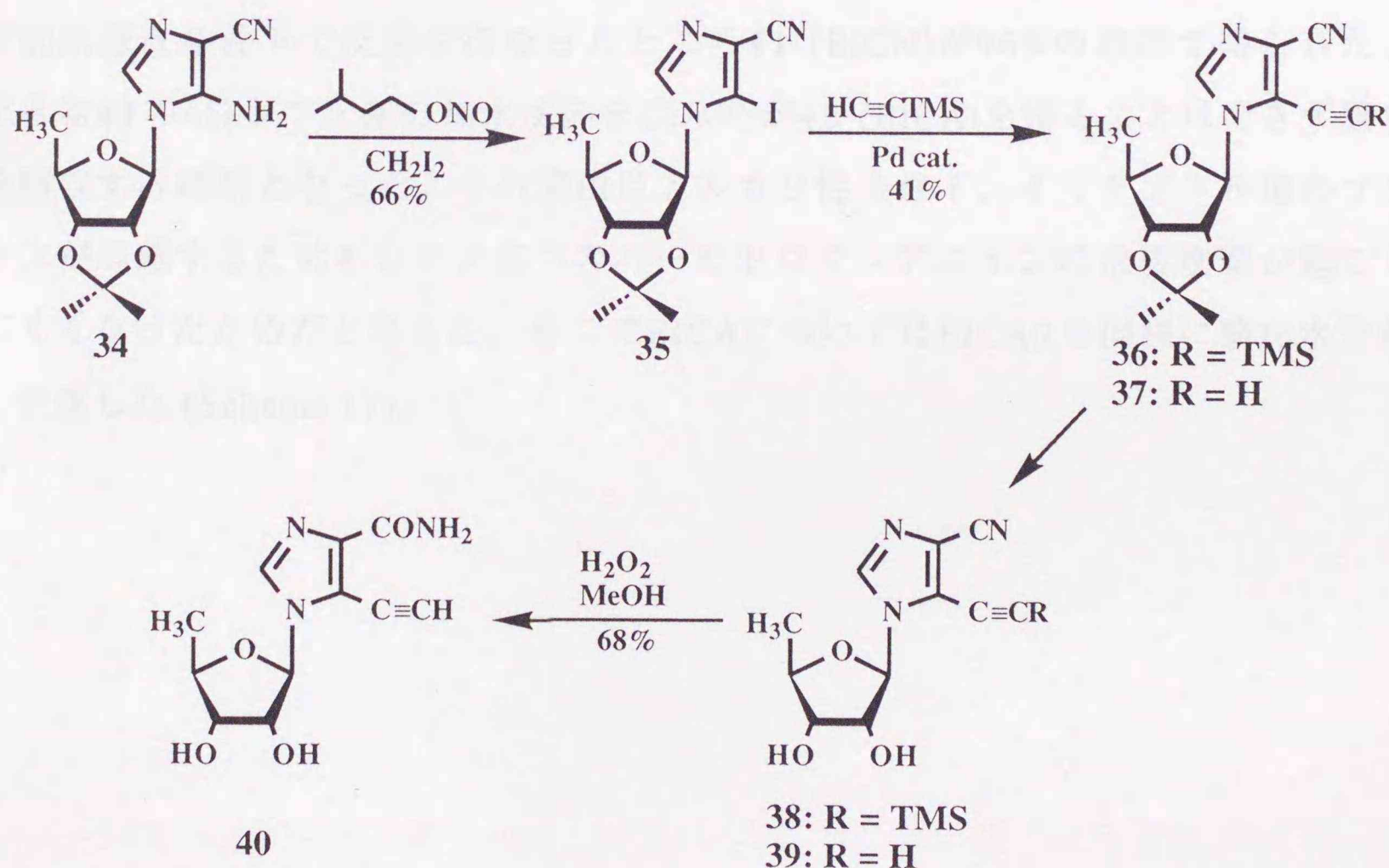
Scheme 15

Matsudaらの報告⁵⁹に従いAICARより2'-デオキシ体 $\mathbf{29}$ を合成した。化合物 $\mathbf{29}$ をジヨードメタン中ジアゾ化経由でヨード体 $\mathbf{30}$ へと変換した。5-アルキニル体 $\mathbf{31}$ の

合成についてはパラジウム触媒存在下、TMSアセチレンを用いて行なった。収率についてはリボ体**13**の場合と比較して若干低下したが2量体と見られる化合物はTLC上観察されなかった。しかしグリコシド結合が開裂したと考えられるスポットが観察されており、そのことが収率低下の要因と考えられた。

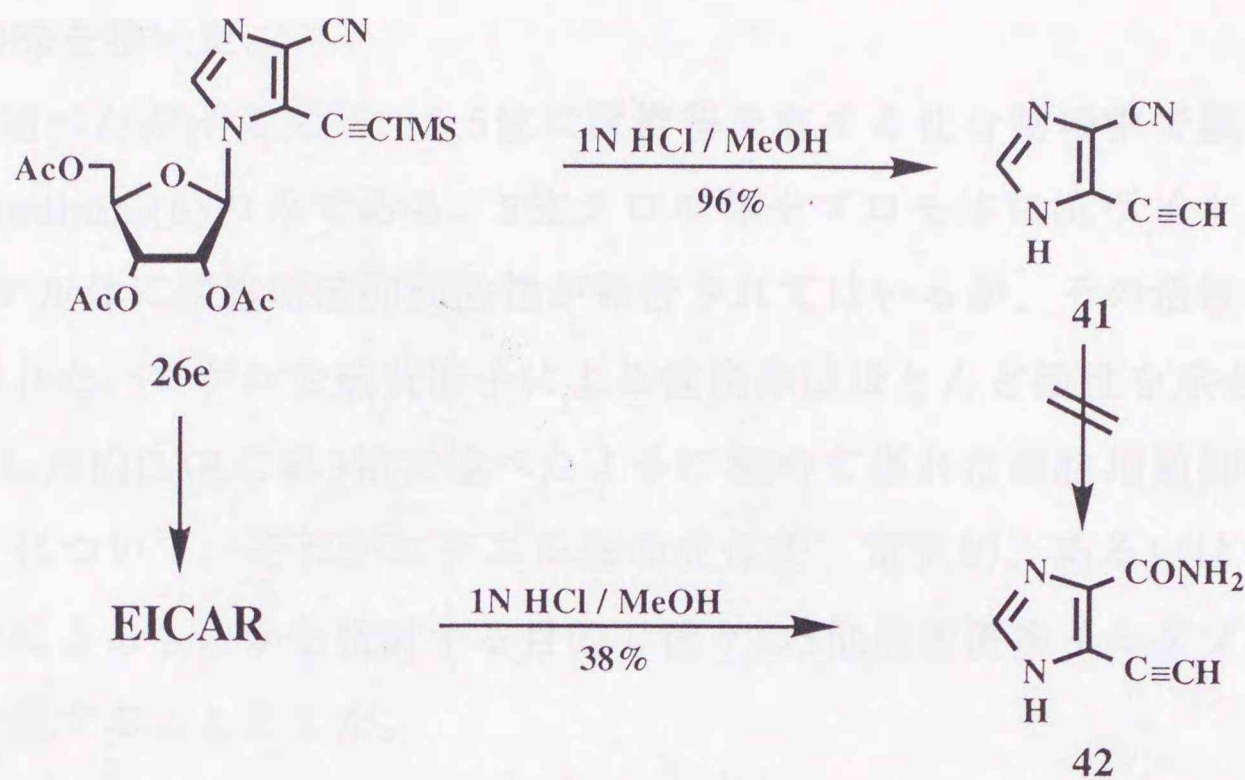
得られた**31**はTHF中TBAFによりシリル基の除去を行ない4-シアノ-5-エチニル体**32**を合成した。さらにアンモニア水-メタノールの混合溶媒中過酸化水素水によって4-カルバモイル-5-エチニル体**33**へと変換した。

5'-デオキシ体の合成についても同様に行なった (Scheme 16)。Srivastavaらの方法⁶⁰に従い5'-デオキシ体**34**を合成した。化合物**34**はヨード化、クロスカップリングを経て**36**へと変換した。4-シアノ-5-エチニル体**39**の合成についてはイソプロピリデン基を除去した後、トリメチルシリル基を除去する方法 (**36**→**38**→**39**)とまずトリメチルシリル基を除去する方法 (**36**→**37**→**39**)で行なったがいずれの方法でも収率良く**39**を得ることができた。化合物**39**は過酸化水素水によって加水反応を行ない4-カルバモイル-5-エチニル体**40**へと変換した。



Scheme 16

EICARのアグリコンの合成についてはグリコシル結合を開裂させることにより合成することとした。



Scheme 17

化合物**26e**を1N 塩酸水溶液-メタノールの混合溶媒中室温で攪拌した。しかしながらこの条件下ではグリコシル結合は安定であり目的物は得られなかった。そこで加熱還流条件下で反応を行なったところ**41** (EICN)が96%の収率で得られた。化合物**41**の4位シアノ基の加水反応を試みたが**42** (EICA)を得ることはできず原料を回収する結果となった。その理由はアルカリ性条件下、イミダゾール環のプロトンが解離するため4-シアノ基へのパーヒドロキシアニオンの求核攻撃が起こりにくくなったためだと考えた。そこでEICAについてはEICARを同様に酸加水分解し合成した (Scheme 17)。

第5節 5位炭素置換イミダゾールヌクレオシドの合成

さらに著者はEICARの活性発現におけるイミダゾール5位のエチニル基の必要性という点に興味を抱いた。

序論でも述べたがイミダゾール5位に置換基を有する化合物の中で顕著な活性を示すのはbredinin (6)のみである。5位クロル体やブロモ体に抗ウイルス活性が、また5位メチル体に細胞増殖抑制活性が報告されてはいるが、その活性は弱く、その他合成されたハロゲンや硫黄原子による置換体はほとんど活性を示さない³²。

今回合成したEICARに第3節で述べたように極めて優れた細胞増殖抑制活性が見られてことについて、それがエチニル基の立体的、電気的、あるいは化学的な反応性の何れによるものかを検討する目的で種々の5位炭素置換イミダゾールヌクレオシドを合成することとした。

Fig. 7に合成した7種の化合物を示した。ビニル体43は三重結合が二重結合に変化することによって活性にどのような影響が現われるかを調べるうえで興味を持たれた。シアノ体48はEICARとほぼ同程度の立体的な嵩高さを持つと考えられイミダゾール5位の立体的な要因を調べるうえで重要であると考えられた。その他アセチル体44、ヒドロキシメチル体45、ホルミル体46、オキシム体47、ブロモビニル体48の合成も行なうことにした。

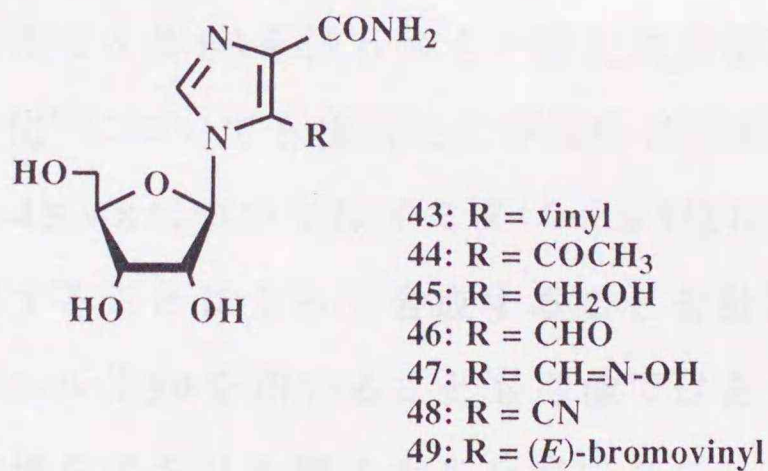
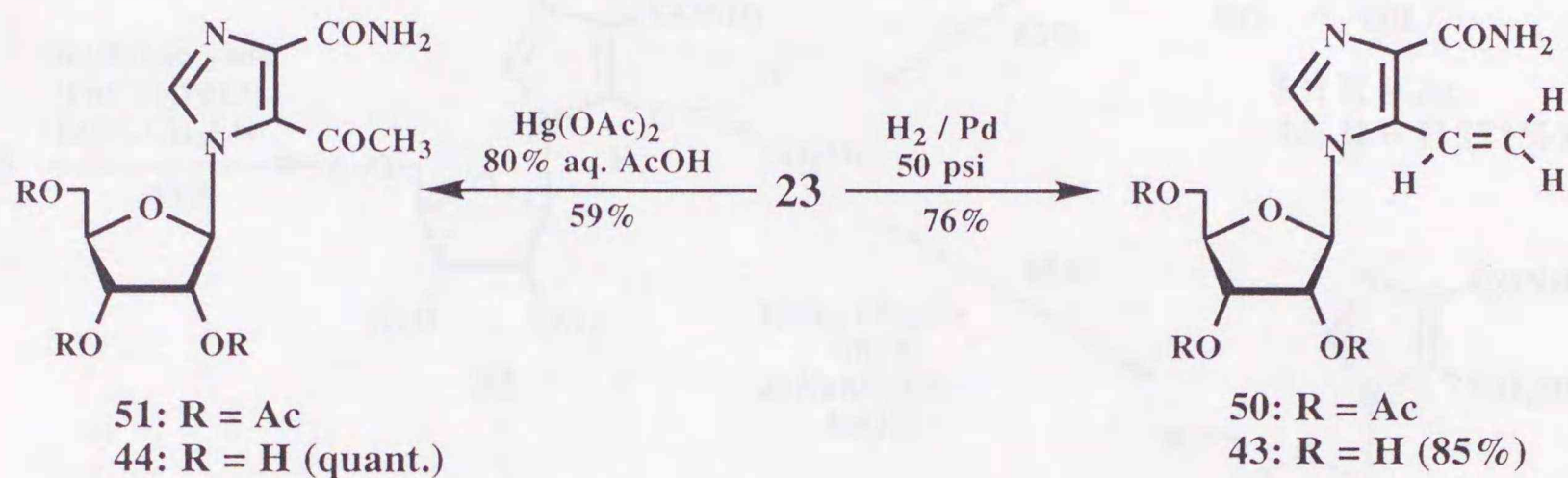


Fig. 7

化合物43, 44についてはエチニル体23より合成した。まず化合物23をエタノールに溶解し常圧水素雰囲気下、5%パラジウム炭素によって接触還元を試みた。しかし常圧下では反応は全く進行しなかった。そこで水素気圧を50 psiにあげ同

様に反応を行なったところビニル体**50**が76%の収率で合成できた。また化合物**23**を80%酢酸水溶液中、2当量の酢酸水銀と処理しアセチル体**51**を59%の収率で合成した (Scheme 18)。なお、それぞれの構造は各種機器分析により確認した。特に¹H-NMRにおいては共にアセチレンプロトンのシグナルが消失し、**50**ではビニルプロトンが、また**51**ではメチルプロトンのシグナルが新たに観察された。化合物**50**, **51**はそれぞれメタノール性アンモニアによって糖部アセチル基を除去し、ビニル体**43**, アセチル体**44**へと変換した。



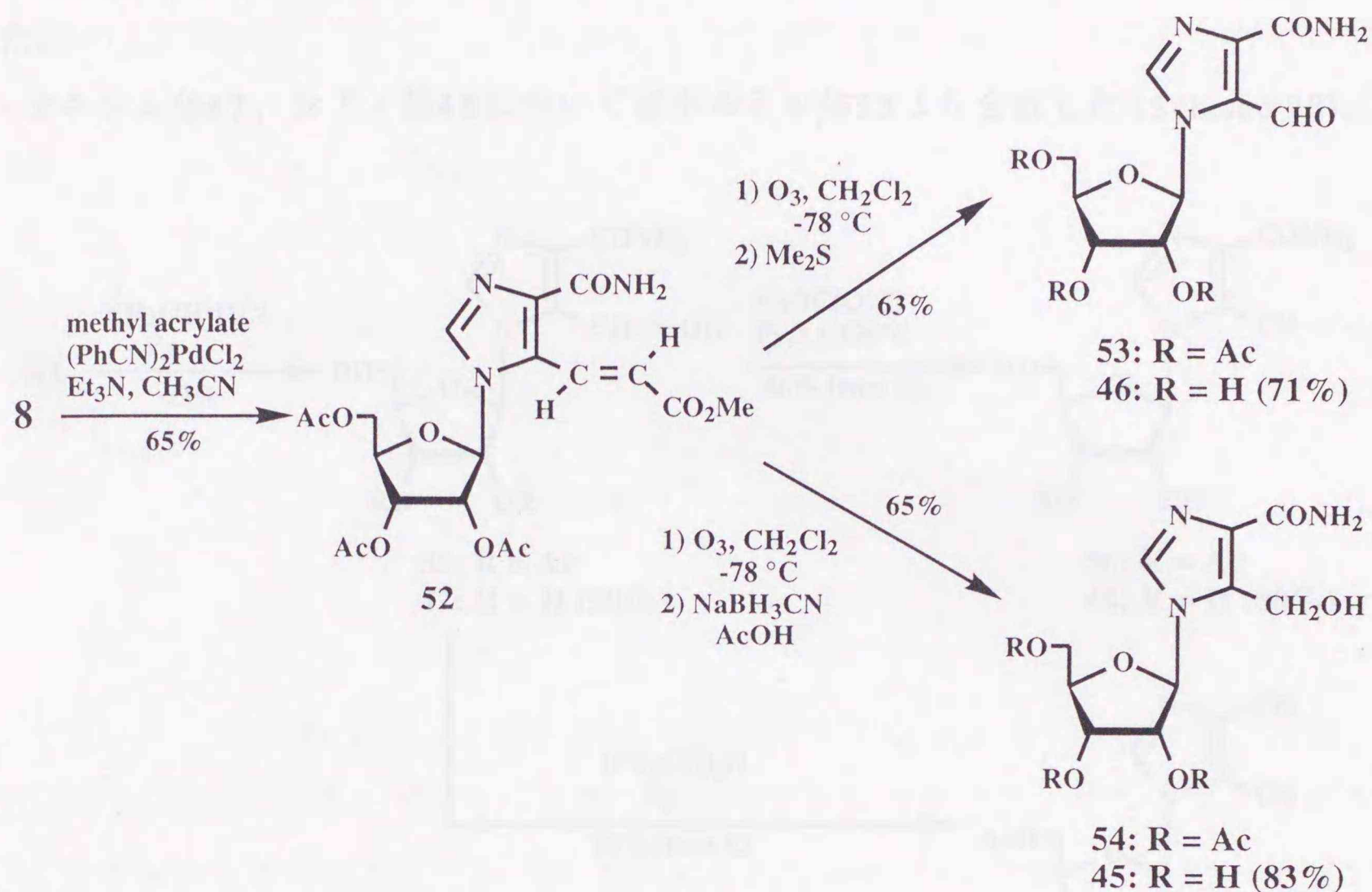
Scheme 18

シアノ体**48**の合成についてはヨード体**8**を用い Bu_3SnCN ⁶¹、あるいは KCN ⁶²を用いたクロスカップリング、また $t\text{-BuNC}$ を用いたラジカル反応によるシアノ化等を試みたが、原料回収、あるいは還元体を得る結果となり目的化合物を得ることはできなかった。またホルミル体**53**を得るべく一酸化炭素雰囲気下でのパラジウム触媒を用いたホルミル化⁶³についても検討したが反応は進行しなかった。

そこで5位炭素置換体**45-48**についてはイミダゾール5位にアルケニル基を導入しその部位をオゾン分解することによって合成することを計画した。オゾン分解を行なう基質としてはビニル体**50**を用いることも可能ではあるがより簡便に基質の供給を行なうために安価なアクリル酸メチルを用いクロスカップリングを行ないメチルアクリレート体**52**を合成し反応に用いることにした。

ヨード体**8**をビスベンゾニトリルパラジウムジクロリドを触媒としアクリル酸メチル存在下反応を行ない**52**を65%の収率で得た (Scheme 19)。化合物**52**の構造はマススペクトルにおいて m/z 453に分子イオンピークを示し、また¹H-NMRスペクトルで8.06ppmと6.94ppmにオレフィン由来のダブルットのシグナルおよび

3.82ppmにメチルプロトンに由来するシグナルが観察されたことより確認した。またオレフィン部のジオメトリーについてはカップリング定数が16.4 Hzであることより(*E*)体と決定した。



Scheme 19

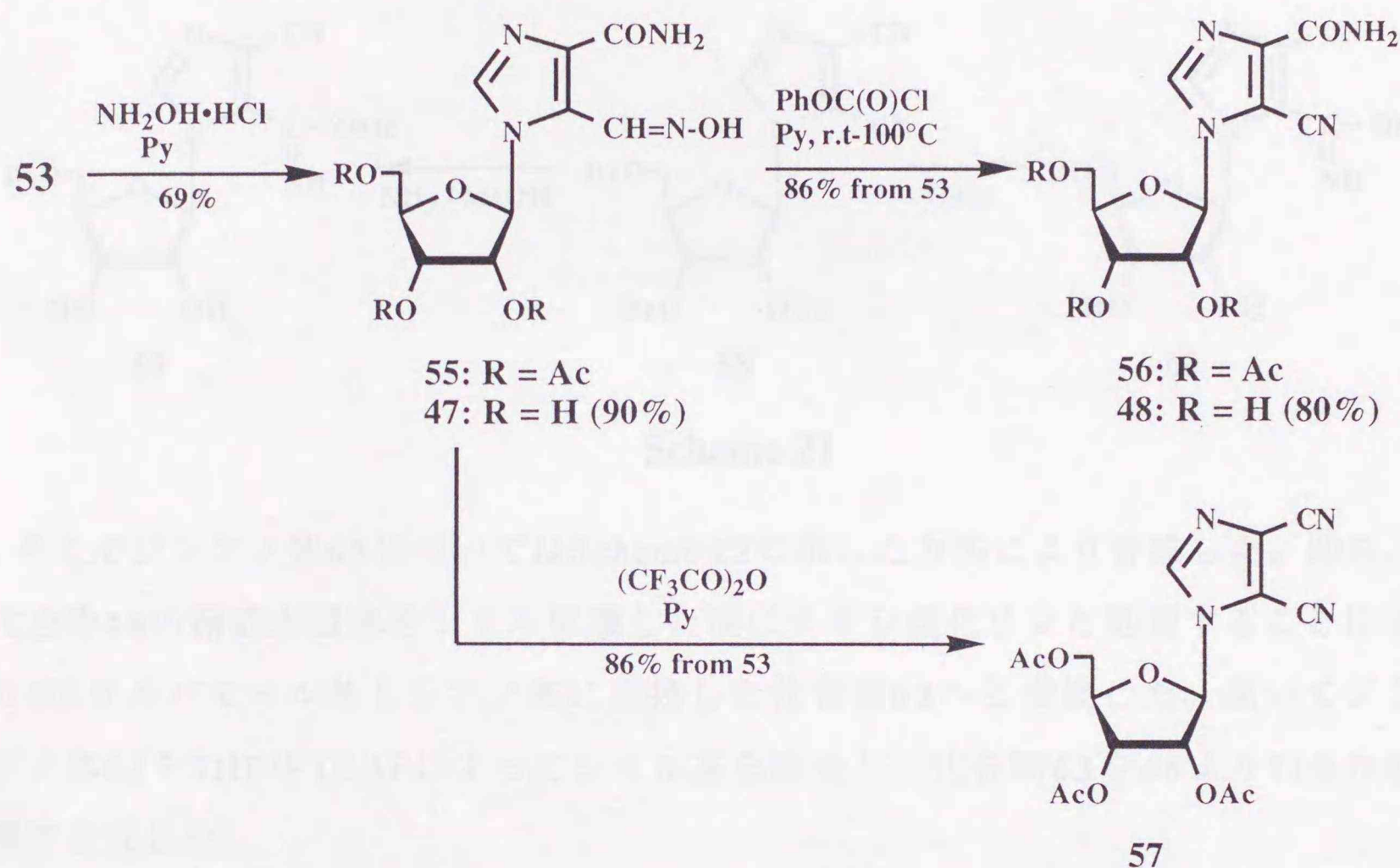
メチルアクリレート体**52**よりホルミル体**53**を得るべくオゾン分解を行なった。化合物**52**の塩化メチレン溶液を -78°C に冷却しオゾン-酸素気流を通じた。TLCで原料が消失し、新たにオゾニド体と予想されるスポットが観察されることを確認した後、ジメチルスルフィドを加えたところ**53**が63%の収率で合成できた^{注1}。化合物**53**の脱保護については短時間で保護基の除去を行なうために1 N MeONa-MeOH で行ないホルミル体**46**を71%の収率で得た。

一方、ヒドロキシメチル体**54**についてはジメチルスルフィドの代わりに NaBH_4 を還元剤として加え合成した。しかしこの条件では反応液がアルカリ性になるためにアセチル基が除去されたと考えられる高極性のスポットがTLC上多く観察さ

^{注1} 最近、著者らはオゾン分解反応を塩化メチレン-メタノールの混合溶媒で行なった場合、**53**の収率が85%にまで向上することを見いだした。

れ**54**は35%の収率でしか得られなかった。そこで酸性条件下で反応を行なうため NaBH_3CN の酢酸の懸濁液を加えたところ65%にまで収率を向上することができた。化合物**54**についてはメタノール性アンモニアと処理しヒドロキシメチル体**45**を得た。

オキシム体**47**、シアノ体**48**についてはホルミル体**53**より合成した (Scheme 20)。

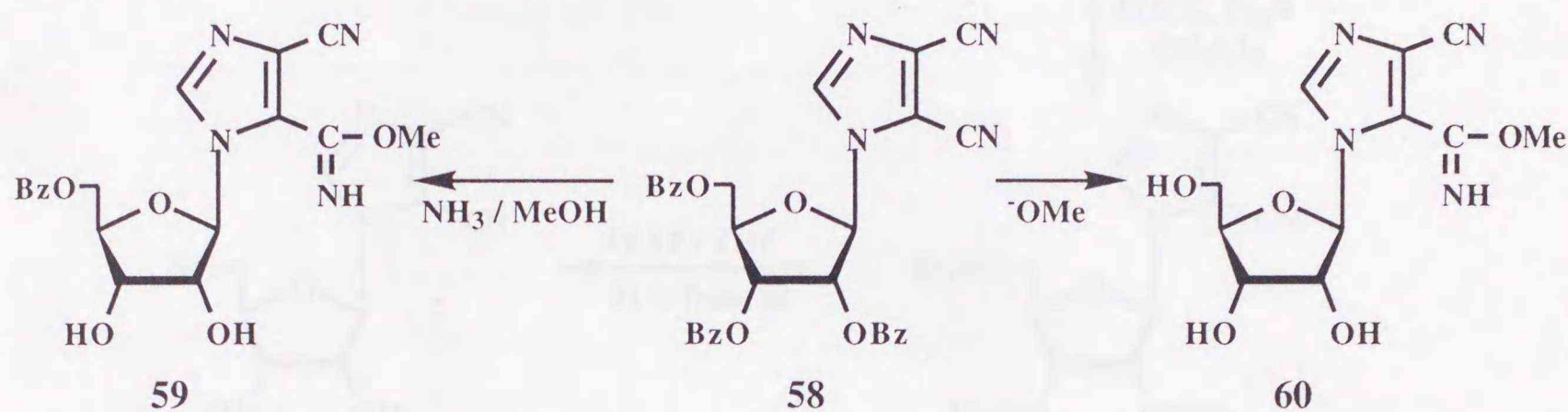


Scheme 20

化合物**53**をピリジン中 $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ と処理し**55**を69%の収率で合成した。化合物**55**はメタノール性アンモニアでアセチル基を除去しオキシム体**47**へと変換した。化合物**55**の脱水反応についてはまず水酸基をアセチル化、あるいはメシル化し DBU と処理したが反応は進行しなかった。一方、オキシム体**55**を合成し引き続き無水トリフルオロ酢酸と処理したところ4位カルバモイル基まで脱水されたジシアノ体**57**が86%の収率で生成した。そこでオキシム体**55**を合成後反応液に PhOC(O)Cl を加え室温で攪拌した後、さらに100 °Cで加熱したところ収率良く**56**へと変換できた。なお、この条件下では4位カルバモイル基が脱水された化合物は得られなかった。化合物**56**はメタノール中トリエチルアミンと処理することによ

り目的化合物である**48**に変換した。

さらに著者はジシアノ体**63**の合成を行なうこととした。化合物**63**は先に得た**57**の保護基を除去すれば合成できると考えられる。しかし既に、Ferrisらはジシアノ体**58**の合成を行ない、ベンゾイル基の除去をメタノール性アンモニア、あるいはナトリウムメトキシドで試みた際、イミノエーテル体**59**、**60**が得られることを報告している^{64, 注1} (Scheme 21)。

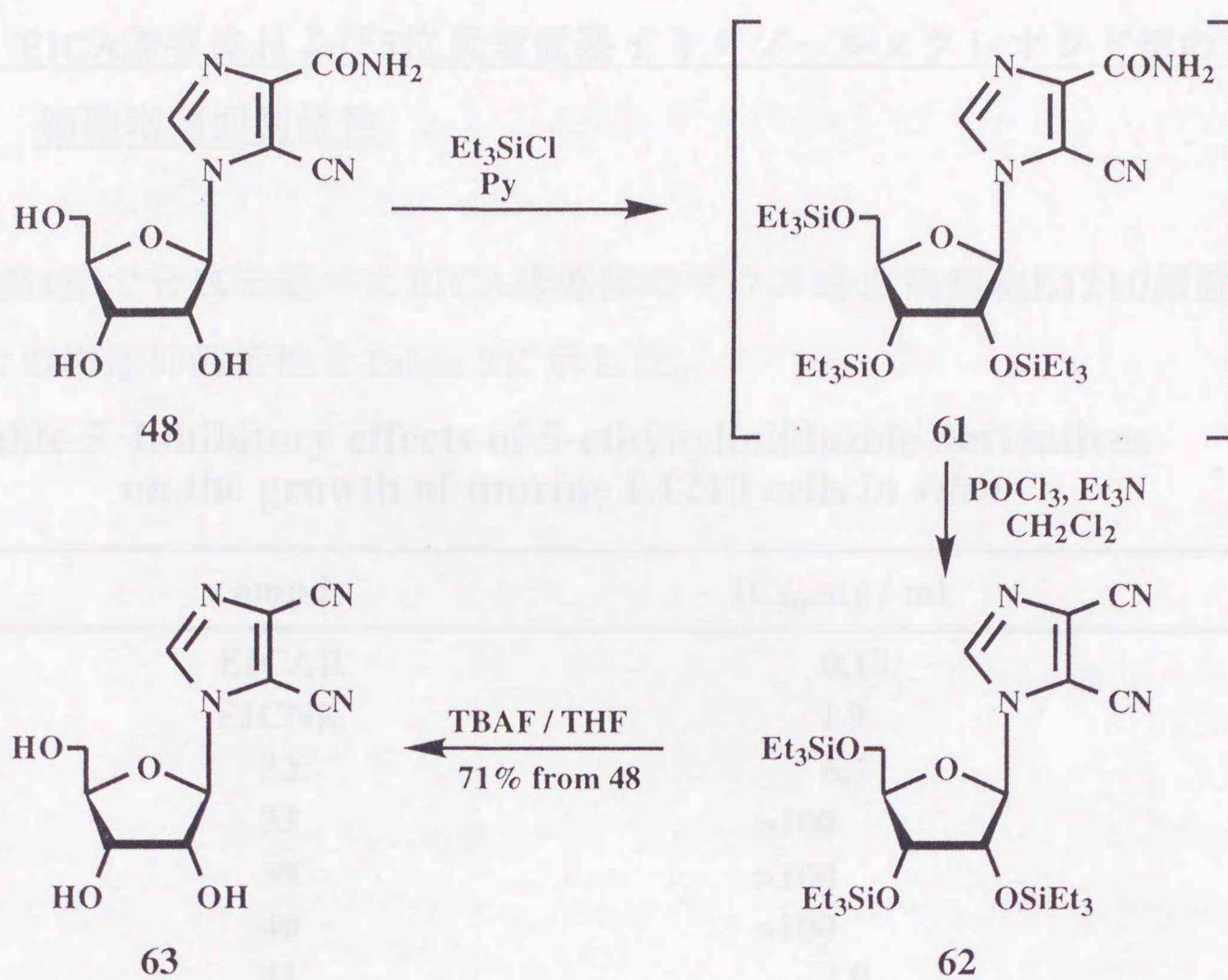


Scheme 21

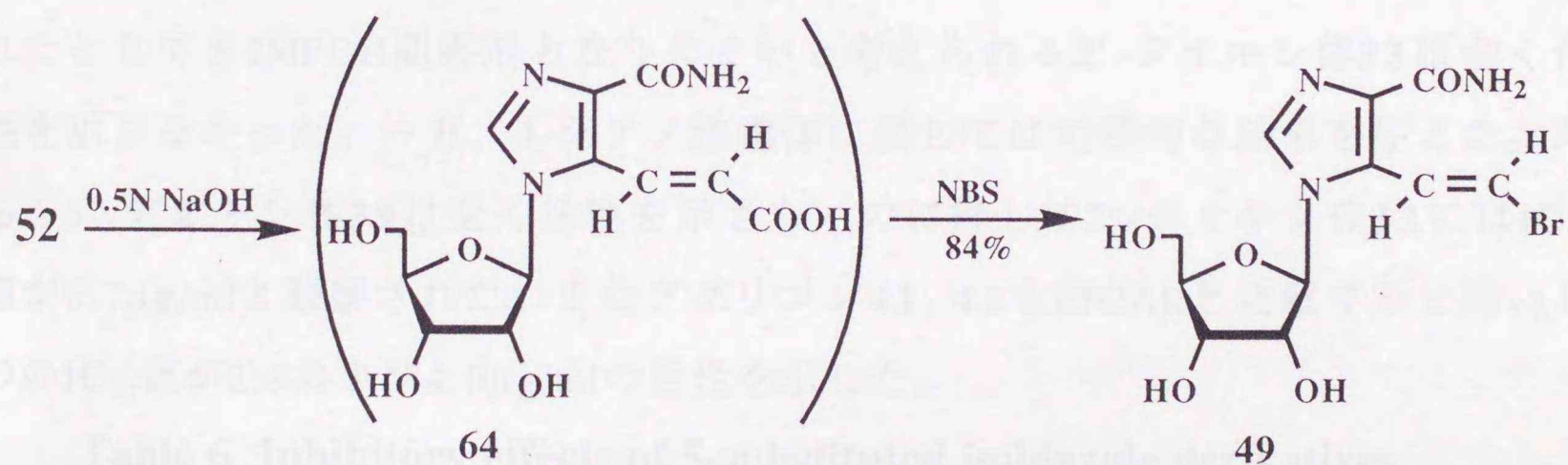
そこでジシアノ体**63**についてはScheme 22に示した方法により合成した。即ち、化合物**48**の糖部水酸基をシリル保護した後にオキシ塩化リンと処理することにより4位カルバモイル基をシアノ基に変換した化合物**62**へと変換した。続いてジシアノ体**62**をTHF中TBAFによってシリル基を除去し、化合物**63**を**48**より71%の収率で合成した。

またブロモビニル体**49**はJonesらの方法⁶⁵を用い**52**をアルカリ加水分解しアクリル酸体**64**に変換した後、NBSと処理することによって84%の収率で合成した (Scheme 23)。化合物**49**のオレフィン部のジオメトリーについても¹H-NMRスペクトルにおいてそのカップリング定数が14.3 Hzであったことより確認した。

注1 著者は化合物**57**をメタノール中トリエチルアミンと処理したが化合物**60**が75%の収率で得られ、ジシアノ体**63**は全く得られなかった。



Scheme 22



Scheme 23

以上、EICA誘導体、および5位炭素置換イミダゾールヌクレオシド類の合成ができたので、これら化合物のマウス白血病細胞L1210に対する細胞増殖抑制活性をEICARと比較した結果を次節で述べる。

第6節 EICA誘導体および5位炭素置換イミダゾールヌクレオシド類の

細胞増殖抑制活性

まず、第4節で合成を述べたEICA誘導体のマウス白血病細胞L1210細胞に対する *in vitro*での増殖抑制活性をTable 5に示した。

Table 5 Inhibitory effects of 5-ethynylimidazole derivatives on the growth of murine L1210 cells *in vitro*

compds	IC ₅₀ , µg / ml
EICAR	0.18
EICNR	1.9
32	6.7
33	>100
39	>100
40	>100
41	2.9
42	4.0

5'-リン酸体に代謝されない5'-デオキシ体**40**やリン酸化酵素によってリン酸化されたとしても IMPDH 阻害剤となりにくいと考えられる2'-デオキシ体**33**は全く活性を示さなかった。一方、4-シアノ誘導体に関しては対照的な結果を与えた。即ち、5'-デオキシ体**39**は全く活性を示さないのに対して2'-デオキシ体**32**にはIC₅₀値が6.7µg/mlと観察された。またアグリコン**41**, **42**もEICARと比較すると弱いもののIC₅₀値が2.9および4.0µg/mlの活性を示した。

Table 6 Inhibitory effects of 5-substituted imidazole derivatives on the growth of murine L1210 cells *in vitro*

compds	IC ₅₀ , µg / ml
EICAR	0.18
43	>100
44	>100
45	19
46	18.5
47	>100
48	>100
49	>100
63	>100

一方、第5節で合成を述べた5位炭素置換誘導体についての活性はTable 6に示したが、この結果からも明らかなように5-シアノ体**48**をはじめとし、ほとんどの化合物が全く抑制活性を示さなかった。

ヒドロキシメチル体**45**およびホルミル体**46**には弱いながら活性が観察されているが、その値はEICARと比較すると100分の1であった。

以上の結果から考察すると、EICARの活性発現には5'位水酸基のリン酸化が必要でありScheme 4において期待したアルキル化 (path c)による活性発現の可能性は少ないと考えられた。また、アグリコン**41**, **42**が示した活性についてはこれらが細胞内でフォスフォリボシルトランスフェラーゼ (例えばHGPRTやAPRT)によって5'-モノリン酸体に変換されることによると考えた。

デオキシ誘導体の中で**32**のみが増殖抑制活性を示したことについてはその詳細は不明であるが、**32**がプリンヌクレオシドフォスホリラーゼの基質となり細胞内においてアグリコン**41**が生成することによると考えている。一方、それに対して**33**が全く活性を示さないことについては**33**がプリンヌクレオシドフォスホリラーゼの基質にならないことを意味している^{注1}と考えている。

また5位炭素置換誘導体の中で5-アルキニル誘導体、特にEICARに極めて強い活性が観察されたことはイミダゾール5位のアルキニル基の存在は活性発現に非常に重要であり、さらにこの部位はIMPDHによって厳密に認識されていることが示唆された。このことからEICARが細胞内の求核性分子を無作為にアルキル化することによる作用発現の可能性は低いものの、IMPDHを特異的にアルキル化することについては決して否定できないものであり、EICARを5'-モノリン酸体へと導き、IMPDHの阻害様式の検討を行なう必要があると考えられた。また今回の実験結果からはEICARがScheme 4のpath a, bのどちらの作用機序によりIMPDHを阻害しているかについては不明であり、さらにEICARのNADアナログの合成し、活性の検討を行なうことも重要な課題である。

なお、EICARがリン酸体に代謝されIMPDHを阻害するという点に関してはBalzariniらは³Hラベルしたヒポキサンチンを含む細胞をEICARで処理した場合、

^{注1} EICARに関してはcalf spleen purine nucleoside phosphorylaseの基質とならないことが報告されており⁶⁵、塩基部の構造が同じである**33**についてもその可能性が考えられる。

ヌクレオチドプールにどのような変化が起こるかについて実験を行ない、その結果GTPプールが減少し、逆にIMP量が増加することを報告⁶⁶しておりIMPDH阻害剤であることの証明を行なっている (Table 7)。

Table 7 Incorporation of [G-³H]Hx into the IMP, GTP, AMP, ADP and ATP pools of EICAR-treated CEM cells

EICAR (μ M)	³ H in pool (d.p.m.)				
	IMP	GTP	AMP	ADP	ATP
0	301	58211	15085	89597	943488
0.2	468	63254	12899	66694	996850
0.5	5909	37427	11573	60403	962912
2.0	30090	15937	14696	62420	1021883
5.0	39419	8826	14768	63574	1040450

EICAR was incubared with CEM cells together with 0.74 μ M [G-³H]Hx for 5h.

さらに彼らはその報告の中でEICARのIMPDH阻害活性が現在までに知られている化合物の中で最も強力なものであると述べている。

第7節 EICARの抗RNAウイルス活性

第3節においてEICARが種々のがん細胞に対して優れた細胞増殖抑制活性を示したことを述べたが、AICARアナログにはribavirin (4)のようにRNA型ウイルスに対して有効な化合物も知られており、EICARの抗RNAウイルス活性をさらに検討した(Table 8)。

Table 8 Inhibitory effects of EICAR and Ribavirin on virus replication *in vitro*

Virus	Cell	IC ₅₀ (μg/ml)	
		EICAR	Ribavirin
Vesicular stomatitis	HeLa ^b	4	20
Coxsackie type B4	HeLa	2	40
Polio-1	HeLa	>400	>400
Respiratory syncytial	HeLa	0.2	6
Parainflu-3	Vero ^c	2	40
Measles	Vero	0.5	8
SSPE ^a	Vero	0.3	10
Reo type 1	Vero	1	100
Sindbis	Vero	2	70
Semliki forest	Vero	2	>400
Inful-A	MDCK ^d	0.9	8
Influ-B	MDCK	1	9

^a Subacute sclerosing panencephalitis virus. ^b A human epithelial cell line derived from a cervical carcinoma. ^c A simian fibroblast cell line derived from African green monkey kidney.

^d Madin-Darby canine kidney.

比較としてribavirin (4)の活性を併せて示したがこの化合物は現在、米国においてRSVやインフルエンザに対してエアロゾルとして臨床使用されている唯一の抗RNAウイルス剤である。

両化合物の活性値を比較するとEICARは*in vitro*で4の5-100倍の活性を有しており、RNAウイルスに対しても優れた阻害活性を示した。

また各種ヌクレオシドを共存させた場合、EICARおよび4の抗ウイルス活性(IC₅₀値)がどのように変化するかを調べた実験結果をTable 9に示したが、EICARと4の抗ウイルス活性は共にアデノシン、イノシン、シチジン、ウリジンが共存する場合には変化が見られないが、グアノシンが共存する場合には強く減弱するこ

とが明かとなった。このことはTable 7に示した結果と共に、EICARがIMPDHを阻害することによって活性を発現していることを強く支持している。

Table 9 Reversal of antiviral effects of EICAR and Ribavirin following addition of different nucleosides.

Compound and virus	IC ₅₀ (μg/ml) ^a of EICAR or ribavirin following the addition of:					
	No nucleoside	Guanosine	Adenosine	Inosine	Cytidine	Uridine
EICAR						
RSV	0.7	>200	0.7	0.7	0.7	0.7
Vesicular stomatitis	1	>400	2	2	0.7	2
Parainfluenza type 3	1	100	1	1	1	0.7
Reo type 1	2	>200	2	2	2	2
Sindbis	4	>400	2	4	2	2
Ribavirin						
RSV	8	90	8	8	4	4
Vesicular stomatitis	20	100	20	20	20	20
Parainfluenza type 3	40	100	40	40	20	40
Reo type 1	150	>400	150	150	200	100
Sindbis	70	>400	100	70	70	100

^a The nucleosides were added at 10 μg/ml, except for the RSV experiments, in which they were added at 100 μg/ml. At the concentrations used, the nucleosides had no direct effect on viral cytopathogenicity.

ところで最近、Robinsにより4の抗ウイルス活性の作用機序が詳細にまとめられた⁶⁷(Fig. 8)。4は先に述べたようにアデノシンキナーゼによってモノリン酸体(RMP)に代謝されIMPDHを阻害しGTPプールを涸渇させることによりmRNA合成を抑制し抗ウイルス作用を示すが、さらにトリリン酸体(RTP)にまで代謝されることが明かにされている。このトリリン酸体はGTPの基質アナログとしてグアニル酸結合部位に拮抗的に作用して、RNAウイルスやDNAウイルス特有のmRNAキャッピング酵素であるグアニリルトランスフェラーゼと N^7 -メチルトランスフェラーゼを阻害する結果、ウイルス蛋白質の合成を阻害したり、あるいは合成されたとしても、もはや機能をもたない未熟なウイルス蛋白質を生成させることが知られている。またVSVやインフルエンザウイルスの粒子内に存在するRNA依存RNAポリメラーゼ活性を抑制することも明かにされており、現在ではこのような複数の作用点により活性を発現すると考えられている。

今回合成したEICARについても4よりも優れた抗ウイルス活性スペクトルを示したこと、またpolio type 1 virus^{注1}に対しては4と同様に活性を示さなかったことからトリリン酸体にまで代謝されて活性を発現していることが十分に考えられるところであり、今後のさらなる作用機序解明の検討が期待されるところである。またEICARについては臨床使用が期待されるところではあるが、制がん活性および抗ウイルス活性の分離を行なうことが今後の重要な課題であると考えられる。

^{注1} Polio type 1 virusのmRNAはキャッピングを必要としない^{67a}。4がこのウイルスに対して活性を示さないのはそのような性質によるものと考えられており、EICARがこのウイルスにのみ活性を示さなかったということはEICARがウイルスのmRNAのキャッピングを阻害することを強く支持していると考えられる。

第2章 イミダゾジアゼピンヌクレオシド類の合成^{36, 37}

核酸代謝の制御を目的とした新規なヌクレオシド系抗生物質の探索研究においてUmezawaら⁶⁸、およびWooら⁶⁹のグループによって独自に発見されたcoformycin (65)、およびその2'-デオキシ体であるpentostatin (66)はその生物活性のみならず、その特異な構造からも大変注目された化合物である (Fig. 9)。

これら化合物は塩基部にイミダゾジアゼピン環という全く新規な骨格を有しておりジヒドロホモプリンヌクレオシドアナログとみなすことができる。65や66はアデノシンデアミナーゼ (ADA)に対して極めて強力な阻害活性を示し⁷⁰ (65; $K_i = 1 \times 10^{-11}$ M, 66; $K_i = 2.5 \times 10^{-12}$ M)、さらに66においては現在、慢性リンパ性白血病、および成人T細胞白血病に対して臨床治験が行なわれている⁷¹。

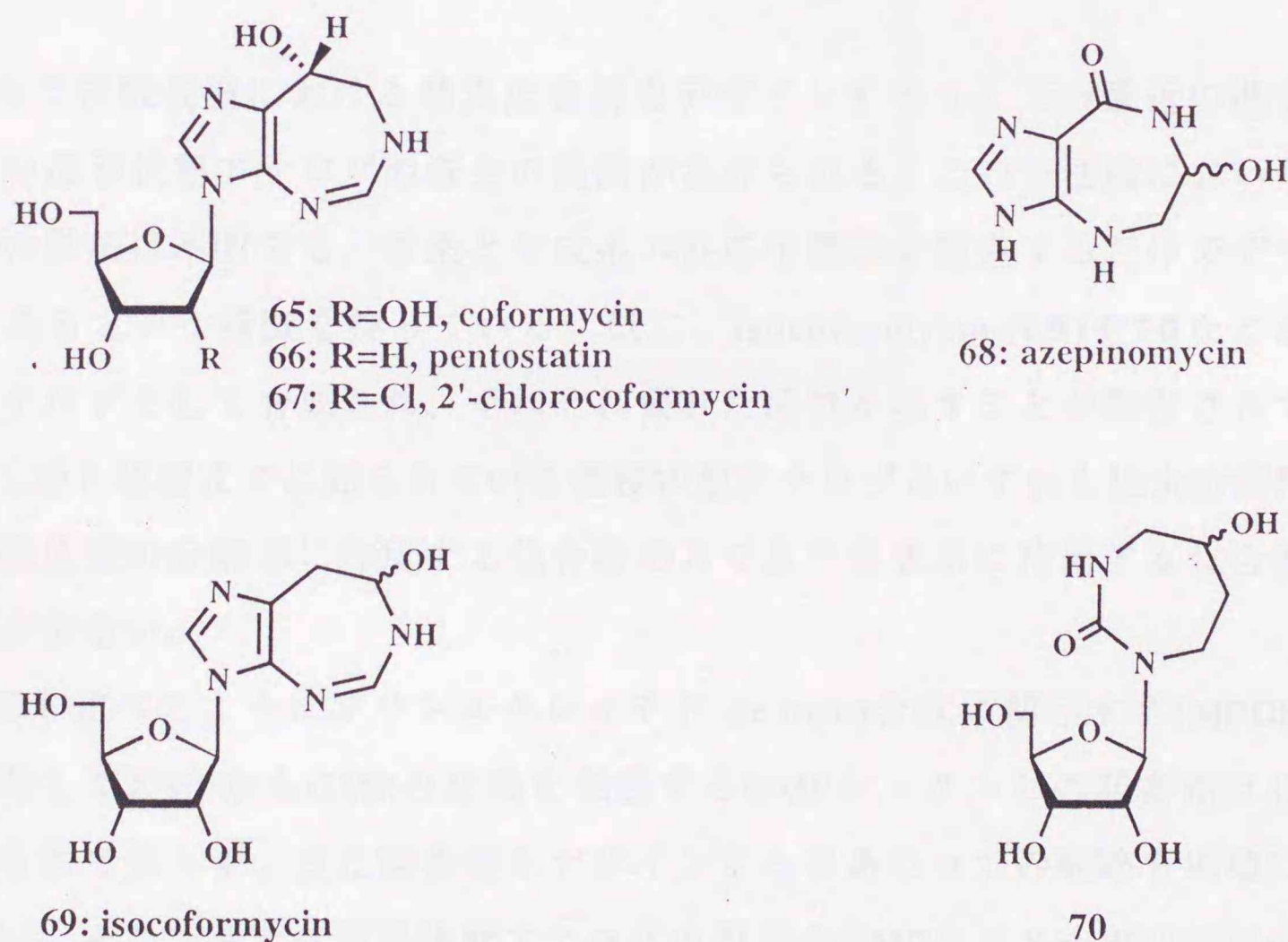
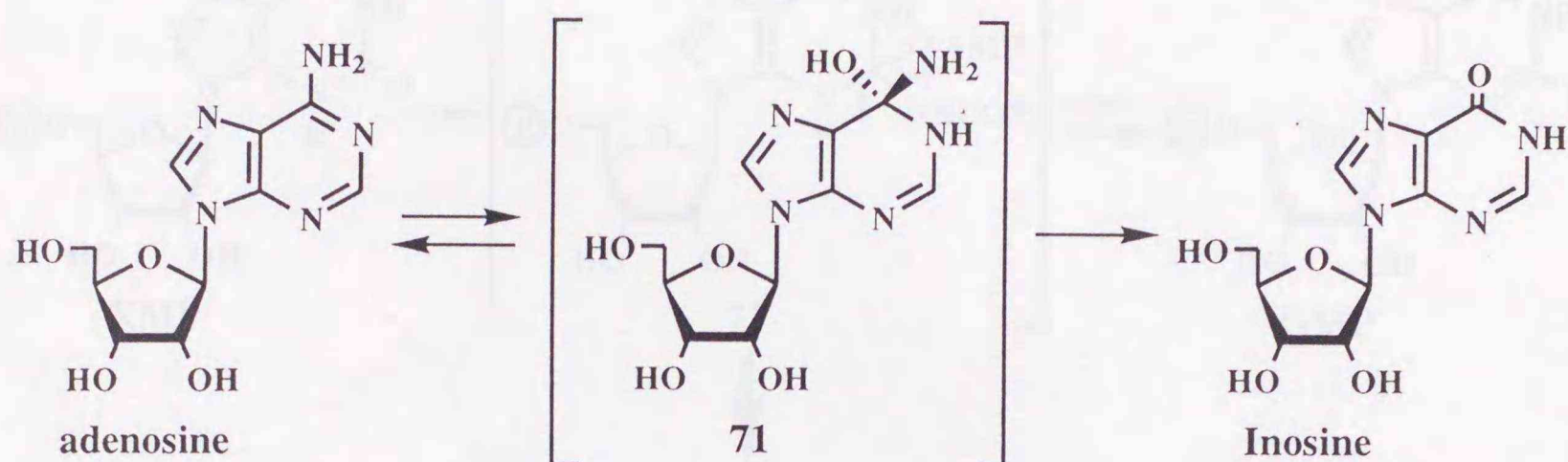


Fig. 9

ADAはアデノシンをイノシンに加水分解する酵素であるが、その変換過程において71のような6位炭素がtetrahedralな遷移状態を経由すると考えられている⁷² (Scheme 24)。65や66が示す活性はこの遷移状態との構造類似性によるものでありそのことからこれらは一般に遷移状態アナログと呼ばれている。同様の阻害様

式を有する化合物として**65**と同じADA阻害剤の2'-chlorocoformycin (**67**)⁷³や、グアナーゼ^{注1}阻害剤のazepinomyacin (**68**)⁷⁴がいずれも天然より単離されている(Fig. 9)。



Scheme 24

ところで核酸代謝における酵素阻害剤をデザインするうえでの最近の進歩の一つにこの遷移状態アナログの概念の展開があげられる。この方法論においては阻害様式の詳細は不明でも、原系と生成系の反応中間体を推定するだけでデザイン可能であるという特徴を持っている。既に、isocoformycin (**69**)や**70**などが遷移状態アナログとして合成され、それぞれ優れた活性を示すことが報告されている^{75, 76}。しかし現在までに知られている遷移状態アナログはいずれも加水分解酵素、即ち核酸代謝の分解系に作用する化合物のみであり合成系に作用する化合物は極めて例が少ない。

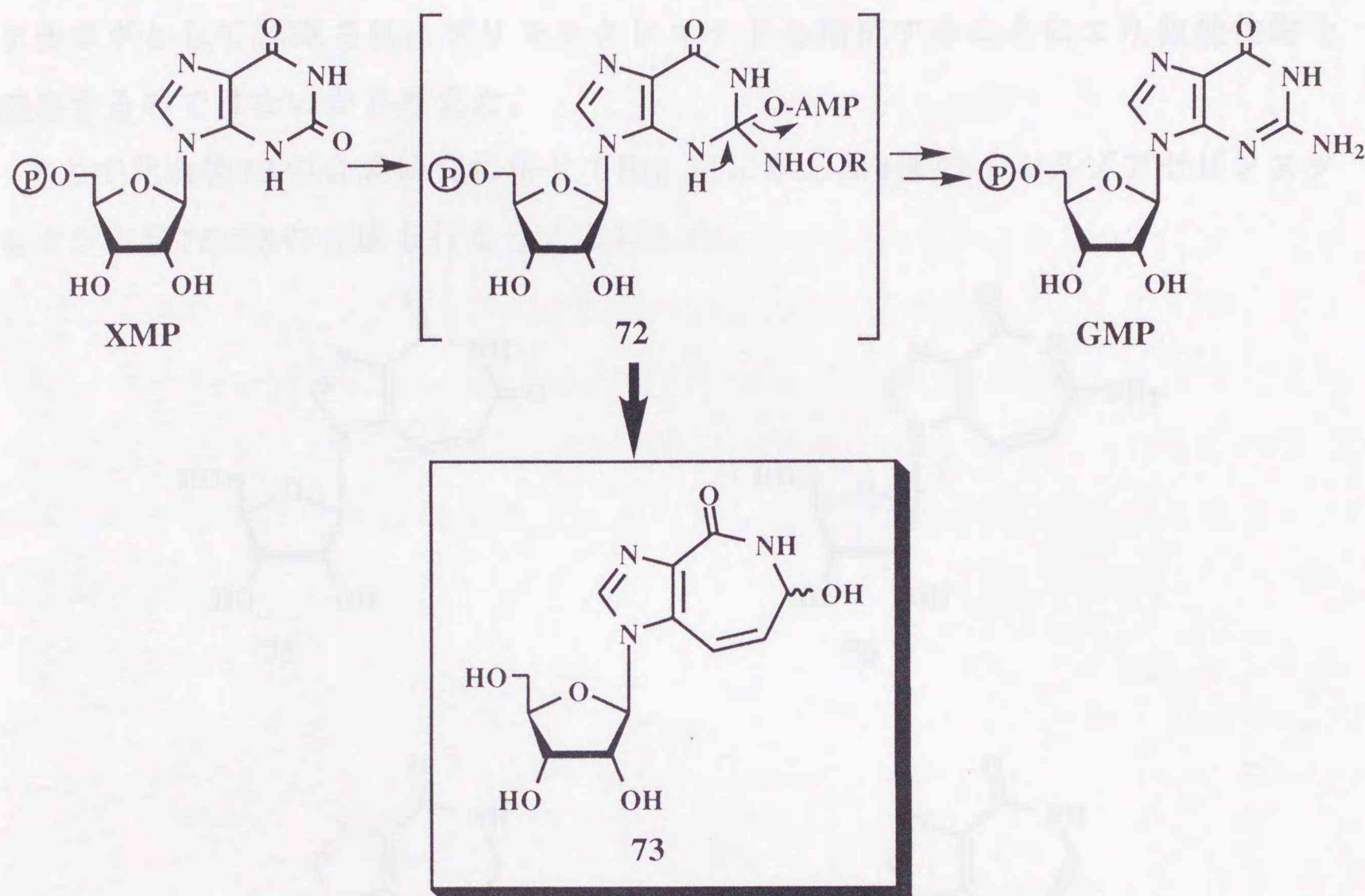
序論でも述べたようにプリンヌクレオチド *de novo*合成に関与するIMPDHの阻害剤に対してXMPからGMPの変換を触媒するGMPシンターゼの阻害剤はほとんど知られておらず、また阻害剤をデザインするにあたっての戦略も明確にされていない。そこで著者は遷移状態アナログの概念をGMPシンターゼ阻害剤のデザインに用いることを計画した。

既に、1958年LagerkvistはXMPからGMPの変換がScheme 25に示した経路によって進行することを報告している²²。その報告によれば、まずXMPの2位がAMP化されその後、グルタミン酸が2位を求核攻撃しAMPが脱離することによりGMPへの

^{注1} ADAと同様に核酸代謝の分解系に作用する酵素の一つで、グアニンをキサンチンに加水分解する。

変換が完了する。

著者はこの変換の際に生成すると予想される反応中間体72からイミダゾアゼピ
ンヌクレオシド73をGMPシンターゼの遷移状態アナログとしてデザインした。



Scheme 25

一方、近年 Hosmaneらは種々のイミダゾジアゼピン、トリアゼピンヌクレオシ
ド類の合成研究を行っており⁷⁷、その中で化合物74にマウス白血病ウイルスの
逆転写酵素に対し、*in vitro*でインターフェロンと同程度の強い活性があることを見
いだしている^{77a} (Fig. 10)。

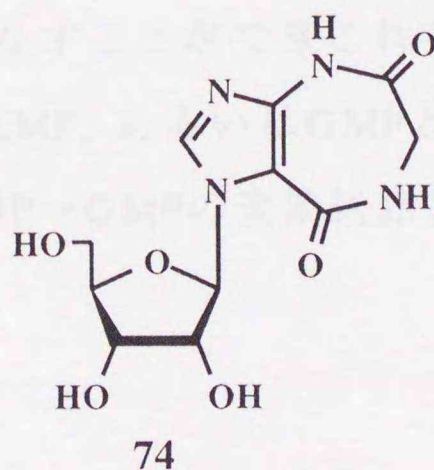


Fig. 10

その阻害様式については現在のところ全く不明であるが、著者はその構造から遷移状態アナログとしての作用によるものではないと考え、一つの阻害機序の仮説として**74**のような5:7員環リングシステムを有する化合物がプリンヌクレオチドアナログとして認識され、プリンヌクレオチドと拮抗することにより核酸代謝を阻害するのではないかと考えた。

そこで化合物**73**の合成研究に併せてFig. 11に示した4種のイミダゾアゼピンヌクレオシド類**75-78**の合成も行なうことにした。

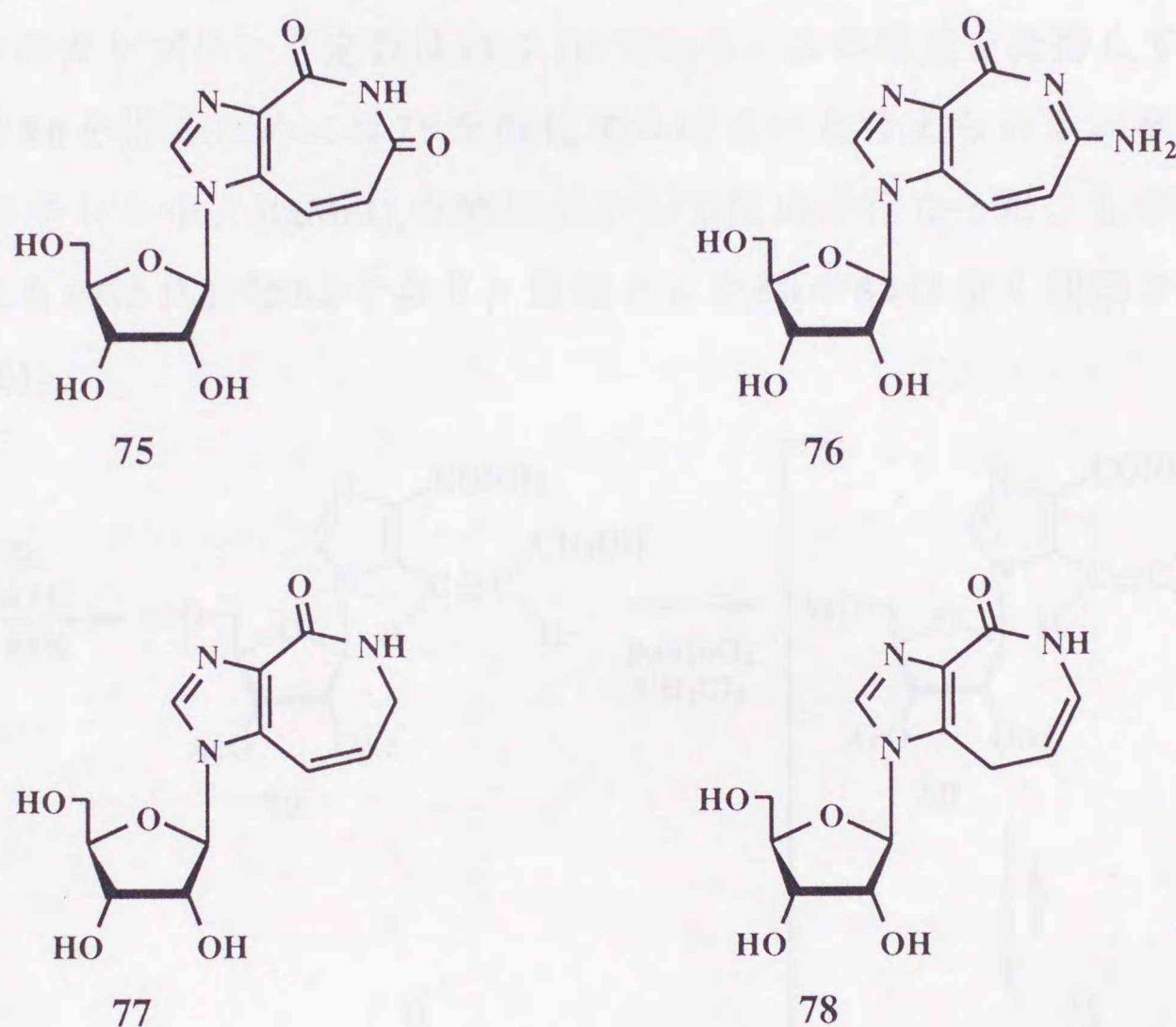


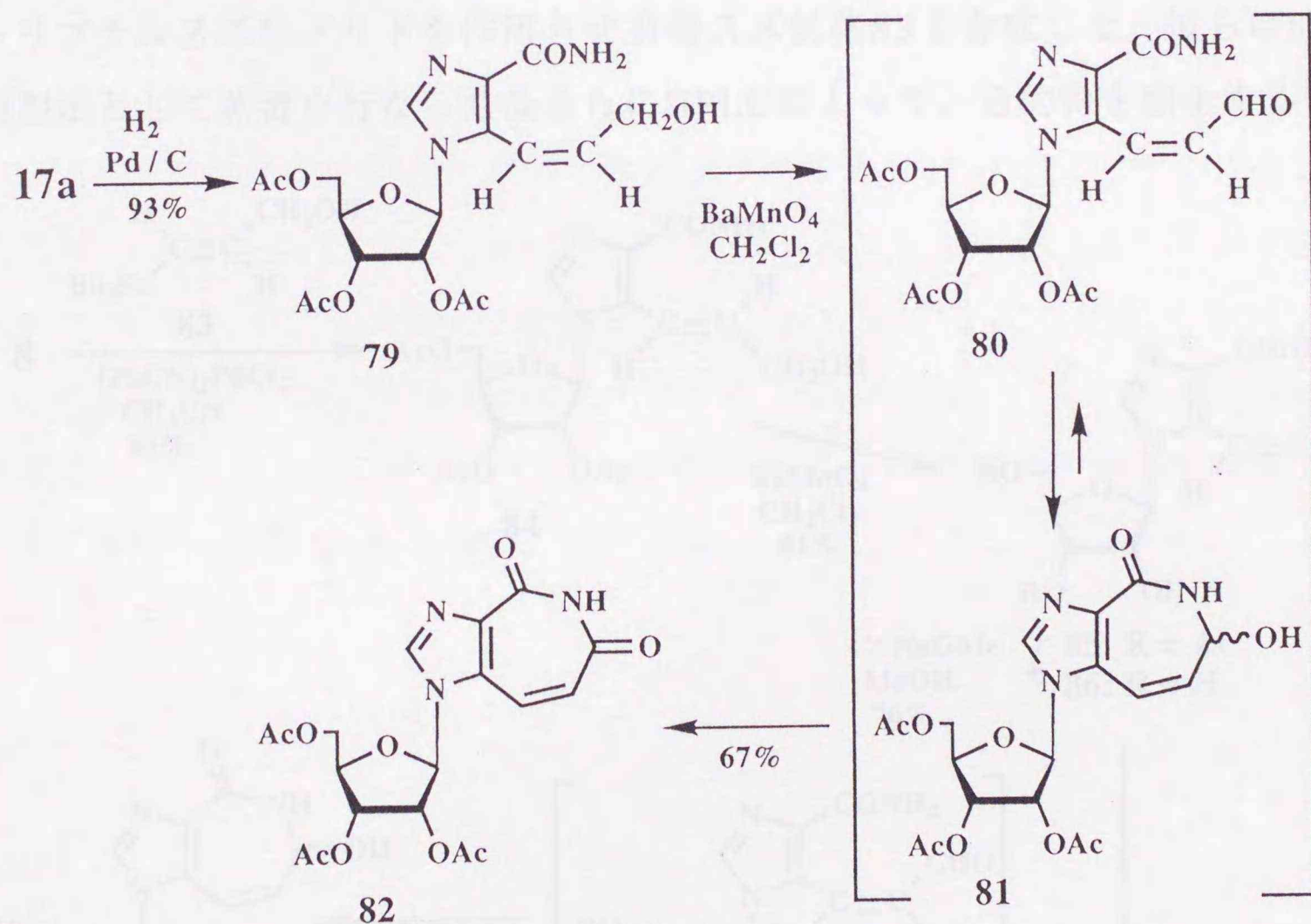
Fig. 11

これらは**74**のデアザアナログであると同時にイノシン、キサントシン、グアノシンの環拡張型の誘導体と見なすことができこれらがリン酸化酵素によってモノリン酸体に代謝され、IMP, XMP, あるいはGMPと拮抗するのであれば、本研究で著者が目的としたIMP→XMP→GMPの変換経路における新規な阻害剤になるものと考えた。

第1節 遷移状態アナログの合成

GMPシンターゼの新規な阻害剤としてデザインしたイミダゾアゼピンヌクレオシド73の合成にあたり著者は、73はアクロレイン体87と平衡状態にあると考え、先に合成したプロパギルアルコール体17aより導くことを計画した。

まず化合物17aをエタノール中、50 psiの水素雰囲気下接触還元を行ない(Z)-アリルアルコール体79を合成した。化合物79の¹H-NMRスペクトルにおいてオレフィンプロトンのカップリング定数は11.7 Hzであり、この構造を支持している。アクロレイン体80を得るためには79を酸化すればよいと考えられる。そこで化合物79を塩化メチレン中、BaMnO₄を酸化剤として反応を行なった。しかしこの反応で得られたものは化合物82であり、目的とした80や81は全く観察されなかった(Scheme 26)。



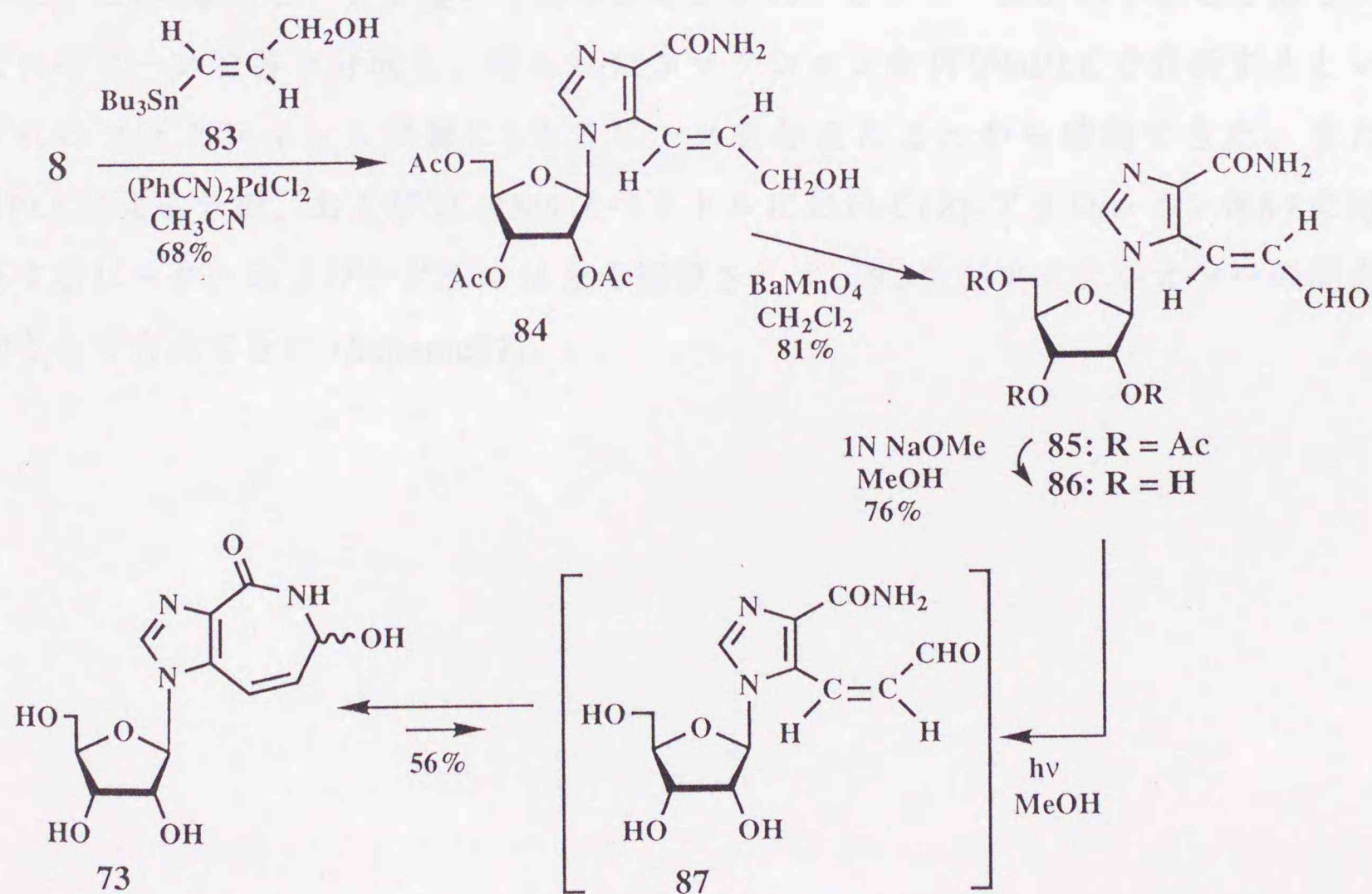
Scheme 26

化合物79の酸化反応において82が得られたのは以下の理由によるものと考えた。即ち、酸化反応によってアクロレイン体80が生成し、さらにこの化合物はイミダゾール4位のカルバモイル基の攻撃により環化して81となる。しかし81は分子内

にアリルアルコールユニットを有するため、さらに82にまで酸化されたというものである。

目的化合物73を得るためには酸化反応を閉環反応より以前に行なう必要があると考え、イミダゾール5位に(E)-ヒドロキシプロペニル基を導入することにした。化合物17aより(E)-アリルアルコール体84を得ることは困難であると考えられたのでヨード体8を用いたクロスカップリングを検討した。第1章でアクリル酸メチルが8と反応し(E)-メチルアクリレート体52を与えることを述べたが、同様の反応がアリルアルコールについても進行すれば84を得ることができると考えられる。しかしアリルアルコールを用いたカップリングは全く進行せず、またアクロレインジメチルアセタールについても検討したが同様に原料を回収する結果となった。

そこで化合物84の合成についても有機スズ試薬を用いることにした。まず、Jungらの方法⁷⁸にしたがいプロパギルアルコールに対してAIBN存在下、1.3当量のトリブチルスズヒドリドを作用させ有機スズ試薬83を合成した。彼らは83の単離精製法として蒸留を行なった後さらにHPLCによって、目的物を副生する位置



Scheme 27

および立体異性体と分離している。著者は反応液をシリカゲルカラムにアプライしヘキサン溶媒で溶出し**83**をグラムスケールで単離精製することに成功した。

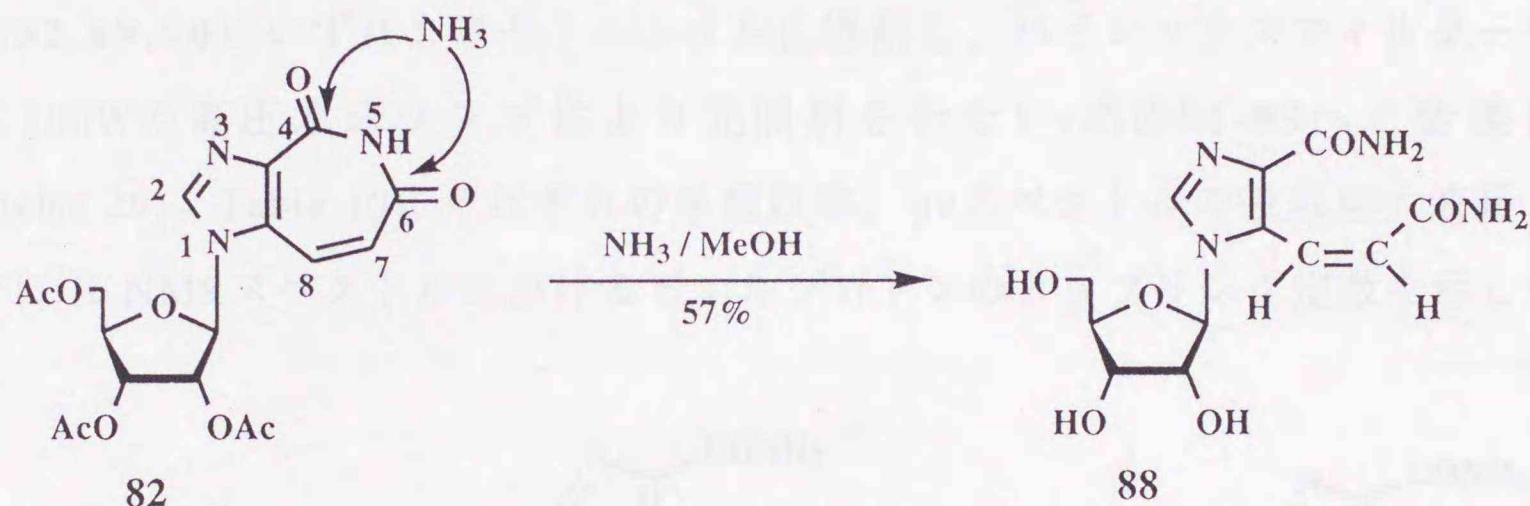
ヨード体**8**に対してパラジウム触媒存在下、有機スズ試薬**83**を用いクロスカップリングを行なったところ(*E*)-アリルアルコール体**84**を68%で得ることができた。化合物**84**の¹H-NMRスペクトルの化学シフトは先の(*Z*)体**79**とは異なっており、特にオレフィンプロトンのカップリング定数は16.5 Hzでありスズ試薬のジオメトリーが保持される結果となった。

化合物**84**はBaMnO₄^{注1}による酸化を行ない、引き続き糖部保護基を除去し(*E*)-アクロレイン体**86**へと変換した。先の結果から考えると化合物**86**を(*Z*)体へと異性化すれば目的物を得ることができる。化合物**86**はuvスペクトルにおいて314 nmに吸収極大を示すことを考慮し、**86**をメタノールに溶解し、パイレックスフィルターを通して100Wの高圧水銀ランプにより30分間光照射を行なった。その結果、TLCで原点性の化合物を与え、HPLCによって分析を行なったところ、イミダゾアゼピン環の6位におけるジアステレオマーと思われる2種のメインピークが観察された。この2本のピークが遅い平衡にあるジアステレオマーに対応することはそれぞれのピークを各々分取し、得られたフラクションを再びHPLCで分析するといずれのフラクションも同様に2本のピークを与えたことから確認できた。またHPLCによる分析、および¹H-NMRスペクトルにおいて(*Z*)-アクロレイン体**87**に対応するピーク、およびシグナルは全く観察されず、**73**をジアステレオマーの混合物として合成できた (Scheme27)。

注1 二酸化マンガンを用いても反応は進行するがBaMnO₄と比較して反応時間が長く、また過剰の試薬を必要とするため、酸化成績体が試薬に吸着され収率が低下する結果を与えた。

第2節 プリンヌクレオチド拮抗型イミダゾアゼピンヌクレオシドの合成

第1節において得られた**82**の糖部水酸基の保護基を除去すればキサントシン型イミダゾアゼピンヌクレオシド**75**を得ることができる。そこで化合物**82**をメタノール性アンモニアで処理しアセチル基の除去を試みたところ**75**は得られずにTLC上、極性の高い化合物を与えた。この化合物の構造は¹H-NMRスペクトルにおいて7.66, 7.27, 7.09, 7.05ppmにそれぞれブロードシングレットで2組のアミドプロトン由来のシグナルが観察され、またオレフィンプロトンのカップリング定数が12.1 Hzであること、さらにmassスペクトルにおいて m/z 312に分子イオンピークを示したことから(Z)-アクリルアミド体**88**であると決定した (Scheme 28)。



Scheme 28

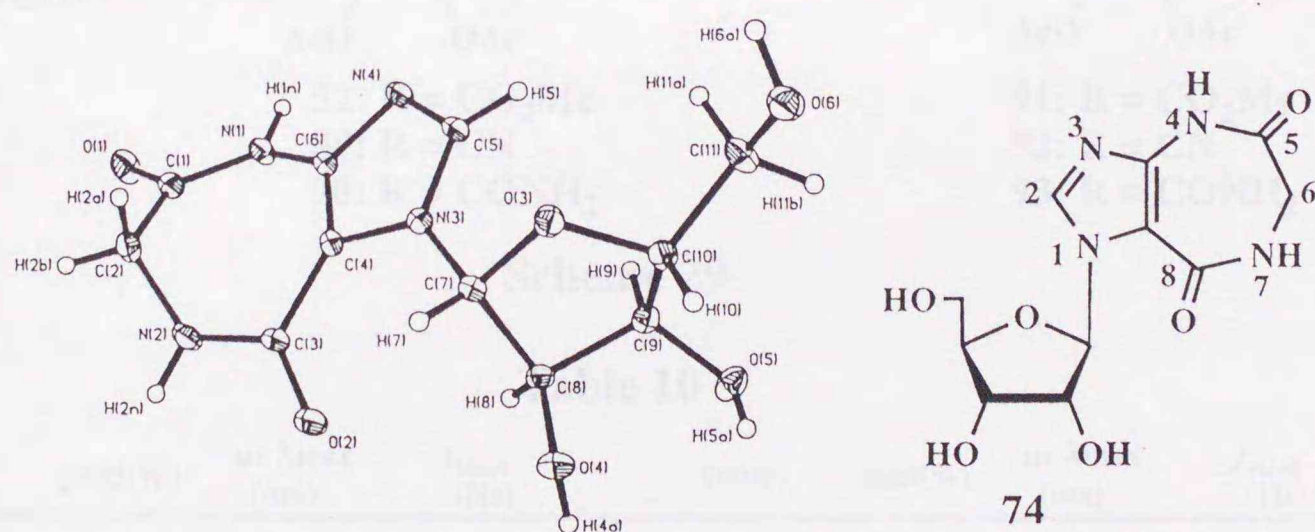
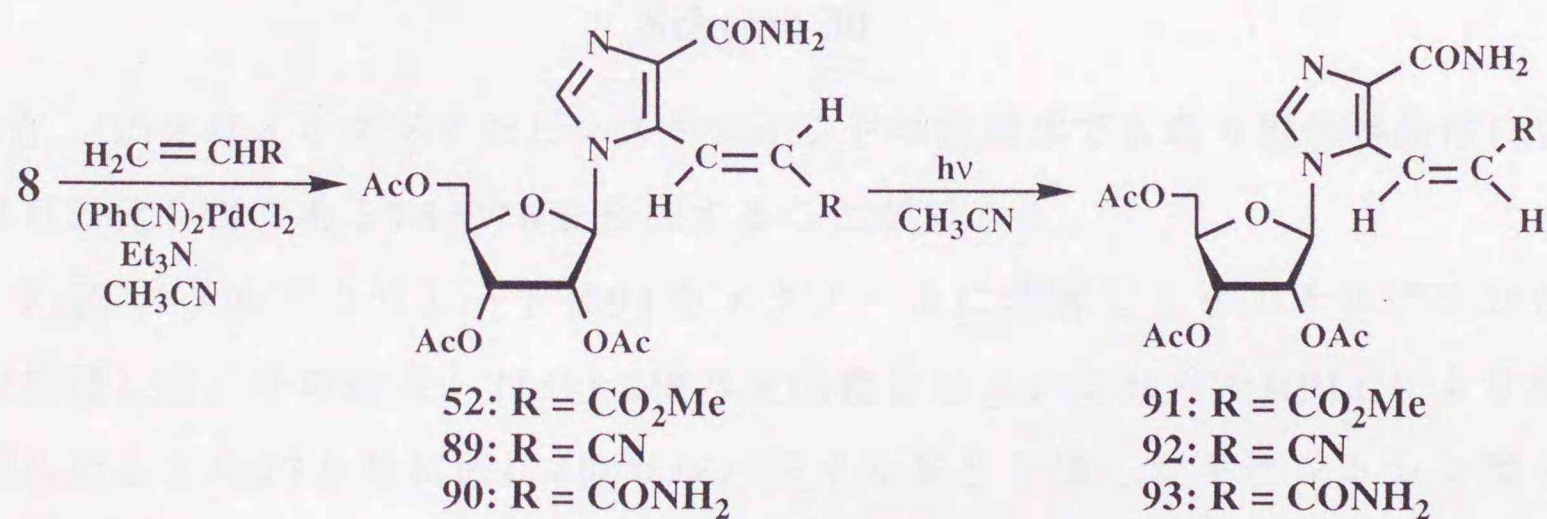


Fig. 12 ORTEP view of 74

なお、化合物**88**の生成についてはアンモニア分子が4位と6位のいずれのカルボニル基を攻撃しても**88**を与えると考えられる。Fig. 12にイミダゾアゼピンヌクレオシド**74** (Fig. 10)のX線結晶構造^{77a}を示したが、プリン環とは異なりイミダゾ

ジアゼピン環の場合は平面構造を保つことができず6位炭素原子が環平面上に位置しない構造をとっている。同様の構造が化合物**82**についても予想される。即ち、イミダゾール環に共役する4, 5位のアミド、7, 8位のオレフィン部が平面構造をとり、6位が環平面上に位置しないことが考えられ、その結果6位のカルボニル性が高まりアンモニア分子の求核攻撃はこの部位で優先的に起こり、**88**を与えたと考えた。

そこで化合物**75**については先に合成した**52**、またグアノシン型イミダゾアゼピンヌクレオシド**76**についてはアクリロニトリル体**89**から合成することにした。アクリル酸メチルと同様アクリロニトリルもパラジウム触媒存在下、反応しカップリング体**89**を与えた。さらにアクリルアミド体**90**の合成もあわせて行なった。化合物**52, 89, 90**はいずれもアセトニトリルに溶解し、パイレックスフィルターを通して100Wの高圧水銀ランプにより光照射を行ない(Z)体**91-93**へと変換した(Scheme 29)。Table 10にそれぞれの単離収率、uvスペクトルの吸収極大波長、ならびに¹H-NMRスペクトルにおけるビニルプロトンのカップリング定数を示した。



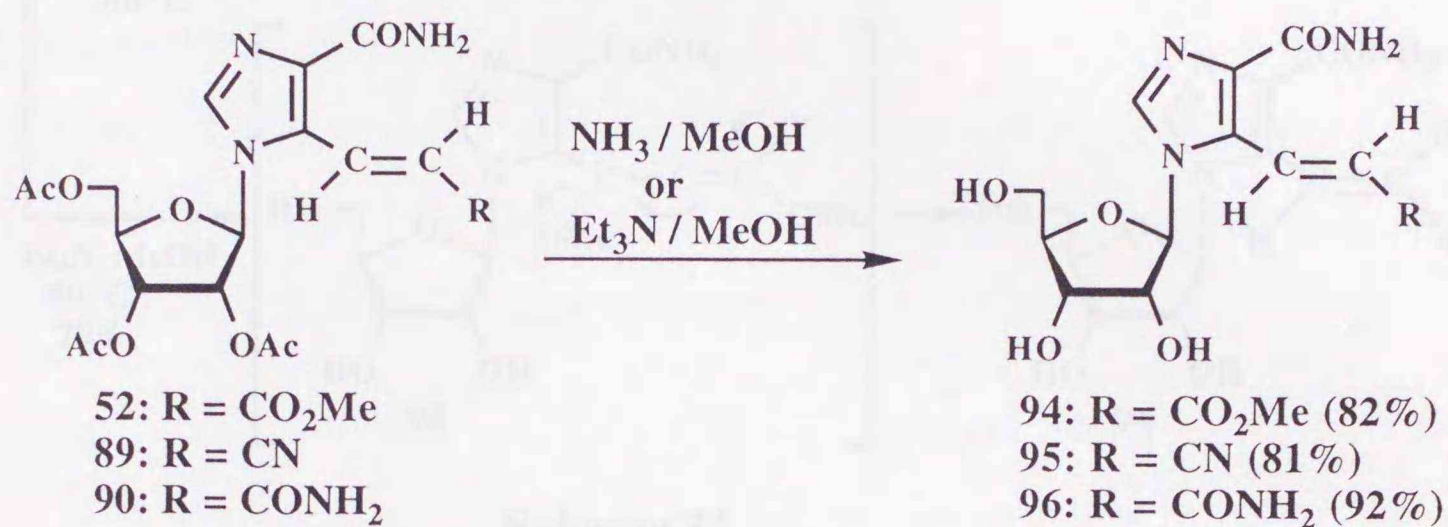
Scheme 29

Table 10

comp.	yield(%)	uv λ _{max} (nm)	J _{vinyl} (Hz)	comp.	yield(%)	uv λ _{max} (nm)	J _{vinyl} (Hz)
52	65	300	16.4	91	80	291	12.1
89	59	300	16.6	92	89	290	11.7
90	77	296	16.8	93	54	290	12.1

なお、(E)体から(Z)体への異性化は平衡反応であり(Z)体への異性化を完全に行なうことはできなかったがシリカゲルカラムによりこれらを容易に分離することができた。

得られた(E)体**52, 89, 90**、(Z)体**91-93**は第1章で合成を述べた5位炭素置換イミダゾール誘導体であると考えられたのでそれぞれの糖部保護基を除去し、これらについても生物活性試験を行なうことにした。まず(E)体**52, 89, 90**をメタノール性アンモニア、あるいはトリエチルアミンと処理し脱保護体**94-96**を合成した(Scheme 30)。

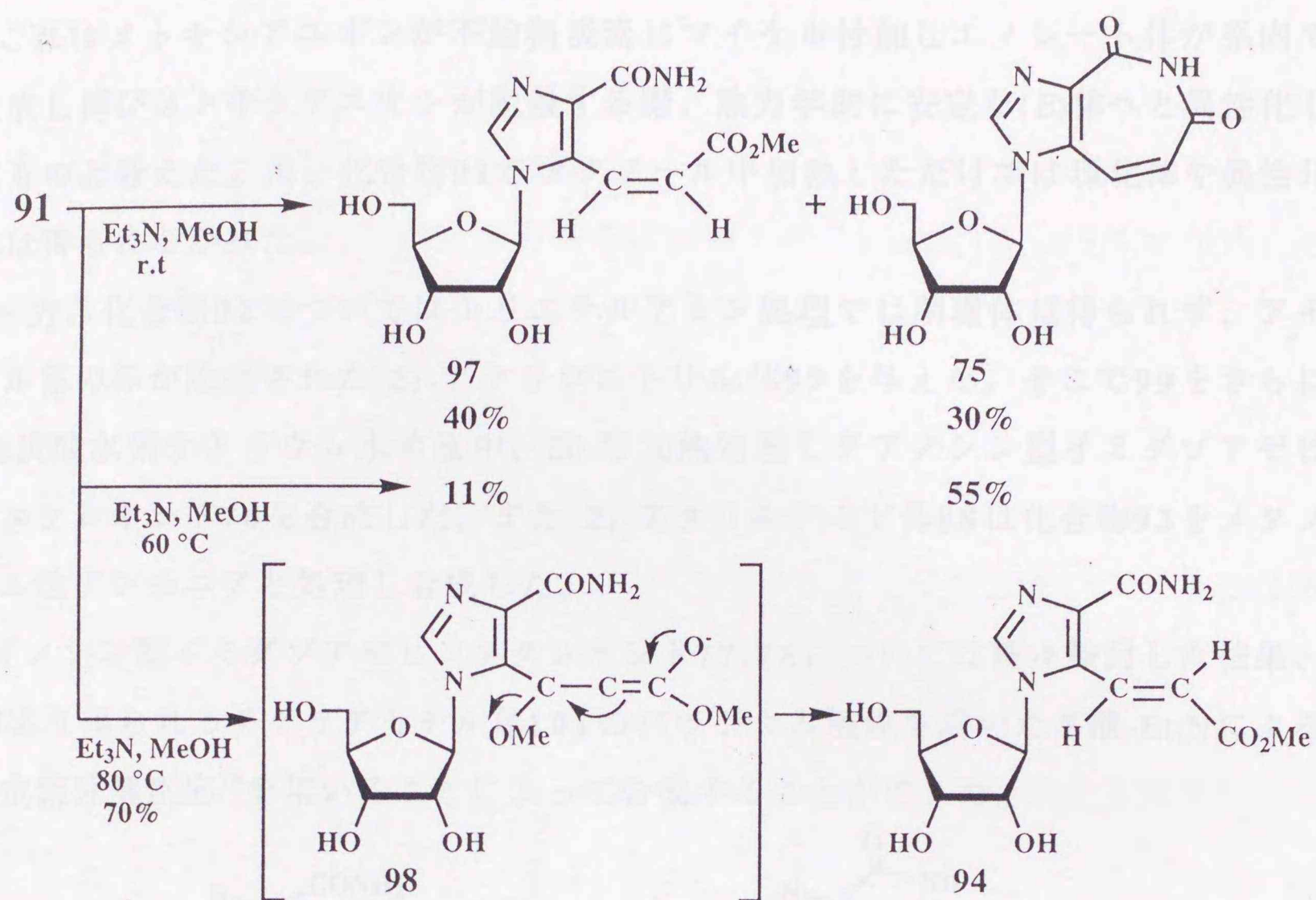


Scheme 30

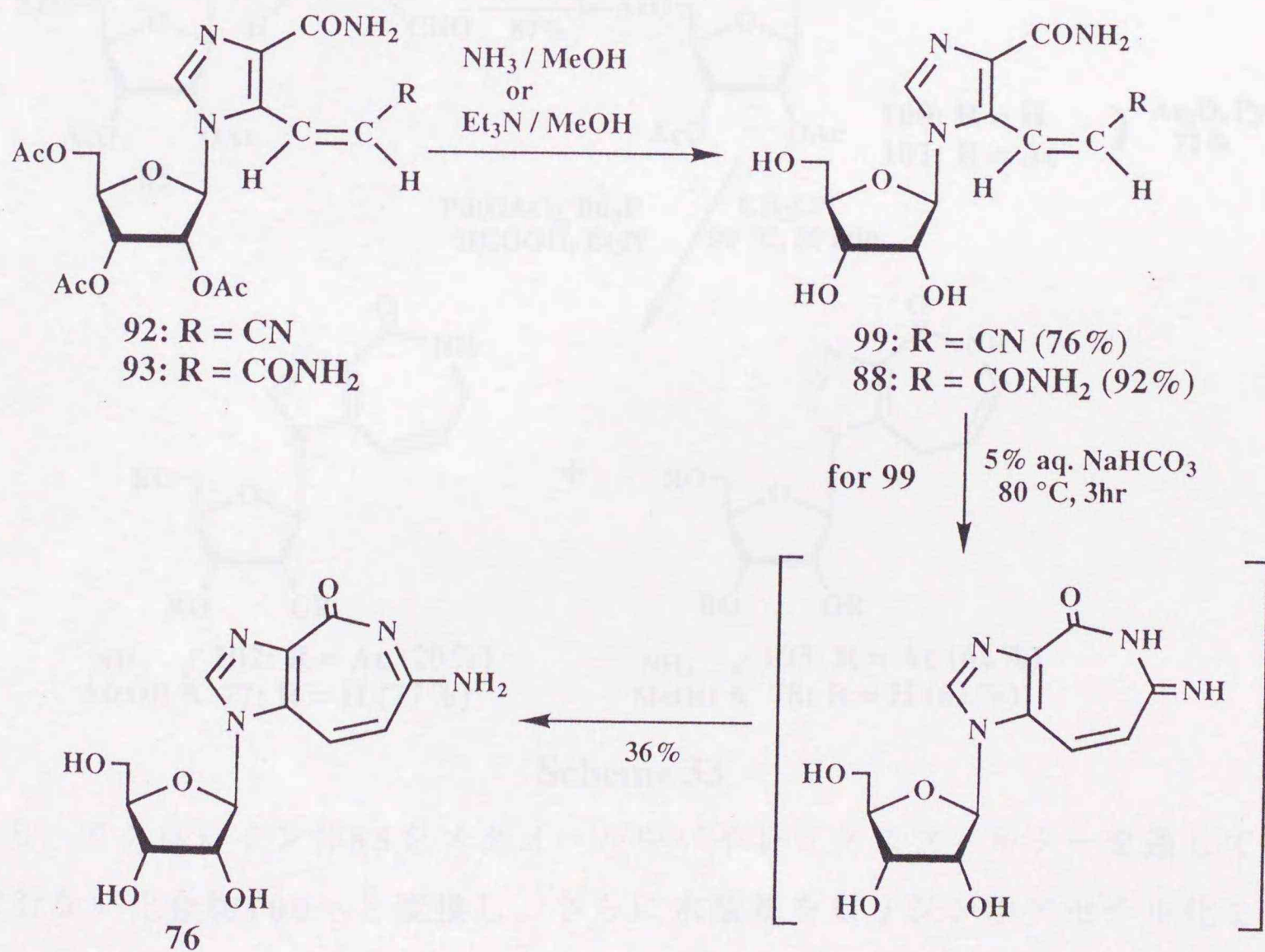
一方、(Z)体はイミダゾアゼピンヌクレオシドの前駆体でもあり脱保護条件によっては目的化合物である**75**や**76**を合成することができる。

まず(Z)-メチルアクリレート体**91**をメタノールに溶解しトリエチルアミンと室温で処理した。その結果、TLC上2種の生成物を与え、これらをHPLCにより分離精製したところ**97**と共に既に4位カルバモイル基と閉環したキサントシン型イミダゾアゼピンヌクレオシド**75**が30%の収率で得られた。

化合物**75**はuvスペクトルにおいて**82**と同様、316 nmに吸収極大波長を示し、また¹H-NMRスペクトルにおいてメチル基由来のプロトンシグナルが消失し、新たに11.21 ppmにD₂O添加で消失するNHプロトンのシグナルが観察されたことから構造を確認した。また反応温度を60℃にした場合には化合物**75**を55%の収率で得ることができたが(Z)-メチルアクリレート体**97**を完全に消失させることはできなかった。また反応時間の延長や加熱温度の上昇は(E)-メチルアクリレート体**94**を優先して与える結果となった(Scheme 31)。



Scheme 31

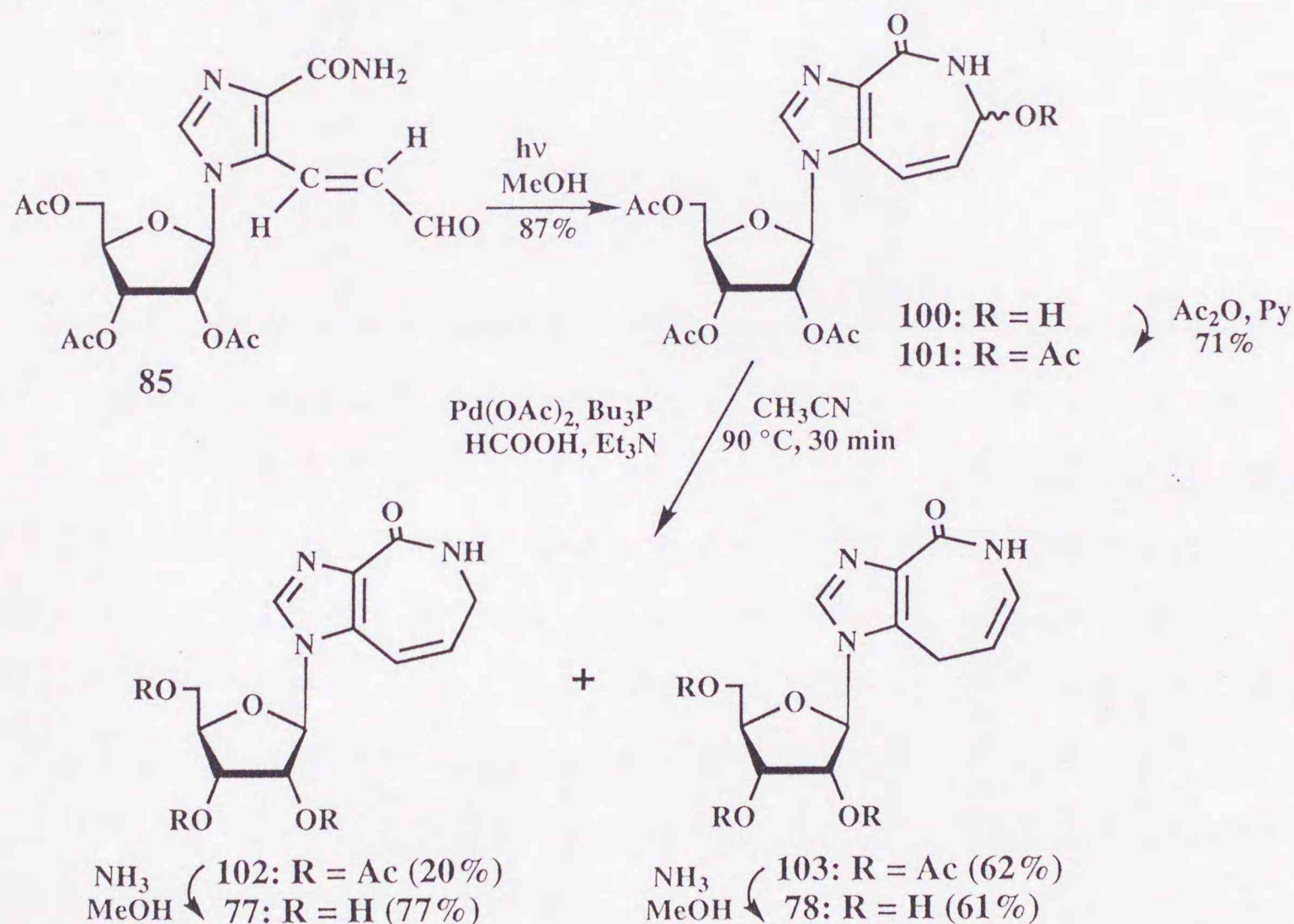


Scheme 32

これはメトキシアニオンが不飽和炭素にマイケル付加しエノレート体が系内で生成し再びメトキシアニオンが脱離する際、熱力学的に安定な(*E*)体へと異性化したものと考えた。尚、化合物**91**をメタノール中加熱しただけでは環化体や異性化体は得られなかった。

一方、化合物**92**についてはトリエチルアミン処理では閉環体は得られず、アセチル基のみが除去された(*Z*)-アクリロニトリル体**99**を与えた。そこで**99**をさらに5%炭酸水素ナトリウム水溶液中、80℃加熱処理しグアノシン型イミダゾアゼピンヌクレオシド**76**を合成した。また(*Z*)-アクリルアミド体**88**は化合物**93**をメタノール性アンモニアと処理し合成した。

イノシン型イミダゾアゼピンヌクレオシド**77,78**については種々検討した結果、**85**より得られるテトラアセチル体**101**のパラジウム触媒を用いたギ酸- Et_3N による加水素分解反応⁷⁹を用いることによって合成することができた。



Scheme 33

即ち、アクロレイン体**85**をメタノール中パイレックスフィルターを通して光照射を行ない化合物**100**へと変換し、さらに水酸基をピリジン中アセチル化を行ないテトラアセチル体**101**を合成した。化合物**101**をアセトニトリル中ギ酸をヒド

リド源とし、 PBU_3 を配位子に用いて還元反応を行なったところ化合物**102**と**103**が約1: 3の割合で得られた。これら化合物はそれぞれメタノール性アンモニアで糖部保護基を除去し目的化合物である**77**および**78**へと変換した (Scheme 33)。

これら両化合物はFAB-MSスペクトルにおいて共に m/z 282に分子イオンピークを示したが ^1H -NMRスペクトル、uvスペクトルにおいてはそれぞれ全く異なるスペクトルパターンを示した。まず ^1H -NMRスペクトルにおいて化合物**77**のオレフィンプロトン由来のシグナルが6.89, 6.25 ppmにダブルット、およびダブルトリプレットで観察されているのに対し、化合物**78**の場合5.82 ppmに D_2O 添加でダブルットに変化するシグナルおよび4.84 ppmにダブルトリプレットのシグナルが観察された。またuvスペクトルにおいては化合物**77**が273 nmに吸収極大波長を示したのに対して、化合物**78**では8位メチレン炭素により共役系が切断されるために吸収極大波長が241 nmに短波長シフトしておりそれぞれの構造を反映する結果を与えた。

第3節 イミダゾアゼピンヌクレオシド類の細胞増殖抑制活性

以上合成した各種ヌクレオシド誘導体のマウス白血病細胞L1210細胞に対する *in vitro*での増殖抑制活性を検討した。細胞増殖抑制活性は50%増殖抑制を示す濃度 (IC_{50})を用いて表示した(Table 11)。

Table 11 Inhibitory effects of 5-alkenylimidazole and imidazoazepine derivatives on the growth of murine L1210 cells *in vitro*

compd	IC_{50} , $\mu\text{g} / \text{ml}$
94	>100
95	>100
96	>100
97	>100
99	>100
88	>100
73	5.0
75	>100
76	>100
77	21
78	>100

まず、5位炭素置換イミダゾール誘導体として合成した、**88**, **94-97**, **99**については何れも全く増殖抑制活性を示さなかった。このことは第1章、第6節で議論したように今回合成したイミダゾールヌクレオシド誘導体の活性発現にはエチニル基が何らかの重要な役割を果たしていることをさらに支持するものである。

一方、イミダゾアゼピンヌクレオシド類に関しては、GMP シンターゼの阻害剤として合成した化合物**73**が5.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ という増殖抑制活性を示した。またその他のイミダゾアゼピンヌクレオシドについては**77**に弱い活性が観察されたものの何れも活性を示さなかった。

化合物**73**に細胞増殖抑制活性が観察されたことに関しては、この化合物が期待通りにリン酸化酵素によってモノリン酸体に代謝され、GMP シンターゼを阻害しているかを検討をすることが早急の課題であると考えられた。また環拡張型ヌクレオシド誘導体の中でこれまでに報告されていないイミダゾアゼピンヌクレオ

第3章 3-デアザプリンヌクレオシド類の合成³⁸

著者はパラジウム触媒を用いAICARのイミダゾール5位にアルキニル、アルケニル基を導入し、優れた制がん、抗ウイルス活性を有するEICARや種々のイミダゾアゼピンヌクレオシド誘導体の合成を行なったが、さらにAICARを原料として3-デアザプリンヌクレオシドを合成することを計画した (Fig. 13)。

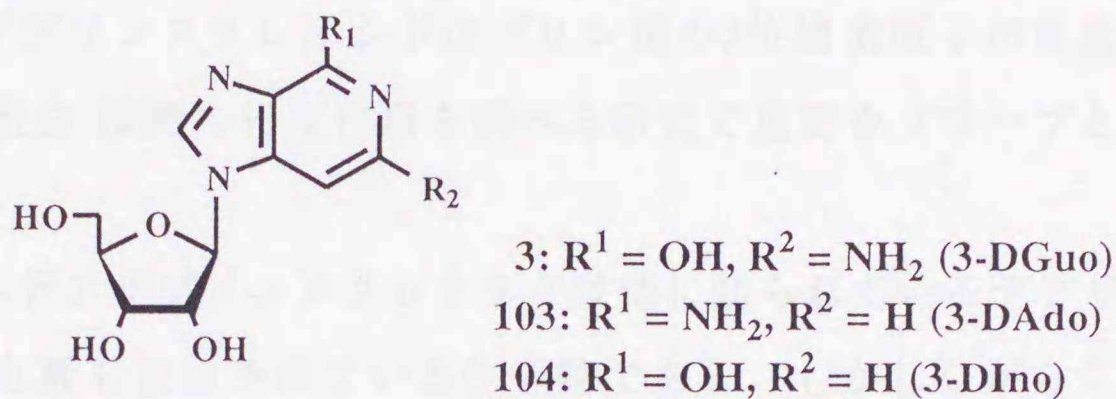
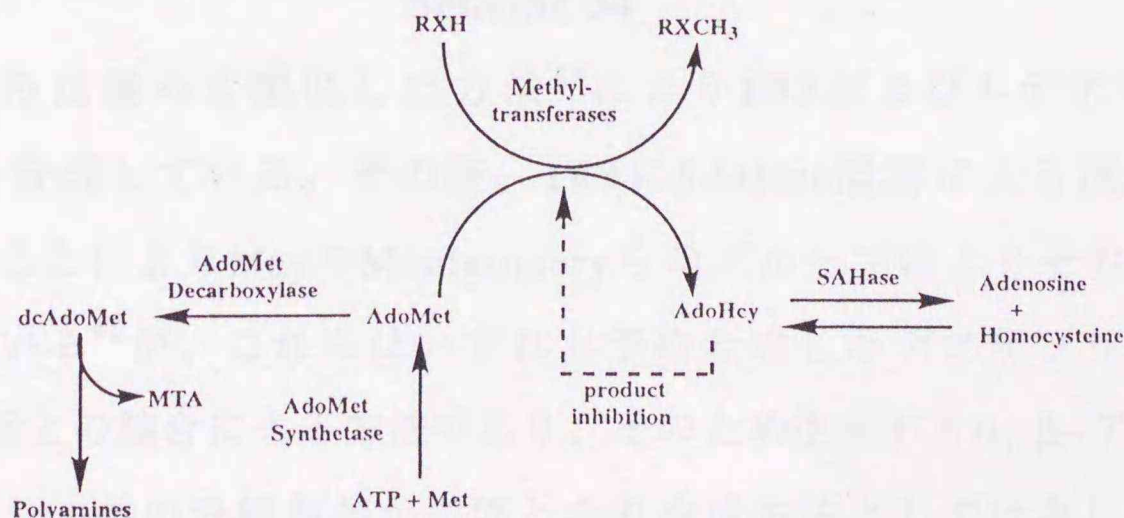


Fig. 13

序論でも述べたように3-DGuo (3)はモノリン酸体に代謝されることにより IMPDHを阻害する化合物であり、抗ウイルス剤として期待された化合物である¹¹。またマウス白血病細胞 L1210細胞やadenocarcinoma 755細胞に対して *in vivo*で優れた制がん活性を示すことも報告されている⁸⁰。

一方、3-デアザアデノシン (3-DAdo, 103)はS-アデノシルホモシステインヒドロラーゼ (SAHase)を強く阻害することが知られている⁸¹。SAHaseは核酸をはじめ、蛋白質、糖など広範囲の化合物のメチル化に参与する酵素^{注1}であり、近年ウイル

^{注1} AdoHcyの合成、分解を行なう酵素であり、メチル化の調節を行なう重要な酵素である。103はSAHaseの阻害剤であると同時に基質にもなりメチル化を阻害する。



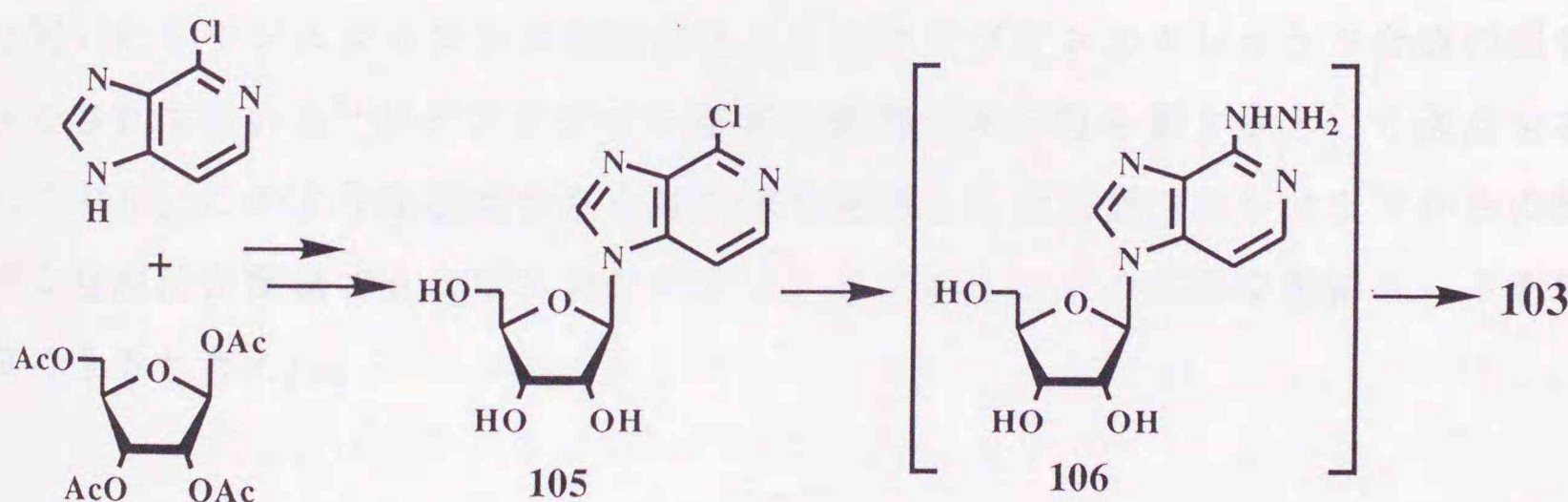
The role of SAHase in regulating AdoMet dependent biological methylation

ス感染症に対する化学療法の標的酵素として非常に注目されている⁸²。現在までも多くのSAHase阻害剤が報告されているが、中でも**103**は抗ウイルス⁸³、抗マラリア活性⁸⁴をはじめとし実に様々な興味深い生物活性を示す化合物である。ごく最近になってHIV-1の逆転写酵素を阻害することも報告されている⁸⁵。さらには現在、リウマチ患者に対して第二相試験が行なわれており⁸⁶、臨床薬としても大いに期待されている。

また3-デアザプリンヌクレオシドはプリン環の3位窒素原子が炭素に置換された化合物であり蛋白-核酸の相互作用を調べる研究で重要なプローブとして用いられている⁸⁷。

このように3-デアザプリンヌクレオシドは他に知られているデアザプリンヌクレオシドの中でも最も注目されている化合物である。しかしながらこれら化合物の合成に関する報告は極めて例が少ないのが現状である。

既に1966年、Rousseauらは6-chloro-3-deazapurineと糖部との縮合による**103**の合成の第一報を報告している⁸⁸ (Scheme 34)。

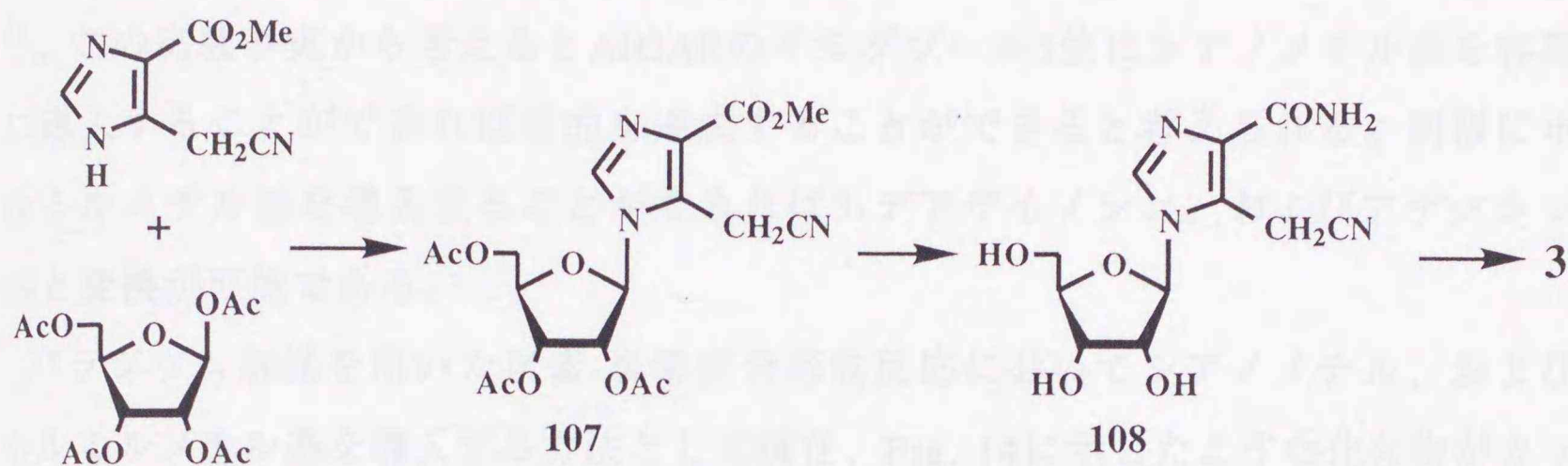


Scheme 34

続いてMizunoらは極めて類似した方法⁸⁹により**103**および3-デアザイノシン(3-DIno, **104**)を合成している。その後、**103**にSAHase阻害による抗ウイルス活性が報告されたことによりMayやMontgomeryらのグループによりその改良合成法が報告されてはいる⁹⁰が、これらはいずれも予め合成したデアザプリン塩基と適当に保護した糖部との縮合による方法であり、そのため生成する α 、 β -アノマーや、7, 9-リボフラノシル体の分離精製が必要となり合成方法としては決して満足の行

くものではない。

同様にCookらによって報告された3-DGuo(**3**)の合成もグリコシル化法によるものである¹¹(Scheme 35)。



Scheme 35

Tanakaらは天然ヌクレオシドであるウリジンを用いた**3**の合成を行ない⁹¹、この方法が従来法と異なり立体、あるいは位置異性体の分離操作が不要であると述べているが全行程収率という点では十分な方法とはいえない。またごく最近、酵素を用いたトランスグリコシル化法による3-デアザプリンヌクレオシド合成の報告もなされてはいる⁹²がデアザプリン塩基の構築が多行程を要するという欠点を有しており、このような観点からもAICARを原料とした天然ヌクレオシドからの簡便な合成法が開発できれば3-デアザプリンヌクレオシドの有用な供給ルートを確立できると考えた。

第1節 合成計画

Scheme 35で示したようにCookらは3-DGuo(**3**)の合成前駆体としてイミダゾール5位にシアノメチル基を導入した**108**を合成し効率よく**3**への環化を行なっている¹¹。この実験事実から考えるとAICARのイミダゾール5位にシアノメチル基を容易に導入することができれば目的を達成することができると考えられる。同様にホルミルメチル基を導入することができれば3-デアザイノシン、およびアデノシンへと変換が可能である。

パラジウム触媒を用いた炭素-炭素結合形成反応においてシアノメチル、およびホルミルメチル基を導入する方法として現在、Fig. 14に示したような化合物がカップリングの基質として知られており^{93, 94, 95}、これら基質とヨード体**8**のパラジウム触媒を用いたクロスカップリングを行なうことがひとつの方法と考えられた。

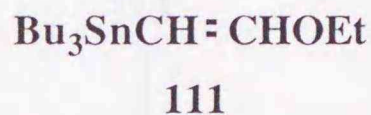
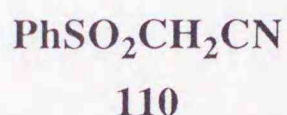
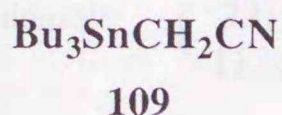


Fig. 14

しかし有機すず試薬**109**と**8**のパラジウム触媒を用いたクロスカップリング^{注1}は全く進行しなかった。また**110**や**111**を用いた場合には、反応が進行しても脱硫やエノールエーテルの酸加水分解の操作が必要となりその際、グリコシル結合の開裂などの副反応が進行することが予想された。

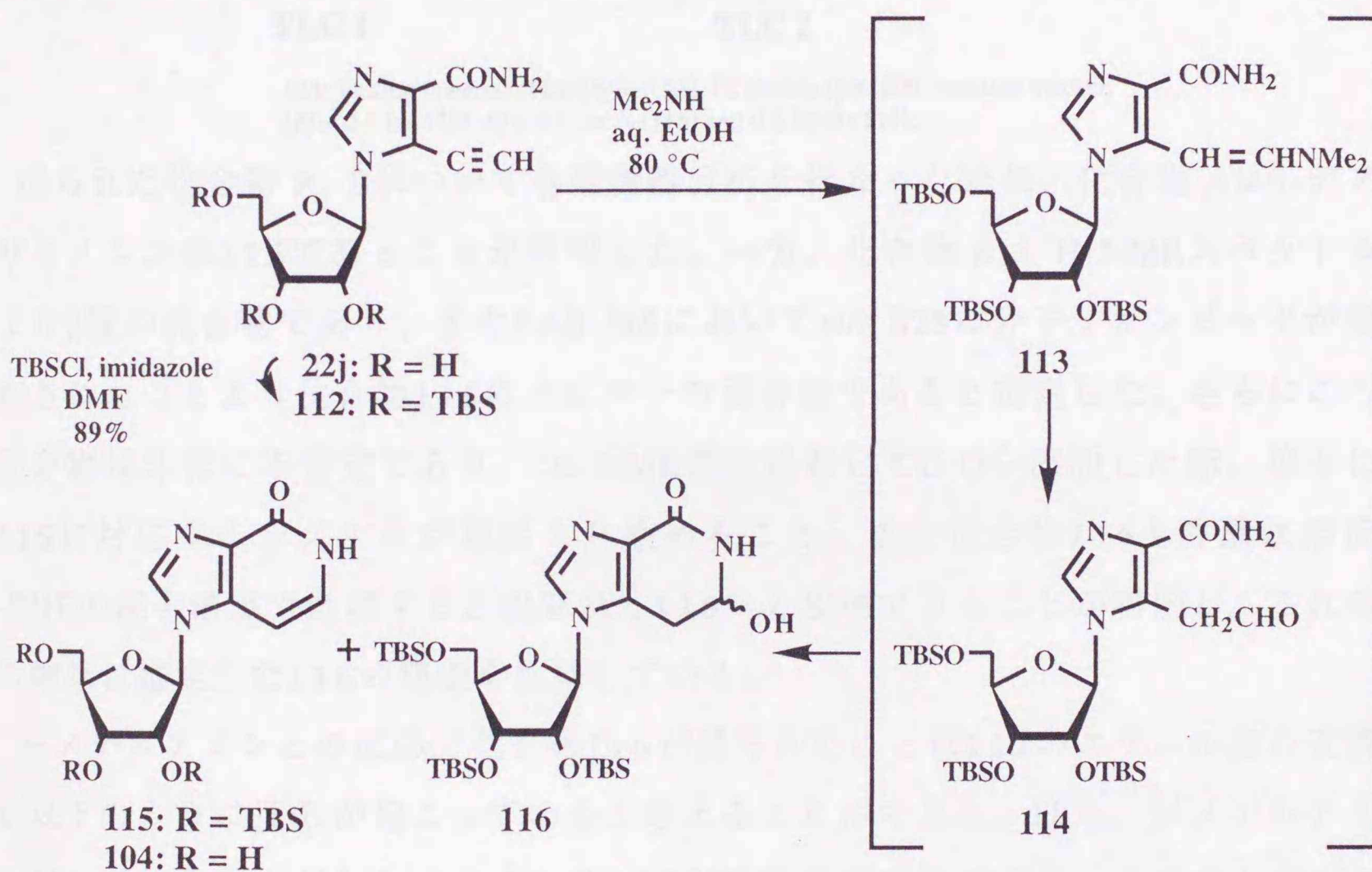
そこで著者は5-シアノメチル、およびホルミルメチルイミダゾール体を合成する方法として、EICARの5位エチニル基の官能基変換を行なうことにした。このエチニル基は含窒素芳香ヘテロ環に結合しており、ジメチルアミンや水酸化カリウム水溶液と処理することにより目的とする官能基変換が容易に行なえると考えられた⁹⁶。

^{注1} (PhCN)₂PdCl₂を用いガラス封管中、アセトニトリル溶媒で100 °Cで反応を行なった。

第2節 3-デアザイノシンの合成

3DGuo (**3**)や3DAdo (**103**)と比較して3DIIno (**104**)に関しては生物活性等、詳細な検討は行なわれておらず、また合成報告も Mizuno らによって唯一報告されているにすぎない⁸⁹。そこでまず、**104**の合成を検討することとした。

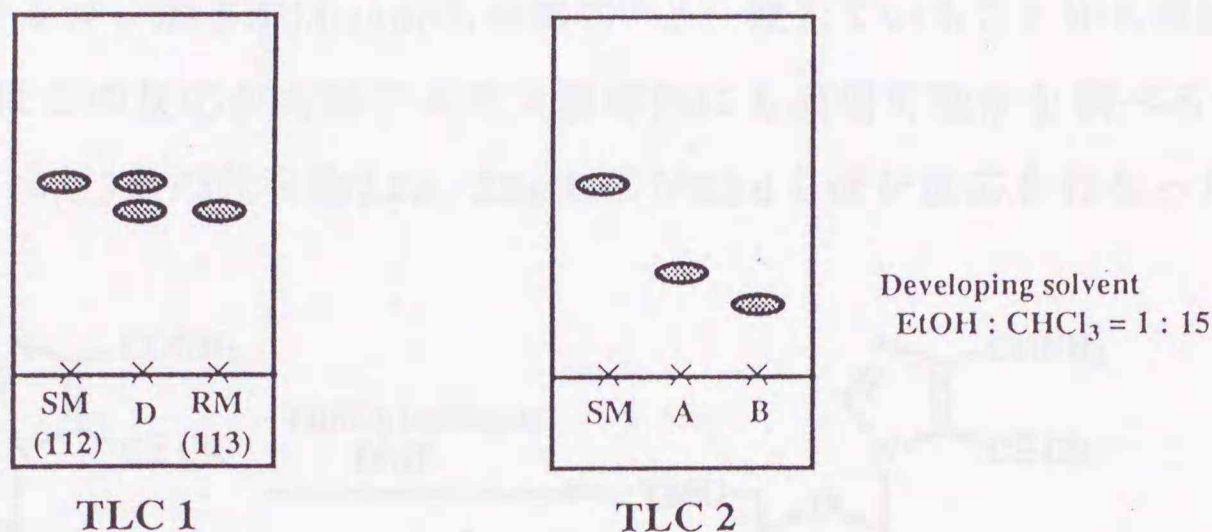
出発原料となる化合物はEICAR(**22j**)であるが反応生成物の単離精製を容易にするため、まず糖部水酸基を塩基性条件下安定であるシリル基で保護した**112**を合成した (Scheme 36)。



Scheme 36

続いて、化合物**112**をスチール封管中、含水エタノール中ジメチルアミンと80℃で加熱した。その結果、TLC上原料と比較して R_f 値が僅かに小さい単一の生成物が観察されたのでシリカゲルカラムによりその化合物の単離を試みた (Fig. 15, TLC 1)。しかしシリカゲルカラムによる精製で得られた化合物にTLC 1で観察されたスポットに対応する化合物はなく、さらに R_f 値の小さい2種の化合物 A, Bが得られる結果となった (Fig. 15, TLC 2)。

Fig. 15 The TLC patterns of reaction mixture and purified compounds.



SM: starting material (112) [R_f = 0.55], D: double spot, RM: reaction mixture [R_f = 0.5 for 113], R_f = 0.3 for A (115) and 0.2 for B (116).

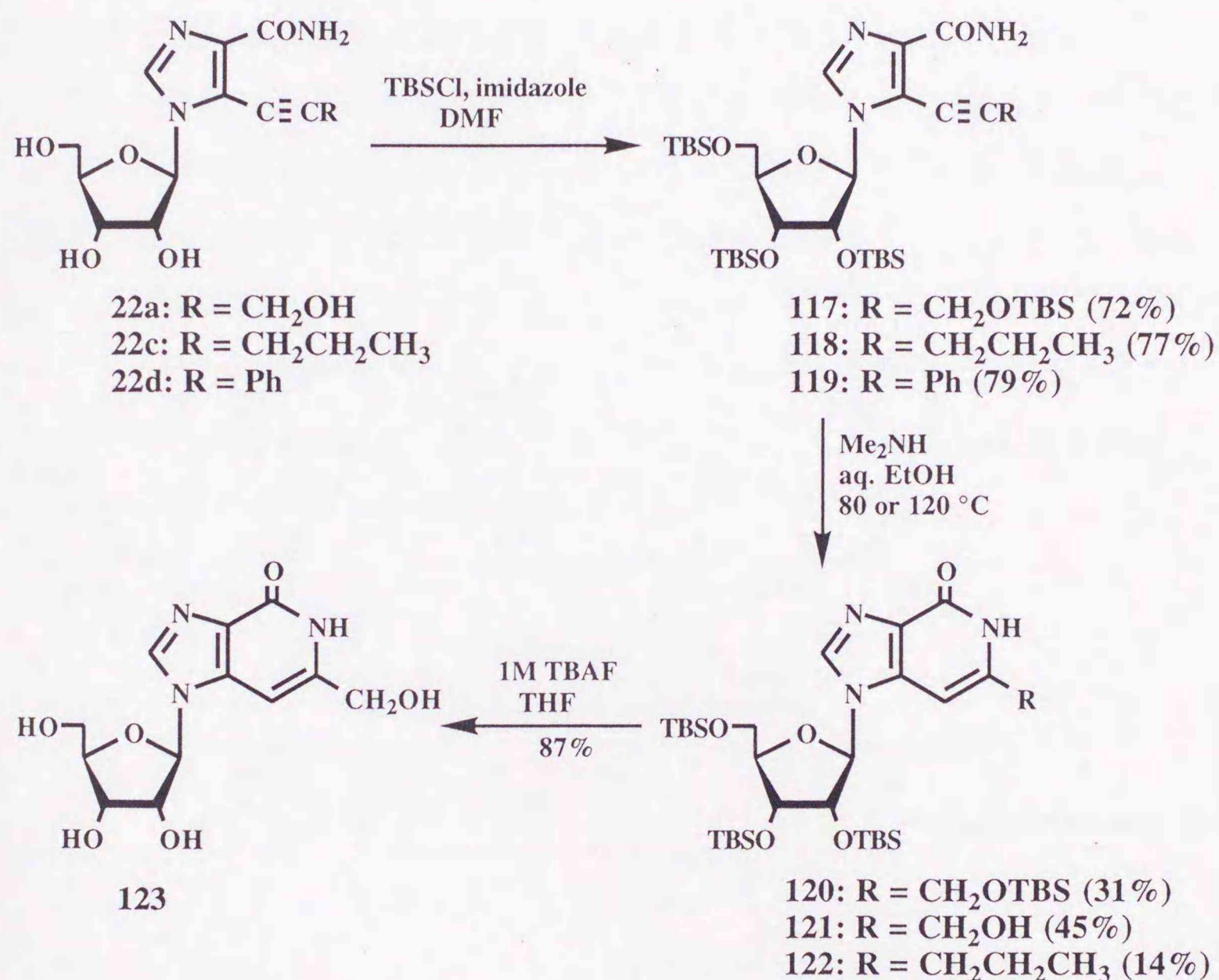
得られた化合物 A, B について各種機器分析を行なった結果、化合物 A は 3-デアザイノシン体 **115** であることが判明した。一方、化合物 B は $^1\text{H-NMR}$ スペクトルより 2 種の混合物であり、また FAB-MS において m/z 628 に分子イオンピークが観察されたことより化合物 **116** のエピマーの混合物であると推定した。さらにこの化合物は非常に不安定であり、 $^1\text{H-NMR}$ 測定において D_2O を添加した際、徐々に **115** に対応するシグナルが観察され始めること、また化合物 **116** を酢酸水溶液-THF の混合溶媒で処理すると収率良く **115** へと変換できることが判明し、これらの結果は推定した **116** の構造を支持している。

ジメチルアミンとの反応で化合物 **116** が得られたことは **112** のエチニル基の変換が以下のように反応が起こっていると考えられる。即ち、ジメチルアミンがエチニル基へ付加しエナミン体 **113** が反応系内で生成する。エナミン体 **113** は TLC 1 に示したスポットとして観察されるが後処理、おそらくシリカゲルカラムによる精製の段階でホルミルメチル体 **114** へと酸加水分解され、さらにカルバモイル基の窒素原子と環化することにより化合物 **116** とその脱水体である **115** を与えたというものである。

化合物 **115** は THF 中、TBAF と処理しシリル基の除去を行ない定量的に 3-DIno (**104**) へと変換した。さらに化合物 **104** は EICAR を先と同様、ジメチルアミンと処理した後、続いて酢酸水溶液中攪拌することによってより簡便に合成することができた。化合物 **104** の構造は $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて 7.14 ppm と 6.69 ppm に

ブロードトリプレット、およびダブルットで芳香環由来のプロトンシグナルが観察され、さらに7.14 ppmのシグナルはD₂O添加でダブルットに変化すること、さらにUVスペクトル、融点がMizunoらの報告⁸⁹と一致していることから確認できた。

さらに著者はこの反応が内部アルキン誘導体にも適用可能かを調べる目的で第1章で合成を述べた3種の化合物**22a**、**22c**および**22d**を選び反応を行なった。



Scheme 37

先と同様に糖部水酸基をシリル基で保護した**117-119**を合成した。なお、**22a**とTBDMSClとの反応では塩基部の水酸基もシリル化されたテトラシリル体**117**を与えた。まず、化合物**117**を封管中、80 °Cでジメチルアミンと処理したところ、EICARの場合と比較して反応の進行は遅いものの原料は消失し、化合物**120**とその脱シリル体**121**をそれぞれ31%、45%の収率で得ることができた。それに対して、化合物**118**、**119**では80 °Cの反応温度では反応は全く進行しなかった。また反応時間の延長や加熱温度を上昇させた場合は化合物の分解が優先する結果となり、

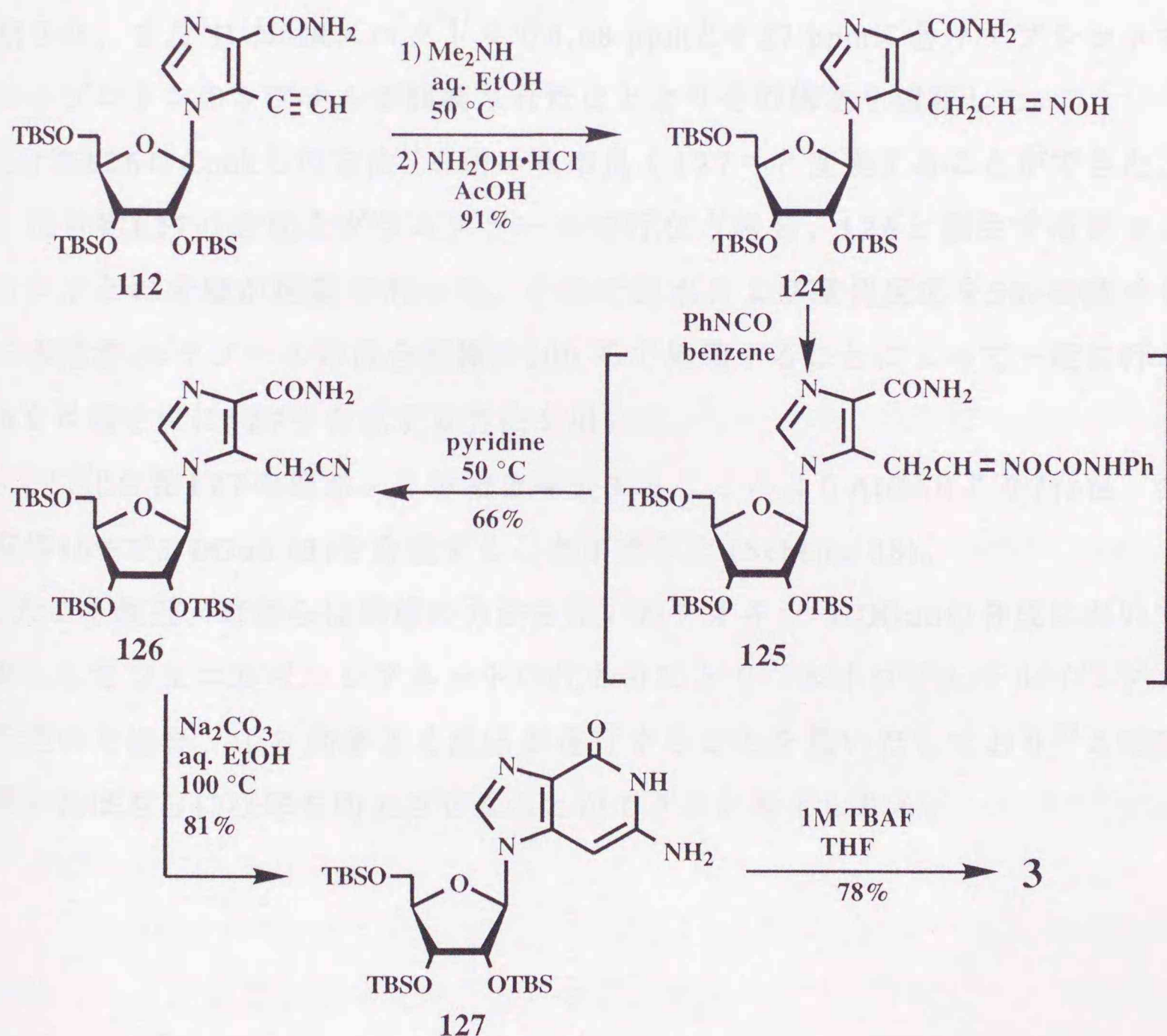
化合物**120**と**121**はTHF中、TBAFでシリル基を除去し2-ヒドロキシメチル体**123**へと変換した (Scheme 37)。

以上の結果からさらに詳細な検討を要するが2-置換-3-デアザプリンヌクレオシドもこの方法を用いて合成できることが示された。

第3節 3-デアザグアノシンの合成

3-DGuo (3)を合成するためには5位エチニル基をシアノメチル基に変換する必要がある¹¹。先に示した3-DInoの合成で反応系内にホルミルメチル体 (114)が生成し、このホルミル基がカルバモイル基の窒素原子と自発的に環化することを述べたが、この環化が起こるよりも速くホルミル基がヒドロキシアミンと反応すればシアノメチル体126を合成することができると考えられた。

そこで化合物112を先よりも低温の50℃でジメチルアミンと処理し原料が消失し、エナミン体113に対応するスポットがTLC上観察されることを確認した後、引き続き反応液に氷冷下ヒドロキシアミンの酢酸懸濁液を加えるという方法を試みた。



Scheme 38

その結果、化合物**115**や**116**は全く生成せず、目的としたオキシム体**124**が91%の収率で得られた。一般に分子内反応が優先すると考えられるがカルバモイル基の窒素原子の求核性が低いために求核性の極めて高いヒドロキシアミンとの反応が優先したと考えられた。

オキシム体**124**には回転異性体が存在するために¹H-NMRスペクトルで2種の混合物として観察されたが、マススペクトルにおいて m/z 642に分子イオンピークが認められたこと、また元素分析で $C_{29}H_{58}N_4O_6Si_3$ の組成が確認できた。

オキシム体**124**の脱水反応についてはフェニルイソシアネートを用いて行なった。即ち、化合物**124**をベンゼン中、フェニルイソシアネートと処理し中間体**125**を単離することなくピリジン中50℃で加熱しシアノメチル体**126**を66%の収率で合成した。化合物**126**はIRスペクトルにおいて 2250 cm^{-1} にシアノ基由来の吸収帯が観察され、また¹H-NMRスペクトルで4.68 ppmと4.27 ppmに各々ダブルットでメチレンプロトンのシグナルが観察されたことよりその構造を確認した。

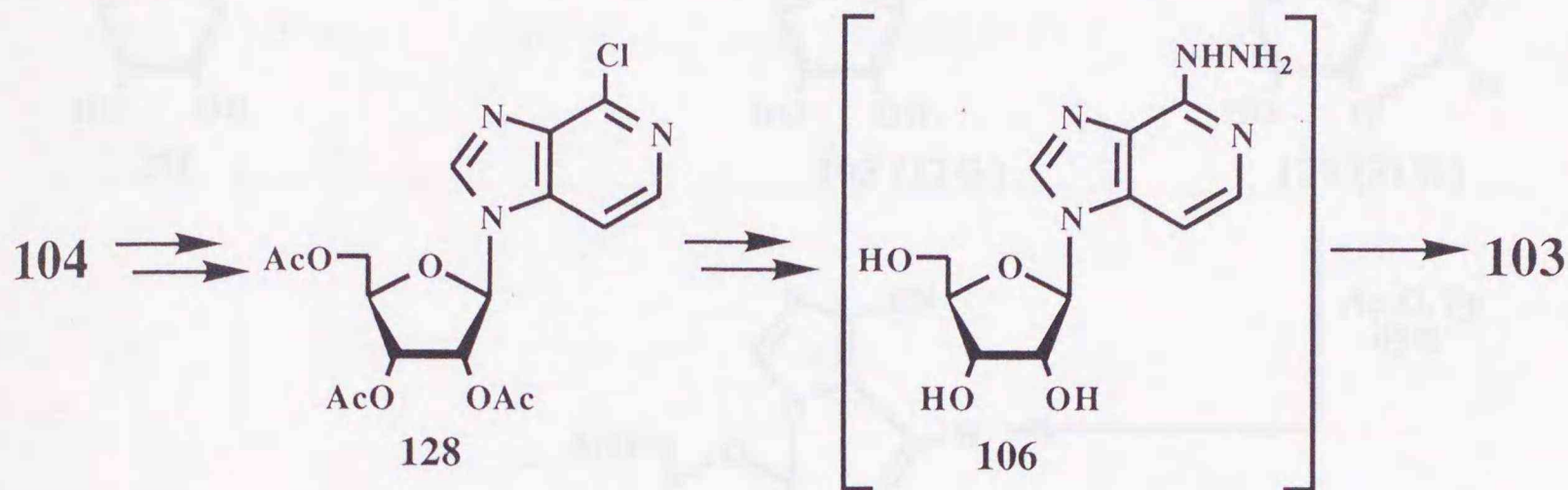
化合物**126**はCookらの方法¹¹を用い収率良く**127**へと変換することができた。なお、化合物**127**の合成をグラムスケールで行なう場合、**126**と副生するジフェニルウレアとの分離が困難であった。そこで脱水および環化反応を5%炭酸ナトリウム水溶液-エタノールの混合溶媒中100℃で処理することによって一度に行ない**126**を単離せずに**127**を合成する方法を用いた。

さらに化合物**127**の糖部シリル基を除去することによりAICARより7行程、全行程収率16%で3-DGuo (**3**)を合成することができた (Scheme 38)。

またごく最近、著者らは同様の方法を用いたデオキシ-3-DGuoの合成において脱水剤としてフェニルイソシアネートの代わりにトリフルオロアセチルイミダゾールを用いた場合、より効率よく反応が進行することを見いだしており⁹⁷この試薬を用いればさらに収率を向上させることができると考えられる。

第4節 3-デアザアデノシンの合成

3-DAdo (**103**)を合成する方法としては3-DIno (**104**)から化合物**128**を経由して合成することがその一つにあげられる (Scheme 39)。



Scheme 39

しかしこの方法を用いる場合、以下に示す3つの問題点が生じることが予想される。

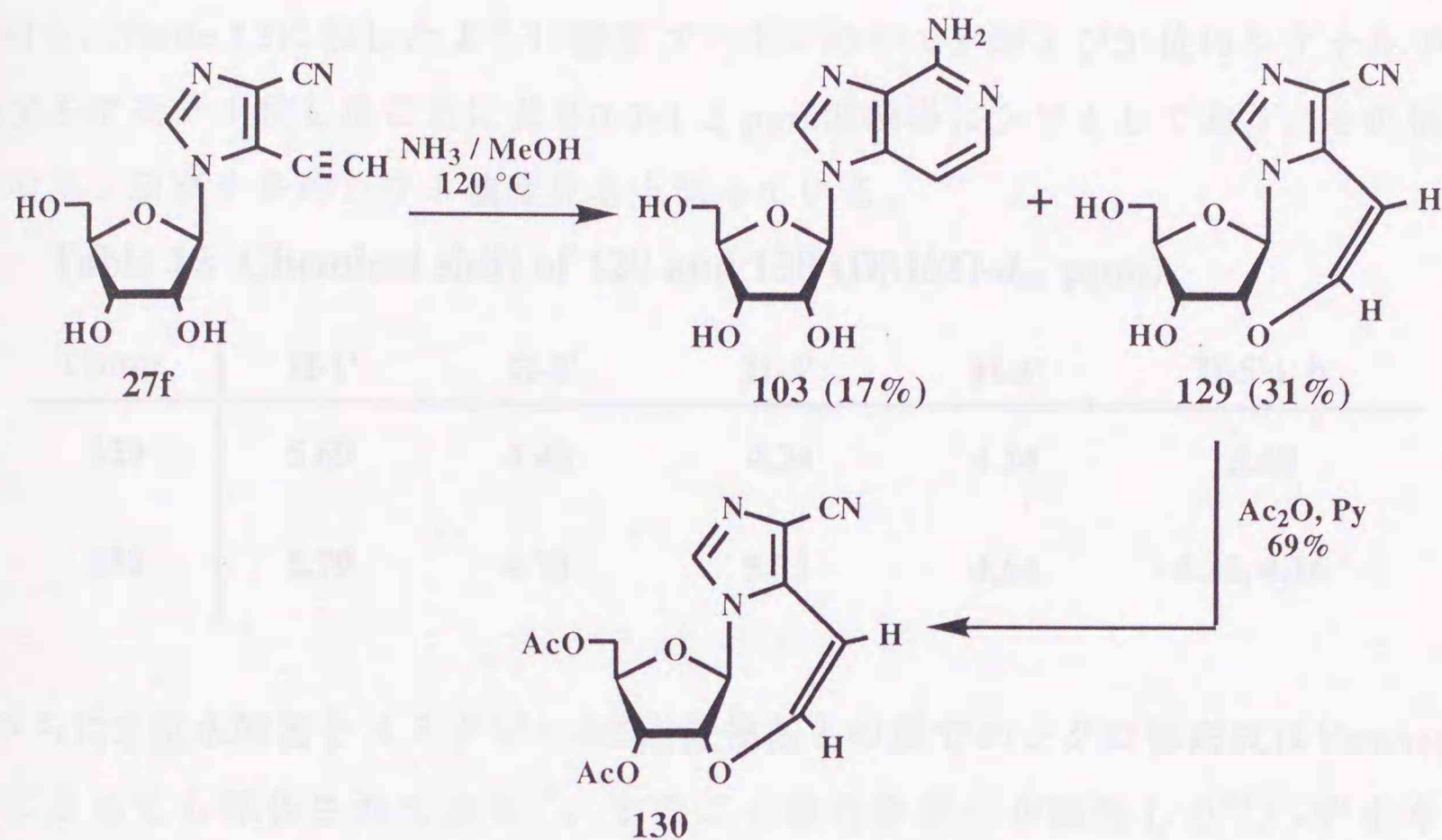
- 1) クロル体**128**への変換が低収率であること⁹⁸
- 2) アンモニアによる求核置換反応が進行しないためにヒドラジド体**106**を経由する必要があること^{88, 89}
- 3) ヒドラジド体**106**の還元を行なった際、**103**の一部が塩酸塩を形成するために脱塩の操作が必要となること⁹⁹

これらの理由から**104**からの合成では操作が煩雑になり、また収率良く**103**を得ることは望めないと考えられた。

そこで著者は化合物**27f**からの合成を行なうことにした。即ち、イミダゾール5位のエチニル基がジメチルアミンと反応しエナミン体**113**を与えることを述べたが同様の反応がアンモニアとの処理によっても進行するのであれば**103**を合成することが可能であると考えた。

まず、化合物**27f**をメタノール性アンモニアに溶解し、封管中80℃で加熱処理を行なった。しかしながらこの温度ではジメチルアミンと比較してアンモニアの求核性が弱いために反応は全く進行せず原料を回収する結果となった。アンモニアとの反応では4位シアノ基がアミジノ基へと変換されることも期待したがそのよ

うな生成物は観察されなかった。



Scheme 40

そこで反応温度を 120°C にまであげたところ3時間で原料は消失し、2種類の化合物がシリカゲルカラム精製の後得られた。これら化合物のうち、極性の高い化合物については ^1H -NMR測定の結果から目的とした3-DAAdo (**103**)であることが判明したがその単離収率は17%と極めて低いものであった。一方、低極性化合物についても ^1H -NMR測定を行なったところ、5.66 ppmと6.79 ppmにそれぞれダブルットでプロトンシグナルが観察されるものの、そのケミカルシフトは**103**のアロマテックプロトンのシグナルと比較して高磁場にシフトしており、また糖部水酸基と考えられるプロトンシグナルが1級、2級それぞれ1組ずつしか観察されず、2級水酸基のプロトンシグナルが一つ消失していることが示唆された。さらにこの化合物はIRスペクトルで 2220 cm^{-1} にシアノ基に由来する吸収が観測され、マススペクトルにおいては m/z 249に分子イオンピークが認められ、以上の結果からその構造は**129**の様なシクロエテノ体であると推定した (Scheme 40)。さらに化合物**129**をピリジン中、無水酢酸と処理したところジアセチル体**130**を与え、その化合物についても各種機器分析を行なうことによりその構造を確認した。またシクロエテノ化が2'位水酸基との間で起こっていることは化合物**129**と**130**の糖部プロトン

シグナルのケミカルシフトを比較することにより確認できた。

即ち、Table 12に示したように糖部プロトンの中で3'および5'位のシグナルが水酸基をアセチル化したことにより0.7-1.2 ppm低磁場にシフトしており、その他のプロトンシグナルのシフト値変化を上回っている。

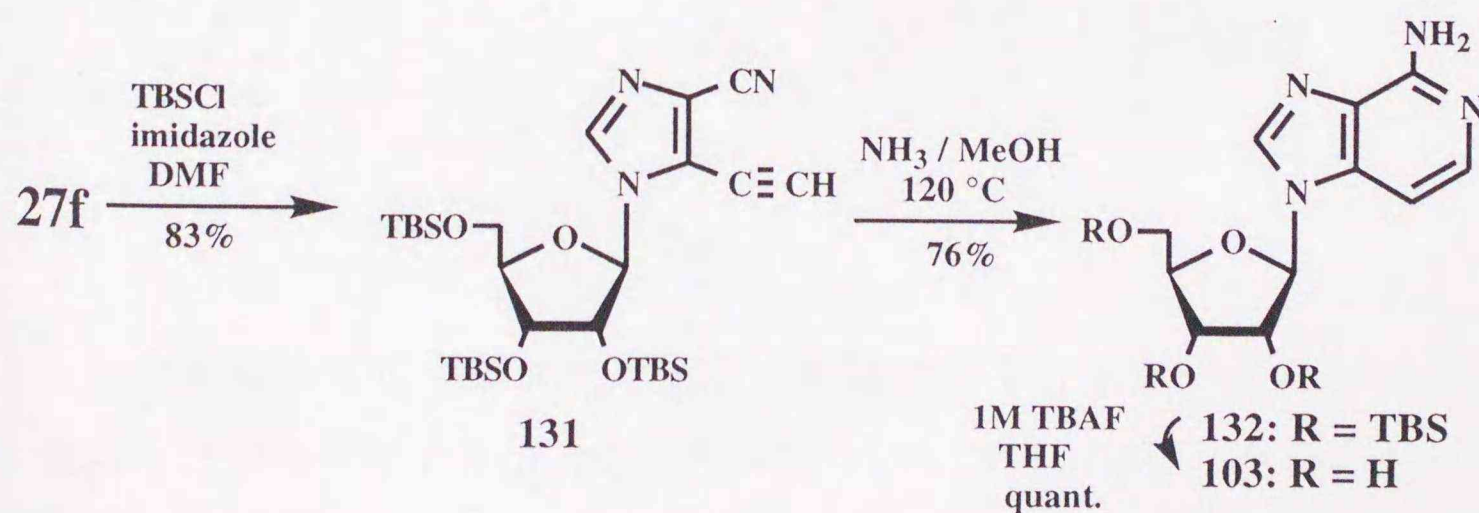
Table 12 Chemical shift of 129 and 130 (DMSO- d_6 , ppm)

Comp.	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'a, b
129	5.69	4.40	4.34	4.24	3.48
130	5.79	4.73	5.53	4.64	4.22, 4.16

さらに2'位水酸基とイミダゾール5位置換基との間でのシクロ体形成はYamazakiらによっても報告されており³³、またごく最近著者らが報告した⁹⁷2'-デオキシ3-DAdoの合成ではシクロ体形成は観察されておらず、これらの結果も**129**の構造を強く支持している。

糖部水酸基を保護していない基質ではシアノ基がアンモニアの求核攻撃に対して比較的不活性であるために2'位水酸基との間での反応が優先することが判明したので糖部水酸基をシリル基で保護した基質を用いることとした。

まず常法に従いTBDMSClを用いて化合物**131**を合成した。引き続いて**131**を先と同様、メタノール性アンモニアと120℃で加熱処理したところ3-デアザ体を**132**を76%の収率で得ることができた。化合物**132**はシリル基を除去し、ほぼ定量的に**103**へと変換した (Scheme 41)。



Scheme 41

以上の方法により著者は3-DAdo (**103**)をAICARより8行程、全行程収率20%の収率で合成することに成功した。またこの方法を用いた場合、**103**の合成において一つの問題点である塩酸塩の形成が起こらず従来法⁹⁹と比較して収率ならびに操作の面で極めて優れていると考えている。



Fig. 16

第4章 3-ハロゲノ-3-デアザプリンヌクレオシド類の合成

3-デアザプリンヌクレオシド類のなかで3-DGuo (3)はヌクレオシドフォスホリラーゼにより3-デアザグアニンへと変換された後、HGPRTにより代謝活性化体であるモノリン酸体に変換されると考えられている。このことは3-デアザグアニン (3-DG)や3-デアザグアノシン-5'-モノリン酸 (3-DGMP)にも同等の活性が見られることから示唆されており^{9, 11}、さらに優れたIMPDH阻害剤の開発を目指してその2'-デオキシ体**133**やアラビノ体**134**の合成が報告されている¹⁰⁰。

一方、3-DAdo (**103**)についても3-デアザネプラノシンA (**135**)や3-デアザアリストロマイシン (**136**)など多くのSAHase阻害剤の合成が報告されている^{82, 101}。また最近、Prusらによって**103**がマウス白血病細胞において極めて僅かではあるがトリリン酸体に代謝されることが報告され¹⁰²、ジデオキシ体 (**137**)なども合成されている¹⁰³ (Fig. 16)。

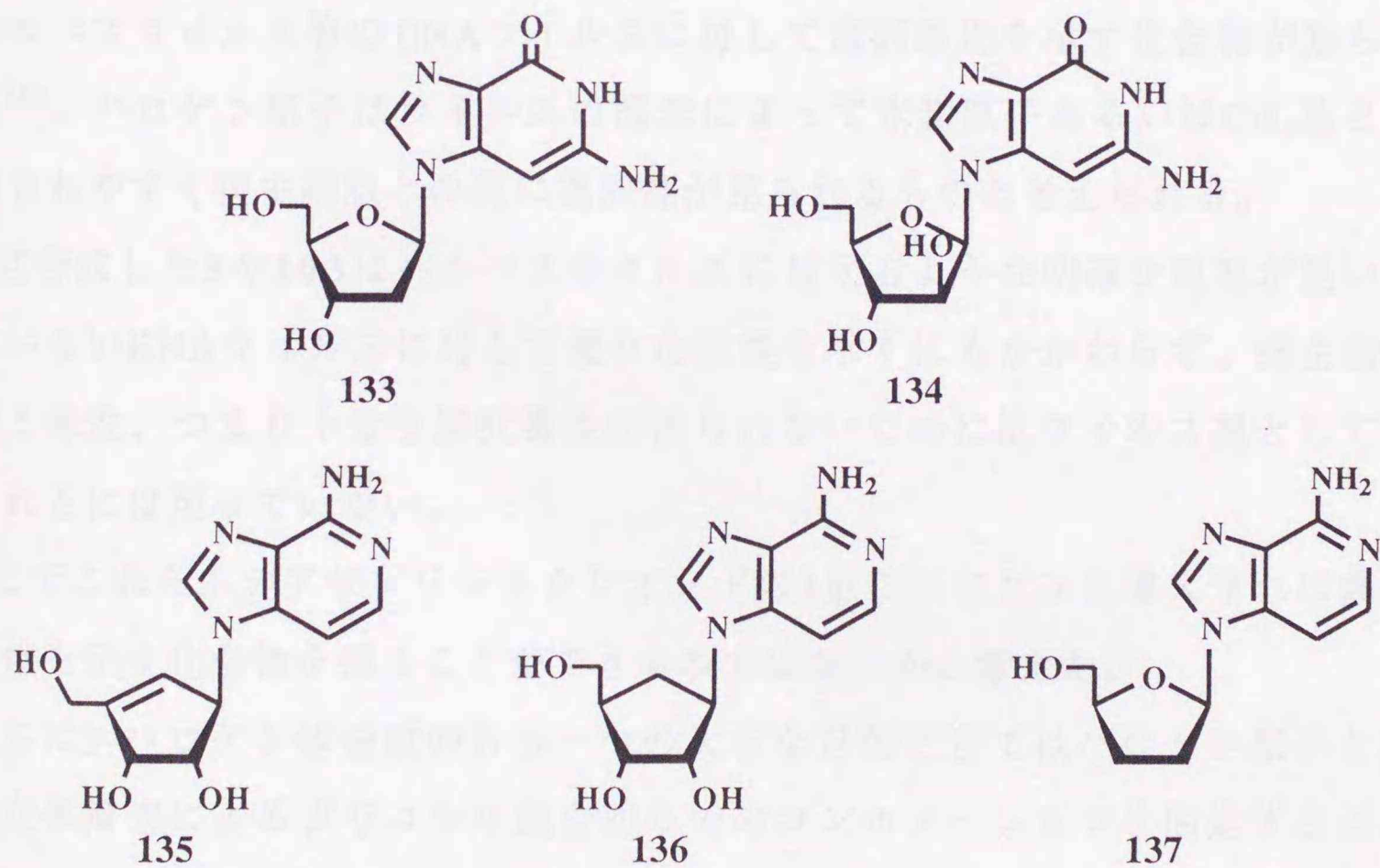


Fig. 16

しかし現在知られている3-デアザプリン誘導体は全て上記化合物のようにヌクレオシド糖部の変換体であり塩基部変換体についての報告は全くなされていない。

著者は3-デアザプリンヌクレオシドが塩基部にイミダゾピリジン環を有してお

り3位での種々の親電子試薬との反応性が期待できると考えた。そこで3-デアザプリンヌクレオシドの塩基部3位にハロゲンを導入した3-ハロゲノ-3-デアザプリンヌクレオシドを合成することを計画した(Fig. 17)。3位にハロゲンを導入することは以下の理由から非常に興味を持たれるところである。

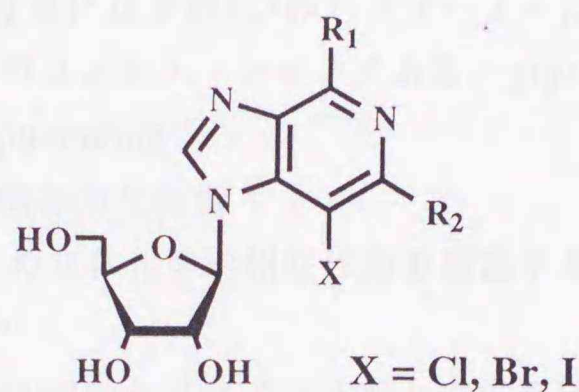


Fig. 17

即ち、第1に高い選択毒性を持つ抗RNAウイルス剤の開発という点である。既にピリミジンヌクレオシドについてはピリミジン5位にハロゲンを導入することによりヘルペスウイルス等のDNAウイルスに対して選択毒性を示す化合物が知られている¹⁰⁴。ハロゲン原子はウイルスの酵素によって水素原子あるいは CH_3 基として認識されやすく宿主細胞との間に選択性が見られるものと考えられる。

今回合成した**3**や**103**はヘルペスウイルスに対するような明確な戦略が見いだされていないRNAウイルスに対して優れた活性を示すにもかかわらず、宿主細胞に対する毒性、つまり十分な選択毒性が得られないために抗ウイルス剤としては使用されるには至っていない。

そこでこれら3-デアザプリンヌクレオシドの3位にハロゲンを導入すれば高い選択毒性を示す化合物を得ることができるのではないかと考えた。

さらに3-ハロゲン体合成のもう一つの大きな目的としてはハロゲン原子と糖部との立体障害によるグリコシル結合回りでのコンホメーションを固定することにある。つまり酵素や受容体に基質が結合する際、その認識様式は極めて立体特異的であり、ヌクレオシドやヌクレオチドが基質である場合、グリコシル結合回りのコンホメーション、いわゆるsyn-anti配座の問題^{注1}が最も重要であると考えられており、この3-ハロゲン体がanti配座に固定された基質として酵素との立体化学的相互作用を研究する有用なモデル化合物になることを期待した。

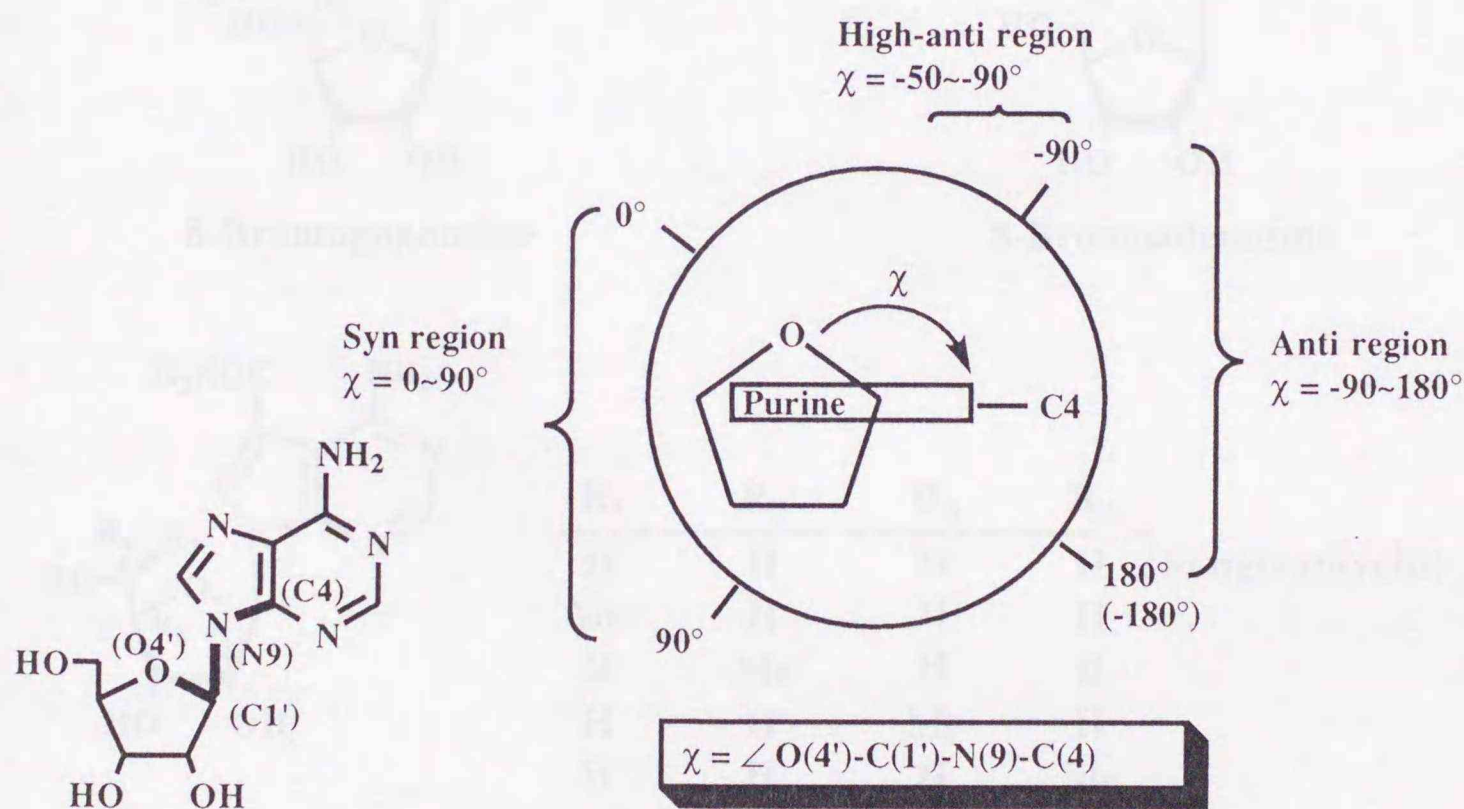
グリコシル結合を特定のコンホメーションに固定する方法としては塩基部と糖部を架橋させることが最も確実な方法であると考えられる。既に様々なtorsion angleに固定したシクロヌクレオシドが合成され、いくつかの酵素に関して相互作用が議論されている¹⁰⁵。

注1 ヌクレオシドの立体構造は主に以下の3つのパラメーターによって規定される¹⁰⁶。

- 1). グリコシル結合回りのコンホメーションである、glycosyl torsion angle (χ)
- 2). 糖部フラノース環のpuckering
- 3). exo-cyclicなC4'-C5'間のねじれ角

この中で1)の問題が酵素との立体化学的相互作用を議論するうえで最も重要であると考えられている。

下図にglycosyl torsion angle (χ)とフラノース環上の塩基部の相対的な位置との関係を模式的に示した。



Schematic view of glycosyl torsion angles

一般にヌクレオシドのグリコシル結合回りのコンホメーションに関してエネルギー的に比較的安定な領域としてプリン環C-4がフラノース環の外側に位置するanti配座、フラノース環上に位置するsyn配座、ほぼ中間に位置するhigh-anti配座が知られているが、本論ではsyn、anti配座に大別して議論する。また3-ハロゲノ-3-デアザプリンヌクレオシドが3位ハロゲンの立体障害によりC-4がフラノース環上に位置するsyn配座を取りえない基質であると考え、“anti配座固定”という表現を用いた。

当研究室でもこれまでに多くのシクロヌクレオシドの合成を手掛けておりごく最近、Yoshimuraらは炭素架橋によってグリコシル結合を固定したC-シクロピリミジンヌクレオシドを合成し、分光学的及び生化学的性質に関して研究を行ない非常に有益な情報を得ている¹⁰⁷。

しかし架橋によってコンホメーションの固定を行なう場合に糖部フラノース環のpuckeringまでも固定されることが考えられ、このような観点からグリコシル結合まわりのコンホメーションのみを天然基質により近い形で固定する試みが行なわれ、塩基部や糖部に置換基を導入したヌクレオシド誘導体が合成されている (Fig. 18)。

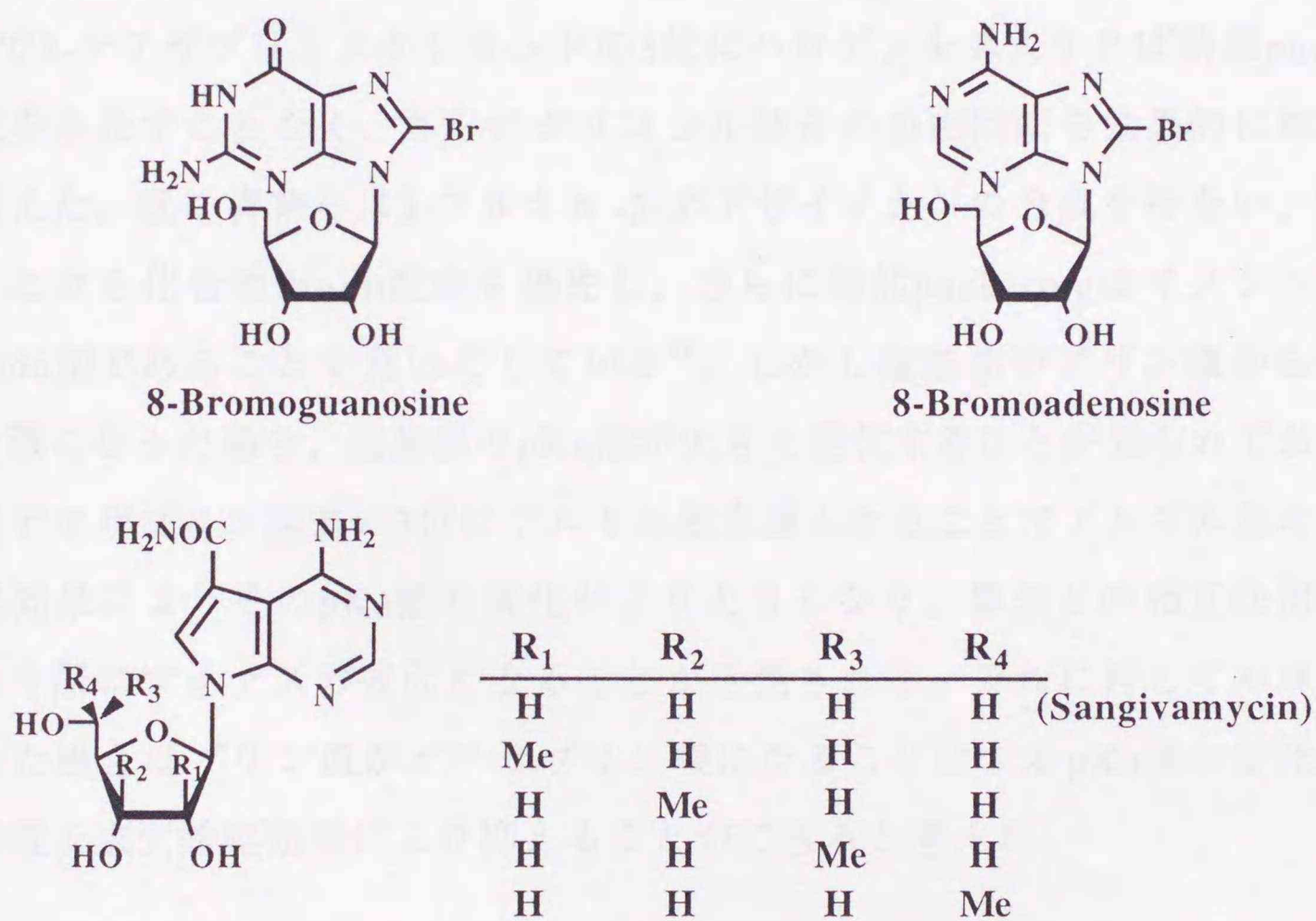


Fig. 18

プリン塩基の8位にブロモ基を導入した8-bromoguanosineや8-bromoadenosineはブロモ基と糖部との立体障害が生じるために結晶や溶液中のいずれの状態でもsyn配座をとることが示されており、Tavaleらは8-bromoguanosine triphosphateがanti配座をとるヌクレオチドを優先して認識するQβ replicaseや*E. coli* transcriptaseの基質とならないことを報告している¹⁰⁸。しかしAbdallahらは8-bromoadenosine diphosphoriboseが馬のriver alcoholdehydrogenaseのNAD結合部位にanti配座で結

合していることを共結晶のX線結晶構造解析から明かにしている¹⁰⁹。

この結果からも明らかなように塩基部あるいは糖部の置換基によってヌクレオシド（ヌクレオチド）のsyn-anti配座を固定しようとする場合、酵素と結合した際に強制的にコンホメーションが変化する可能性があり置換基の結合する位置が非常に重要であると考えられる。

Iimoriらはsangivamycinの糖部2', 3', 5'各位にメチル基を導入し、そのメチル基と塩基部の立体障害によりコンホメーションの固定を試みている¹¹⁰。しかし糖部にメチル基を導入してもその置換基は塩基部の回転領域より外れた位置に存在し、十分な立体障害とはならない。また糖部に置換基を導入した場合、糖部puckeringが大きく変化することが¹H-NMR実験より明かとなっている。

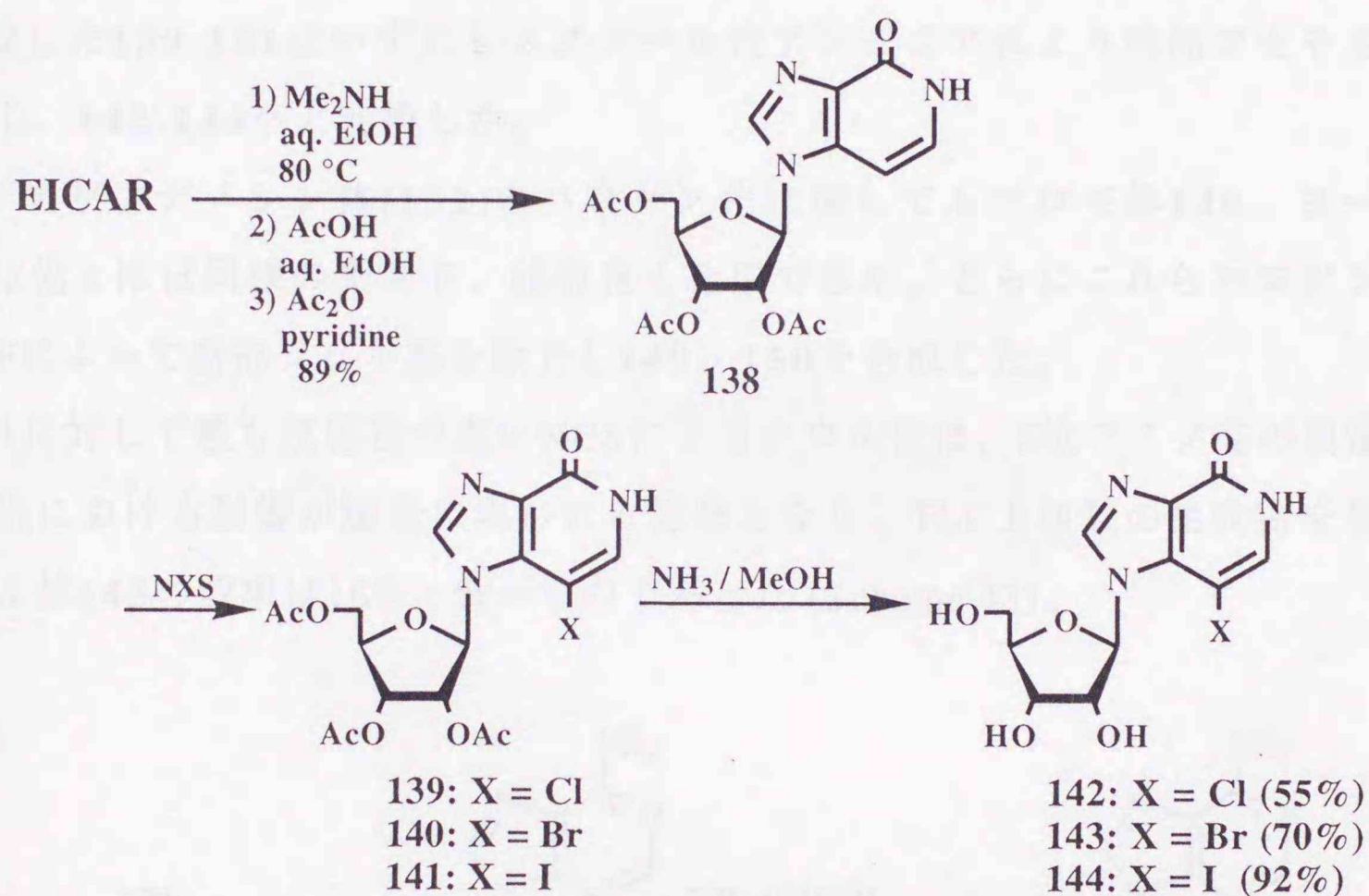
そこで3-デアザプリンヌクレオシドの3位にハロゲンを導入すれば糖部puckeringに変化をきたすことなく、さらにグリコシル結合の自由回転を効果的に制御できると考えた。既に青柳らは3-アルキル-3-デアザイノシンの合成を行ない、NOE実験からこれら化合物がanti配座を優先し、さらに糖部puckeringはイノシンと同様C2'-endo型であることを見いだしている⁹⁸。しかし塩基部がプリン環からデアザプリン環になった場合、塩基部のpKa値が大きく変化することが知られており^{注1}、さらにデアザプリン塩基の3位にアルキル基を導入することでアルキル基の電子供与誘起効果によりそのpKa値の変化がより大きくなり、酵素との相互作用の研究を行なう際にマイナスの要因となることが予想される。それに対してハロゲンを導入した場合はプリン環がデアザプリン環になることによるpKa値の変化をハロゲンの電子求引誘起効果により抑えることができると考えた。

^{注1} 例えば2'-デオキシアデノシンではN1位のpKaが3.8であるのに対して、2'-デオキシ-3-デアザアデノシンではその値が7.3になっている^{103b}。同様のpKa値の変化がすべてのデアザプリンヌクレオシドについても観察された (p89, Table 16)。

第1節 3-ハロゲン-3-デアザプリンヌクレオシドの合成と生物活性

まず、3-DIno(**104**)の3位ハロゲン体を合成することにした。原料となるトリアセチル-3-デアザイノシン(**138**)はEICARをジメチルアミン処理した後、続いて糖部水酸基のアセチル化を行ない合成した。

化合物**138**の塩基部3位のクロル化、ブロム化については塩化メチレン中、NCSまたはNBSと処理することにより行ない**139**、**140**をそれぞれ収率良く合成できた。またヨード体**141**はDMF中、NISと処理することによって合成した(Scheme 42)。



comp.	NXS	X	solvent	temp	reaction time	yield
139	NCS	Cl	CH ₂ Cl ₂	r.t.	39 hr	71%
140	NBS	Br	CH ₂ Cl ₂	r.t.	3 hr	78%
141	NIS	I	DMF	r.t.	9.5 hr	75%

Scheme 42

なお、ハロゲン化が3位で進行していることについてはNOE実験により確認を行った。即ち、Fig. 19に示したように化合物**138**では1'位プロトンを照射した場合に3位及び8位プロトンにそれぞれ3%、8%でNOEが観察されたのに対して、クロル体**139**では8位プロトンにのみ0.3%でNOEが観察され、さらにN1位プロトン

を照射した場合に2位プロトンに12%でNOEが観察され、これらの結果は**139**の構造を支持するものであった。

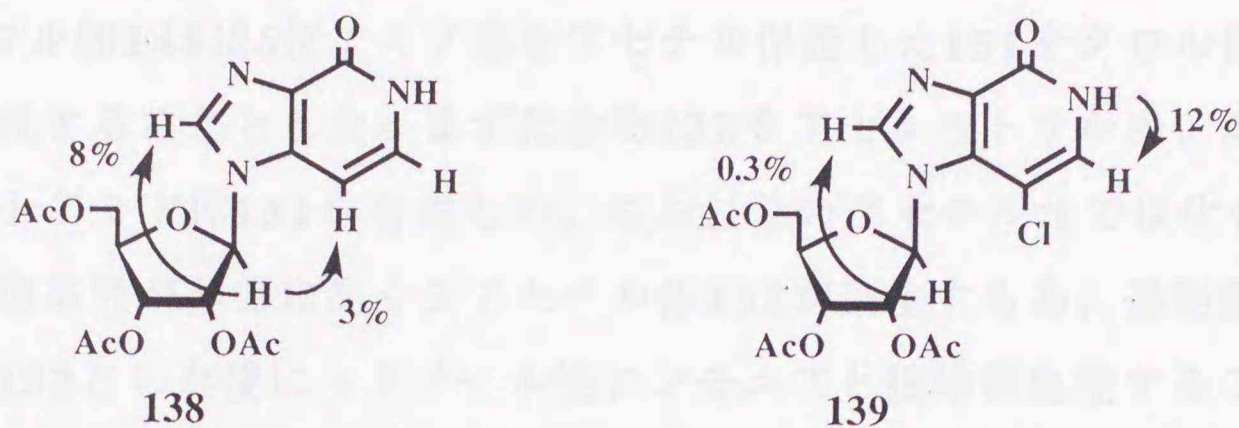
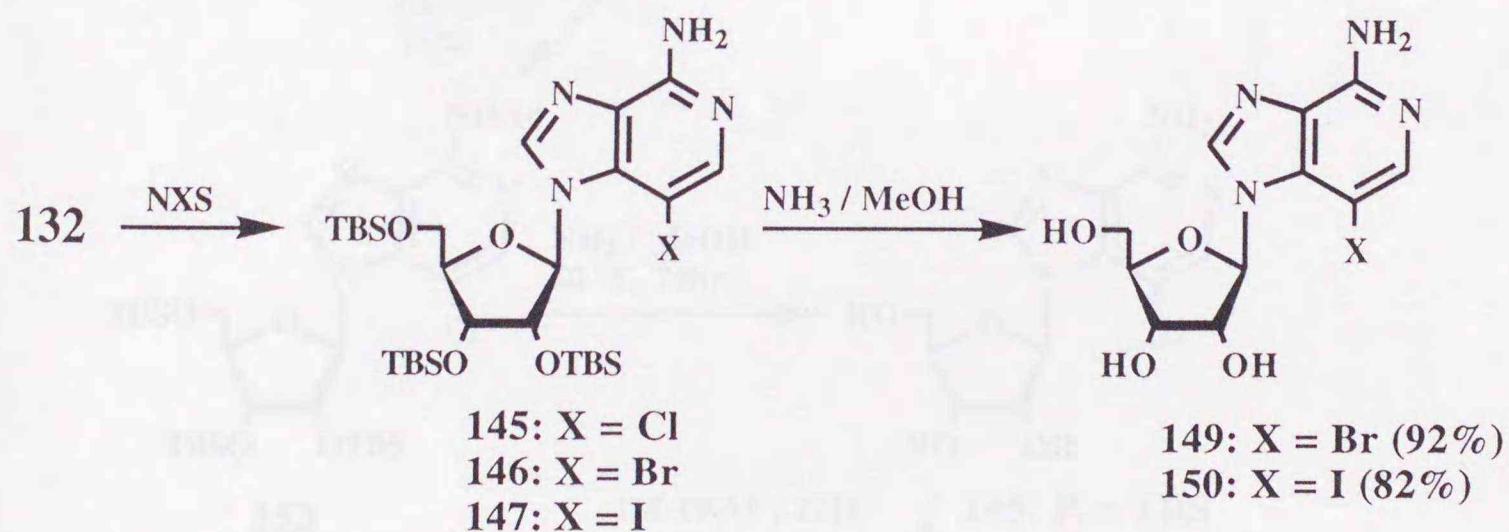


Fig. 19 NOE experiments on compound **138** and **139**

合成した**139-141**はいずれもメタノール性アンモニアにより糖部アセチル基を除去し、**142-144**へと変換した。

3-デアザアデノシン体(**132**)のハロゲン化に関してもブロモ体**146**、ヨード体**147**は先とほぼ同様の条件下、収率良く合成できた。さらにこれらハロゲン体はTBAFによって糖部シリル基を除去し**149**、**150**を合成した。

それに対して最も反応性の高いNCSによるクロル化は、6位アミノ基の親電子置換反応における影響が顕著に現われる結果となり、TLC上複数の生成物を与え、クロル体**145**の収率は16%と低いものであった (Scheme 43)。

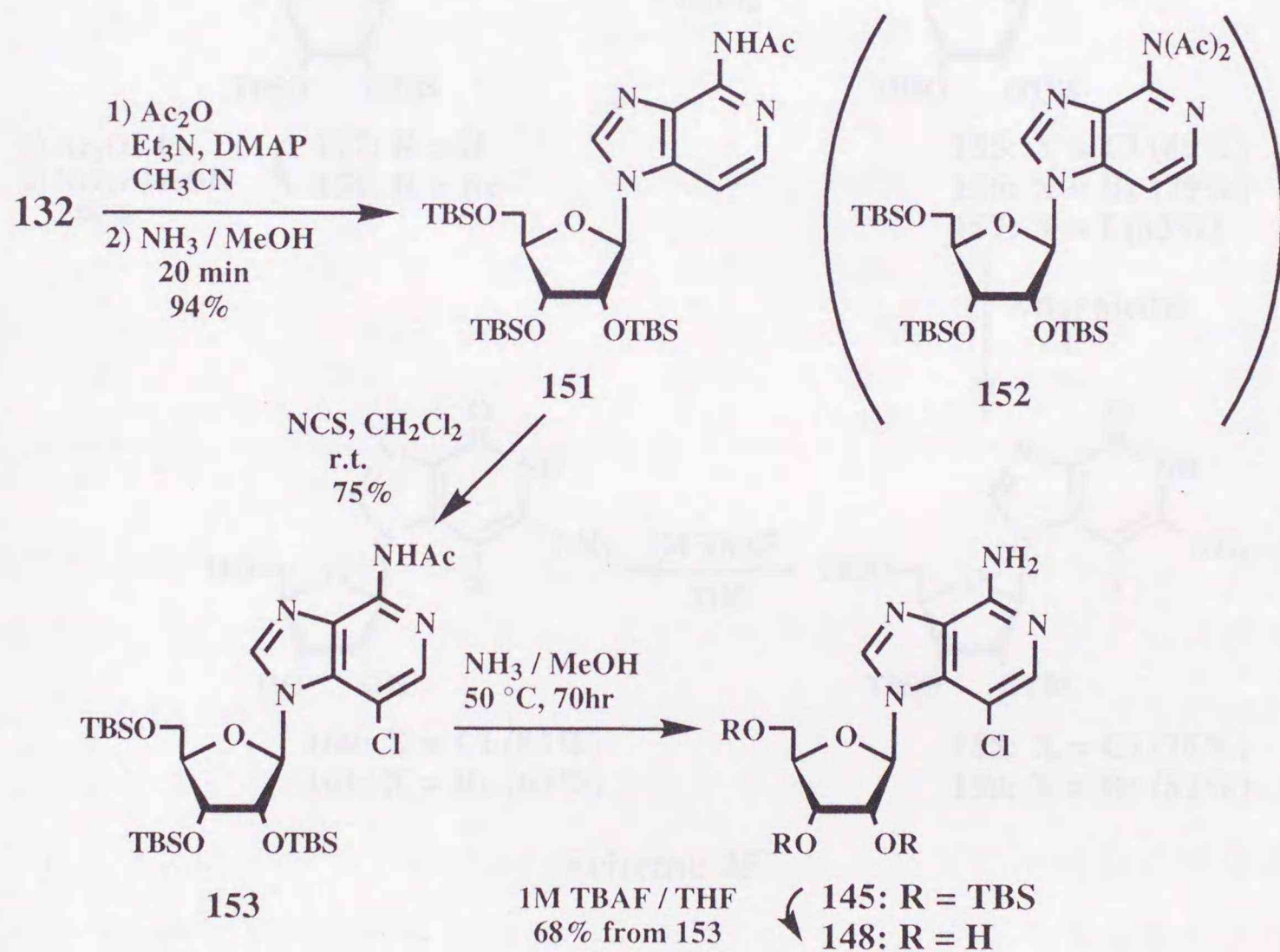


comp.	NXS	X	solvent	temp	reaction time	yield
145	NCS	Cl	CH ₂ Cl ₂	-15 °C	3 hr	16%
146	NBS	Br	CH ₂ Cl ₂	-15 °C	30 min	74%
147	NIS	I	DMF	r.t.	14 hr	73%

Scheme 43

その他の生成物については塩基部にさらにクロル化が進行した化合物と考えられたが、単離精製が困難であった為、構造確認には至らなかった。

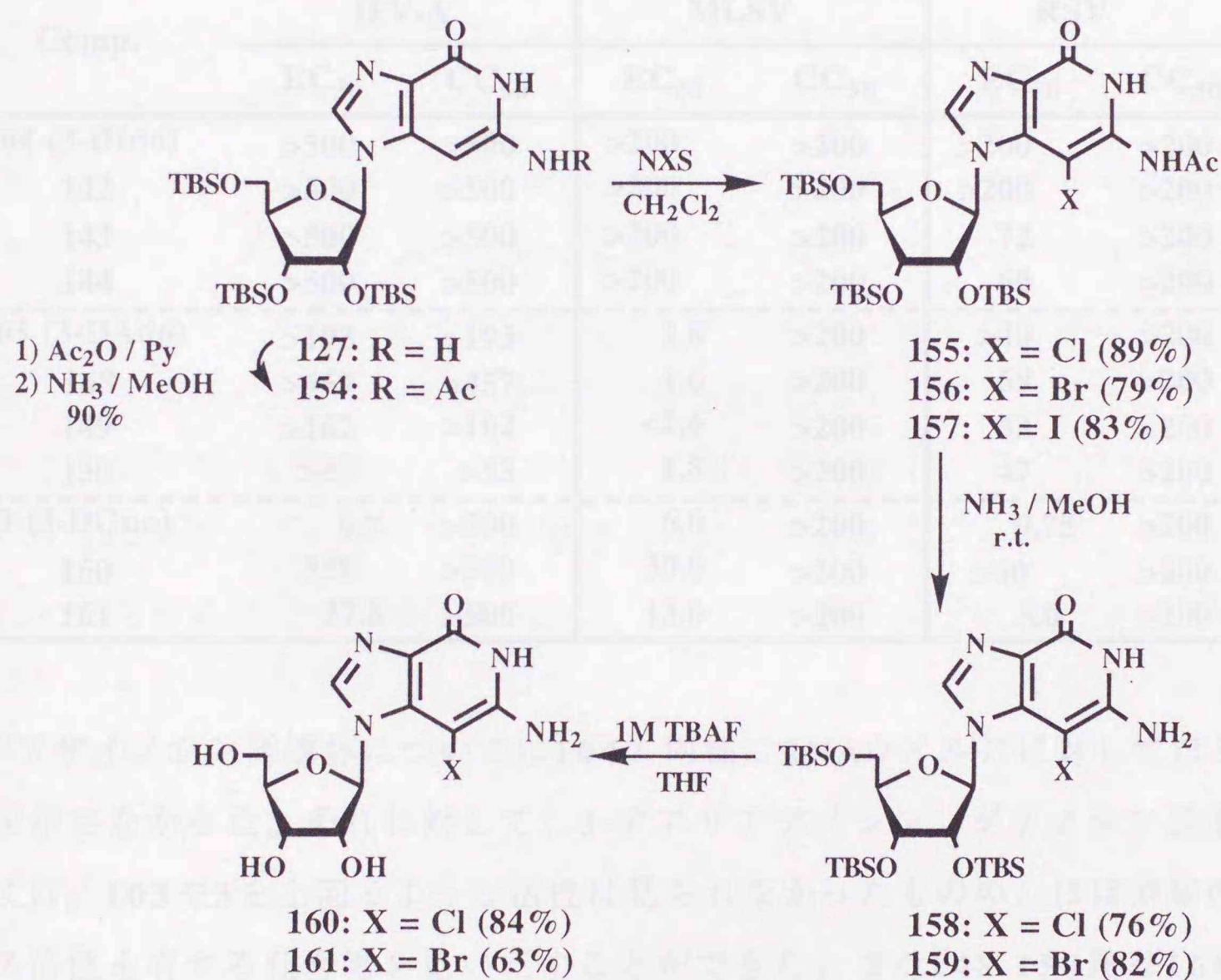
そこでクロル体**148**は6位アミノ基をアセチル保護した**151**をクロル化することによって合成することとした。まず化合物**132**をアセトニトリル中、無水酢酸と処理しアセトアミド体**151**を合成した。なお、このアセチル化では化合物**132**のアミノ基の塩基性が非常に高くジアセチル体**152**が副生する為、過剰量の無水酢酸を用いて**152**とした後にメタノール性アンモニアと短時間処理することによって**151**を合成した。化合物**151**は先と同様の条件化でクロル化を行ない、**153**を75%の収率で合成した。化合物**153**はスチール封管中、50℃でメタノール性アンモニアと処理し**145**とした後、引き続きシリル基の除去を行ない**148**へと変換した(Scheme 44)。



Scheme 44

3-デアザグアノシン体**127**のハロゲン化では2位アミノ基の影響がさらに大きく現われると考えられたので、全てのハロゲン化においてアセトアミド体**154**を用

いることにした。化合物**151**の合成と同様、**127**を過剰の無水酢酸と処理した後、メタノール性アンモニアと処理することにより**154**を合成した。続いてハロゲン化はいずれの場合も塩化メチレン中に行ない、ハロゲン体**155-157**を収率良く合成することができた。アセチル基の除去はメタノール性アンモニアと室温で処理することによって行ない**158**、**159**を得ることができたが、ヨード体**157**の場合においてはアセチル基の除去と共にヨードの還元等の副反応が起こり、目的化合物を合成することはできなかった。得られた**158**、**159**についてはシリル基を除去しクロル体**160**、ブロモ体**161**をそれぞれ合成した(Scheme 45)。



Scheme 45

以上合成した3-ハロゲン-3-デアザプリンヌクレオシドについて、RNAウイルス (IFV-A; influenza A virus, MLSA; Measles virus, RSV; respiratory syncytial virus) に対する活性を検討した (Table 13)。抗ウイルス活性はウイルス感染細胞、非感染細胞に対するそれぞれの50%増殖抑制濃度であるEC₅₀、CC₅₀を用いて表した。またそれぞれのRNAウイルスに対する3-デアザプリンヌクレオシドの活性を併せて示した。

Table 13 Antiviral effects of 3-deazapurine nucleosides

Comp.	(μg / ml)					
	IFV-A		MLSV		RSV	
	EC ₅₀	CC ₅₀	EC ₅₀	CC ₅₀	EC ₅₀	CC ₅₀
104 (3-DIno)	>500	>500	>200	>200	>200	>200
142	>500	>500	>200	>200	>200	>200
143	>500	>500	>200	>200	72	>200
144	>500	>500	>200	>200	60	>200
103 (3-DAdo)	>193	>193	1.8	>200	>40	>200
148	>457	>457	1.6	>200	69	>200
149	>162	>162	<1.6	>200	53	>200
150	>53	>53	1.8	>200	47	>200
3 (3-DGuo)	9.7	>500	6.0	>200	0.75	>200
160	358	>500	30.0	>200	>40	>200
161	37.8	>500	13.0	>200	3.0	>200

3-デアザイノシン誘導体については**104**と同様にRNAウイルスに対してほとんど活性を示さなかった。それに対して、3-デアザアデノシン、グアノシン誘導体に関しては、**103**や**3**を上回るような活性は見られなかったものの、ほぼ同等の抗ウイルス活性を有する化合物を見いだすことができた。また**148-150**及び**160,161**の抗ウイルス活性についてはCl>Br>Iの順にED₅₀が小さくなる傾向が観察され、ハロゲンの活性に及ぼす影響を検討すると共に、デアザプリン塩基部のさらなる置換基導入に期待が持たれるところである。

第2節 3-ハロゲン-3-デアザプリンヌクレオシドのNMRを用いた立体構造解析

3-ハロゲン-3-デアザプリンヌクレオシド合成のもう一つの目的であるヌクレオシドのグリコシル結合回りでのコンホメーションの固定という点に関しては、著者は合成したヌクレオシド誘導体の ^1H -NMR測定を行なっている間に、ある興味深い傾向を見いだしたので、まずそのことから記述する。

Table 14に各種3-デアザプリンヌクレオシド誘導体の糖部プロトンのNMRスペクトルデータを示したが、これらを比較すると1'位プロトンのケミカルシフト値にのみ大きな変化が観察されている。

3-デアザイノシン誘導体を例にとると、3-DIno(**104**)では1'位プロトンのシグナルが5.71 ppmに観察されるのに対して、ハロゲン体**142-144**ではそのシグナルのケミカルシフト値が0.6~0.9 ppm低磁場に観察されている。このような現象は3-デアザアデノシン、グアノシン誘導体にも同様に見られ、しかもいずれの場合も2'位プロトンのシグナルにも若干観察されているものの、他の糖部プロトンシグナルには全くケミカルシフト値の変化が見られなかった。

このような現象が観察された理由については1'位プロトンがハロゲンと空間的に近い位置にあるためにプロトンの電子雲にひずみが生じ、そのシグナルが低磁場にシフトするというvan der waals効果¹¹¹を一つの要因と考えている。1'位プロトンのシグナルの低磁場シフトの割合がハロゲンのvan der waals半径が大きくなるに従い増加していることはこの考えを支持するものであると考えられた。しかし同様の効果があると考えられる3-アルキル-3-デアザイノシン誘導体**162, 163**⁹⁸では低磁場シフトが観察されるもののその変化値はハロゲン体よりもかなり小さく、van der waals効果によってのみこの現象を説明することは不可能であると思われた。このことから今回の結果については、ハロゲンを導入したことにより双極子モーメントが生じ、さらにそのハロゲンと空間的に近い位置に存在する1'位プロトンに双極子-双極子相互作用¹¹²が現われたことも大きな要因を占めていると現在のところ考えている

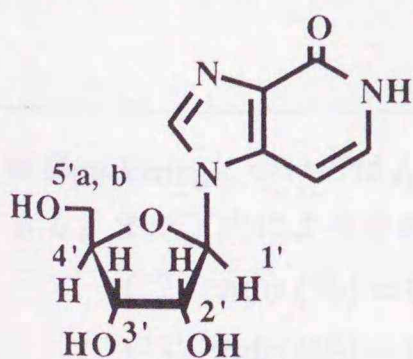
上述した効果が1'位プロトンに特に大きく現われていることは著者が考えたとおりハロゲンの立体障害により3-ハロゲン体がsyn配座を取ることができず、anti

Table 14 ^1H -NMR Spectra of sugar protons of 3-deazapurine nucleoside analogues in $\text{DMSO}-d_6$ (ppm)

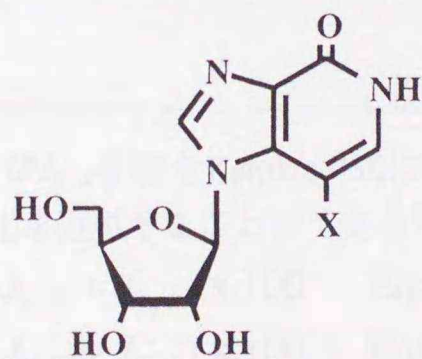
Comp.	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'a,b
104	5.71 $J_{1',2'} = 6.6 \text{ Hz}$	4.23	4.06 $J_{3',4'} = 3.3 \text{ Hz}$	3.94	3.62, 3.56
142	6.34 $J_{1',2'} = 4.9 \text{ Hz}$	4.33	4.08 $J_{3',4'} = 4.4 \text{ Hz}$	3.93	3.68, 3.57
143	6.47 $J_{1',2'} = 5.0 \text{ Hz}$	4.38	4.08 $J_{3',4'} = 3.8 \text{ Hz}$	3.93	3.65, 3.54
144	6.61 $J_{1',2'} = 5.5 \text{ Hz}$	4.44	4.10 $J_{3',4'} = 3.3 \text{ Hz}$	3.92	3.59, 3.55
162	6.00 $J_{1',2'} = 5.4 \text{ Hz}$	4.30	4.09 $J_{3',4'} = 3.4 \text{ Hz}$	3.94	3.67, 3.57
163	5.92 $J_{1',2'} = 5.4 \text{ Hz}$	4.32	4.10 $J_{3',4'} = 3.9 \text{ Hz}$	3.95	3.66, 3.57

103	5.75 $J_{1',2'} = 6.2 \text{ Hz}$	4.31	4.09 $J_{3',4'} = 3.3 \text{ Hz}$	3.95	3.66, 3.59
148	6.35 $J_{1',2'} = 5.1 \text{ Hz}$	4.37	4.11 $J_{3',4'} = 4.4 \text{ Hz}$	3.93	3.66, 3.56
149	6.48 $J_{1',2'} = 5.5 \text{ Hz}$	4.40	4.10 $J_{3',4'} = 4.4 \text{ Hz}$	3.92	3.64, 3.54
150	6.62 $J_{1',2'} = 5.5 \text{ Hz}$	4.46	4.10 $J_{3',4'} = 4.4 \text{ Hz}$	3.92	3.60, 3.55

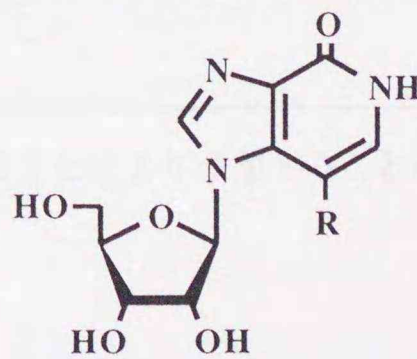
3	5.46 $J_{1',2'} = 6.1 \text{ Hz}$	4.21	4.01 $J_{3',4'} = 3.9 \text{ Hz}$	3.87	3.61, 3.51
160	6.28 $J_{1',2'} = 4.9 \text{ Hz}$	4.27	4.06 $J_{3',4'} = 4.4 \text{ Hz}$	3.88	3.63, 3.53
161	6.43 $J_{1',2'} = 4.9 \text{ Hz}$	4.30	4.06 $J_{3',4'} = 4.4 \text{ Hz}$	3.88	3.61, 3.55



104



142: X = Cl
143: X = Br
144: X = I



162: R = Me
163: R = Et

配座にコンホメーションが固定された化合物であることを支持しているものと考えた。

またTable 14に併せて示した1'位、2'位及び3'位、4'位プロトンのカップリング定数から明らかなように糖部puckering^{注1}については若干の違いはあるものの、いずれの化合物も天然プリンヌクレオシド^{注2}と同様、C2'-endo型を優先しておりハロゲンの導入によりグリコシル結合回りのコンホメーションのみが制限されていることが明かとなった。

さらに著者は3-ハロゲン体のanti配座における優先性の確認を行なう目的でNOE実験を行なった。ヌクレオシドのsyn-anti配座の議論^{注3}を行なう場合、NOE実験を用いた方法が古くから行なわれている¹¹³。即ち、プリンヌクレオシドを例にとると塩基部8位プロトンを照射した場合、syn配座を優先する化合物では1'位プロトンに、またanti配座を優先する化合物では2', 3'位プロトンにそれぞれ強いNOEが観察されるという事実に基づいた考え方である(Fig. 20)。

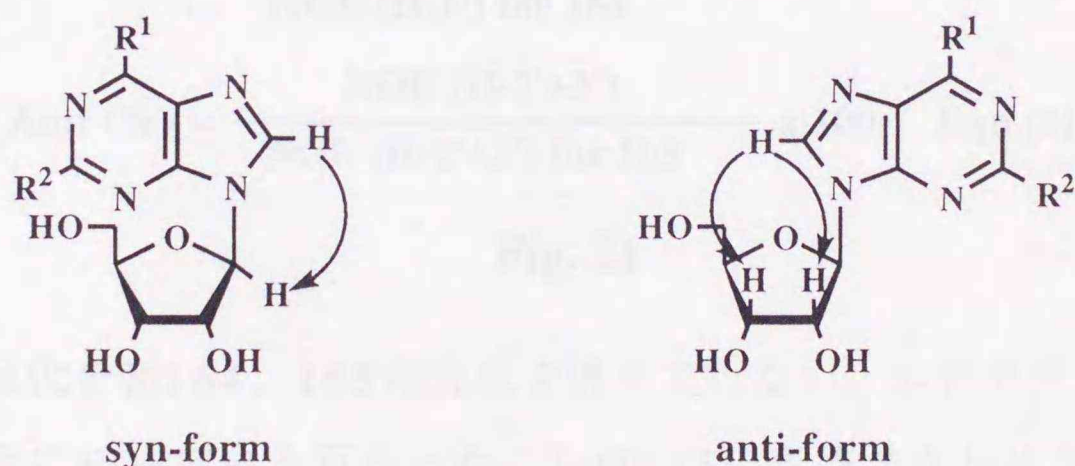


Fig. 20

^{注1} 糖部puckeringについては $J_{1',2'}$ および $J_{3',4'}$ の値をKarplusの式にあてはめることにより予想することができる。また下式によりその存在比を近似することができる^{98, 114}。

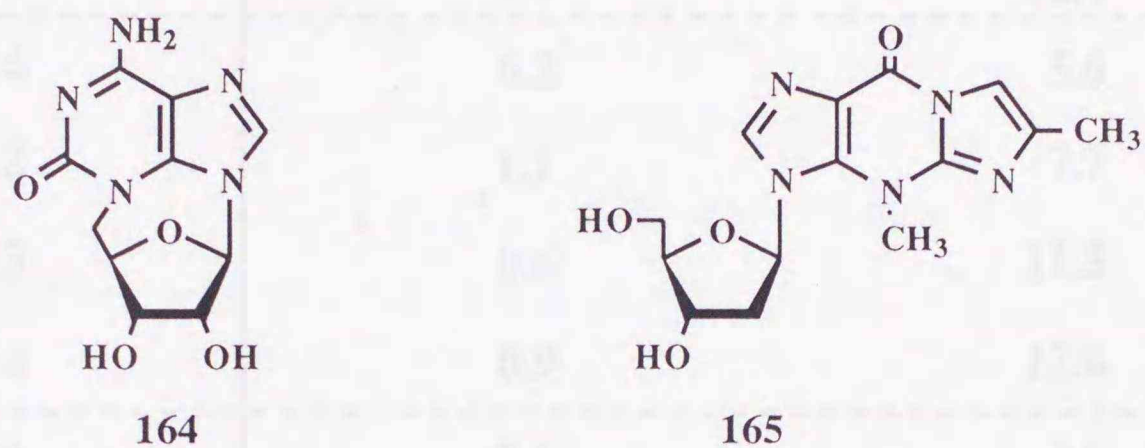
$$\text{C2'-endo (\%)} = (J_{1',2'} / (J_{1',2'} + J_{3',4'})) \times 100 \quad \text{Eqn (1)}$$

$$\text{C3'-endo (\%)} = (J_{3',4'} / (J_{1',2'} + J_{3',4'})) \times 100 \quad \text{Eqn (2)}$$

^{注2} Inosine; $J_{1',2'} = 5.4$, $J_{3',4'} = 3.9$ Hz, Adenosine; $J_{1',2'} = 6.6$, $J_{3',4'} = 3.8$ Hz, Guanosine; $J_{1',2'} = 6.1$, $J_{3',4'} = 4.1$ Hz (DMSO- d_6)でありいずれも溶液中、C2'-endo型を優先している。

^{注3} 近年、高分解能NMRの普及によりヌクレオシドのコンホメーションをより詳細に議論した報告が数多く発表されている¹¹⁵。

またごく最近、Rosemeyerらはこの考え方をさらに発展させ、syn-anti配座の存在比を半定量的にはあるが求めている。彼らは $N^3,5'$ -anhydroisoguanosine(**164**)および2'-deoxywyosine(**165**)をそれぞれ100%synおよびanti配座をとる標準化合物とし、(1)式よりsyn配座をとる割合を、また(2)式よりanti配座をとる割合を求め、さらにそれぞれの式によって求めた値の和が $100\pm 10\%$ を満たしていると報告している¹¹⁶(Fig. 21)。



$$\text{Syn (\%)} = \frac{\text{NOE (H-1')}}{\text{NOE (H-1')} \text{ for } \mathbf{164}} \times 100 \quad \text{Eqn (1)}$$

$$\text{Anti (\%)} = \frac{\text{NOE (H-2'+3')}}{\text{NOE (H-2'+3')} \text{ for } \mathbf{165}} \times 100 \quad \text{Eqn (2)}$$

Fig. 21

そこで著者は化合物**164**、**165**の合成を併せて行ない、3-デアザプリンヌクレオシド誘導体と共にNOE実験を行なった。Table 15に各種ヌクレオシドの塩基部8位^{注1}を照射した場合に1'位、および2'位と3'位に観察されたNOEの%増加率を示した。

まず、syn配座に固定されている化合物**164**では1'位プロトンにのみ7.8%のNOEが観察され、またanti配座を優先する化合物**165**では2', 3'位プロトンに12.4%のNOEが観察されており、1'位プロトンに観察されるNOEは極めて小さいものであった。これらの値を基準値として、3-デアザプリンヌクレオシド誘導体について得られた値からそれぞれのヌクレオシドのsyn-anti配座の占有率の算出を試みた。しかしFig. 21の(1)式、(2)式より得られた値は $100\pm 10\%$ を満たすものではなく、各

^{注1} 2'-deoxywyosineでは塩基部2位を照射した。

配座の占有率を定量的に求めることはできなかった。

Table 15 Results of NOE experiments on 3-deazapurine nucleoside analogues

Compound	1'-H (%)	2'+3'-H (%)
164	7.8	0
165	1.1	12.4
104	6.2	5.6
142	1.1	7.7
143	0.6	11.5
144	0.9	12.6
103	7.1	4.6
148	1.3	9.9
149	1.3	11.0
150	1.1	12.4
3	3.8	6.4
160	0.6	9.0
161	1.5	9.3

NOE measurements (irr. of H-8) were run in DMSO- d_6 at 0.05M.

一般にNOEは測定条件（例えば、測定温度や常磁性物質の混在等）によって大きな影響を受けることが知られており、今回のような定量的な測定を目的とする場合にはさらに厳密な測定条件の設定が必要であると思われた。しかし3-ハロゲン体について得られたNOE実験の結果は、これらヌクレオシドがanti配座を優先していることを定性的に示していると考えられた。

以上のNMR実験より3-ハロゲノ-3-デアザプリンヌクレオシドがハロゲンの立体的な効果によりグリコシル結合回りのコンホメーションのみが固定されたヌクレオシド誘導体であることを明かとした。

第3節 3-ハロゲノ-3-デアザプリンヌクレオシドのpKa値

プリン塩基がデアザプリン塩基に変わるによりヌクレオシド塩基部のpKa値は大きく変化する。例えば2'-デオキシアデノシンではN1位のpKaが3.8であるのに対して、2'-デオキシ-3-デアザアデノシンではその値が7.3であり^{103b}、このような塩基部の電子構造の変化は酵素による基質認識においても大きな影響を及ぼすと考えられる。

本章の序の部分においてコンホメーションを固定するためにデアザプリン塩基部の3位に導入する置換基を上記の様な電子構造の変化を最小限に抑えるために、電気陰性度の大きいハロゲンとしたことを述べたが、その効果がどのように現われているかを実際にそれぞれの化合物のpKa値^{注1}を測定することによって調べた (Table 16)。

Table 16 pKa Values of 3-deazapurine nucleoside analogues

Compound	pKa ₁	pKa ₂
Inosine	9.1	
104	13.1	
142	11.1	
143	11.3	
144	11.7	
Adenosine	3.6	
103	7.0	
148	5.1	
149	5.2	
150	5.2	
Guanosine	1.9	9.2
3	2.7	12.3
160	2.0	10.5
161	2.1	10.5

注1 イノシン、アデノシン誘導体においてはpKa₁はN1位のpKa値を示している。
またグアノシン誘導体についてはpKa₁、pKa₂はそれぞれN7位、N1位のpKa値を示している。

イノシン誘導体を例にとると、inosineでは pK_{a1} が9.1であるのに対して3-DIno (104)では13.1になっており環内窒素原子の欠如が pK_a 値に大きな影響を与えている。それに対してハロゲン体ではハロゲンの電子求引誘起効果により期待したとおり pK_{a1} が11付近にまで低下しており、さらにこのような現象がアデノシン、グアノシン誘導体にも観察されており塩基部の pK_a 値は天然ヌクレオシドの値に近くなっていることが解かった。

以上の結果から、今回合成した3-ハロゲノ-3-デアザプリンヌクレオシド誘導体はグリコシル結合回りのコンホメーションのみがanti配座に固定され、糖部 puckeringや塩基部の pK_a 値の変化は最小限に抑えられているものであり、天然基質により近い形でのコンホメーションの固定が実現できたものと考えた。

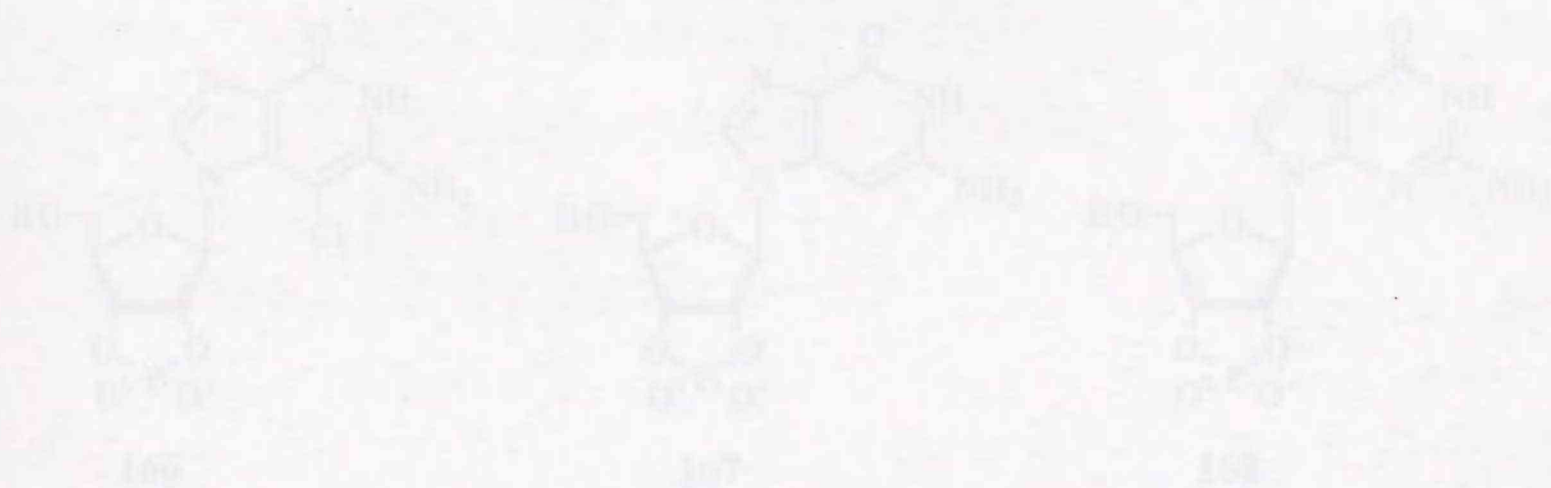


Fig. 21

合成した3-ハロゲノ-3-デアザプリンヌクレオシド類がハロゲン原子と糖部との立体障害によりグリコシル結合回りのコンホメーションがanti配座に固定された基質であることがNMRを用いた解析により明かとなった。しかし先に8-bromoadenosineを例にして述べたように、原子間の立体的な反発によりコンホメーションの固定を行なう場合、酵素と結合した際に強制的にコンホメーションが変化する可能性がある¹⁰⁹。著者はこのようなコンホメーションの強制的な変換を避けるために、立体的な反発の影響が最も大きいと考えられるデアザプリン塩基部の3位にハロゲンの導入を行なったが、この場合にもやはり酵素中でコンホメーションが変化する可能性が考えられる。

そこで著者は、今回合成した3-ハロゲン体の中で3-クロロ-3-デアザグアノシン(160)^{注1}を2', 3'-環状リン酸体166に変換し、RNA分解酵素であるRNase T₁^{注2}との相互作用の検討を行なうことにした(Fig. 22)。

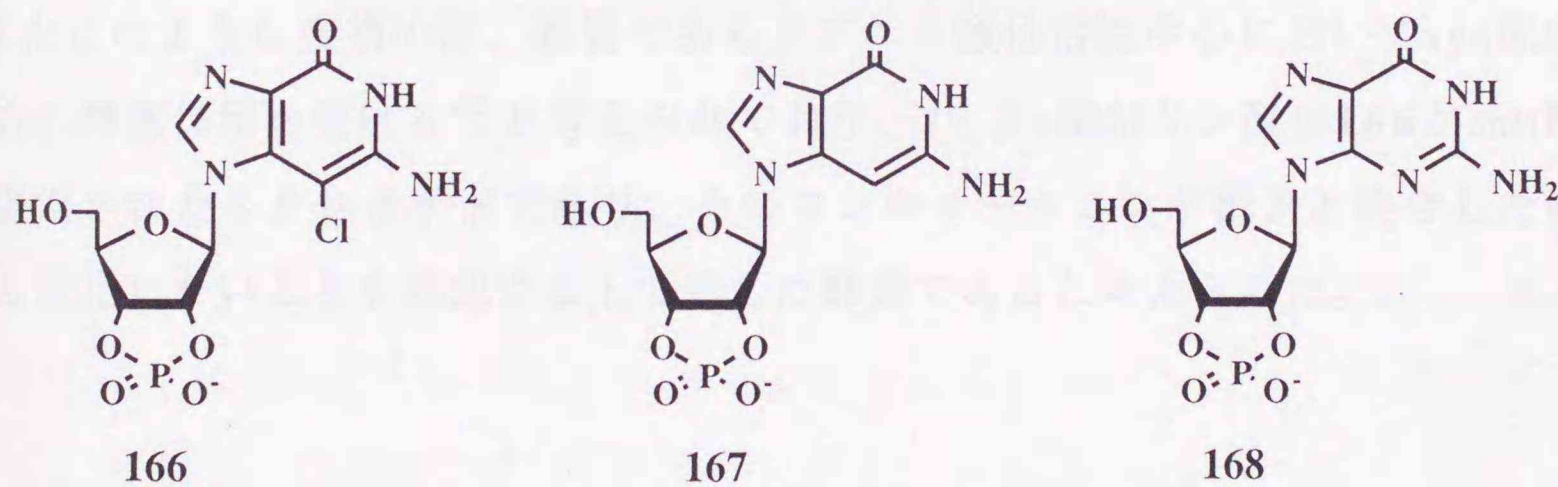


Fig. 22

^{注1} 当初、3-ブロモ-3-デアザグアノシン(161)を2', 3'-環状リン酸体に変換しRNase T₁との相互作用の検討を行なおうとしたが、化合物161は化学的安定性に問題があり2', 3'-環状リン酸体合成を行なっている間にブロモ基の還元が起こり目的化合物を合成できなかった。

^{注2} RNase T₁(リボヌクレアーゼT₁, EC 3.1.27.3)は1957年、Sato, Egamiらによりコウジ菌(*Aspergillus oryzae*)から発見されたグアニン塩基特異的なRNaseである¹¹⁷。この酵素は非常に高い塩基特異性を示し、X線結晶構造解析を含め酵素学的に最も研究の進んでいる酵素の一つである。

RNase T₁はFig. 23に示したようにRNA分子中のグアニル酸の3'-5'ホスホジエステル結合を極めて特異的に切断し、2', 3'環状リン酸中間体を経由して3'末端に3'-グアニル酸を持つオリゴヌクレオチドを生成する酵素である^{注1}。

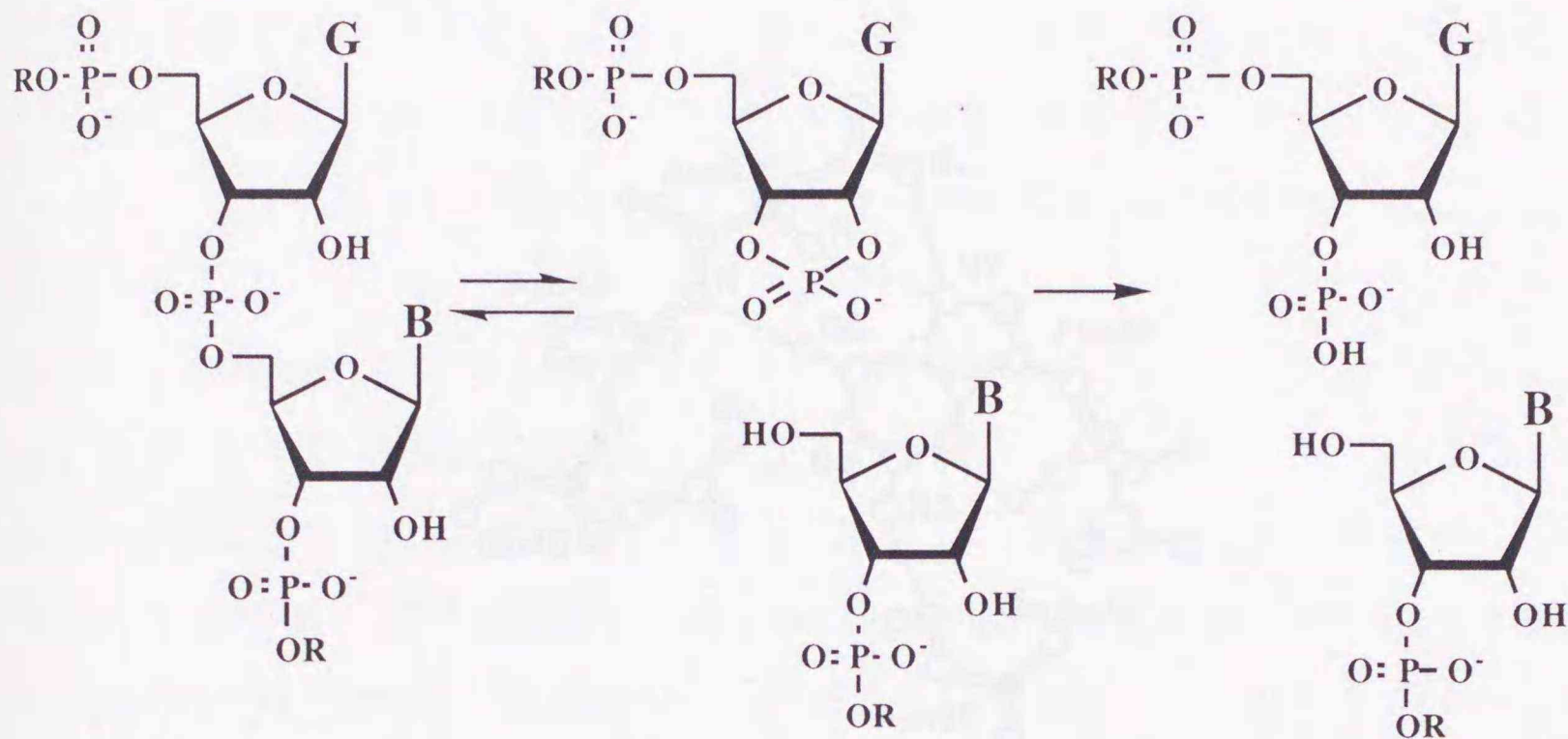


Fig. 23 The mode of action of RNase T₁

またこのような変換の際、基質であるグアニル酸は活性中心においてsyn配座で結合し酵素作用を受ける^{注2}と考えられており、2', 3'-環状リン酸体**166**がanti配座に固定されたヌクレオチドであり、そのコンホメーションが酵素と結合した場合にも変化しないことを確認する上で適した酵素であると考えられた。

^{注1} 本研究で基質として用いる化合物は2', 3'-環状リン酸体**166**, **167**, **168**であり、つまりFig. 23に示した切断反応の第2段階目の反応での比較を行なうことにより議論するものとした。

^{注2} OshimaらはRNase T₁と基質アナログの相互作用の分光学的研究からグアニル酸は酵素の活性中心においてanti配座からsyn配座に変化して酵素作用を受けると報告している¹¹⁸。しかしMatsudaらは5'-deoxy-8,5'-cycloguanosineを用いたRNase T₁との分光学的相互作用の研究からOshimaらが得た知見の誤りを指摘しており¹¹⁹、今なお切断反応の際にグアニル酸がsyn, antiのいずれの配座をとっているかについては明確な結論は得られていない。

しかしFig. 24に示したRNase T₁と2'-GMPの共結晶のX線解析の結果から¹²⁰、グアニル酸はsyn配座で結合し酵素作用を受けるという考え方が現在、大多数の意見として受け入れられている。

なお、2'-GMPはRNase T₁の基質でも反応生成物でもないが、Sugioらが報告した結果¹²⁰はRNase T₁の塩基特異性の高さ、また触媒活性部位を非常に理論的に説明できるものであり、切断反応におけるコンホメーションを反映していると考えられる。

またRNase T₁による切断反応におけるグアニン塩基の認識に関してはRNase T₁と2'-GMPの共結晶のX線解析¹²⁰からN1位プロトン、2位アミノ基、6位カルボニル基そしてN7位窒素原子が重要であり^{注1}、N3位窒素原子は認識部位とはならないことが解かっている(Fig. 24)。

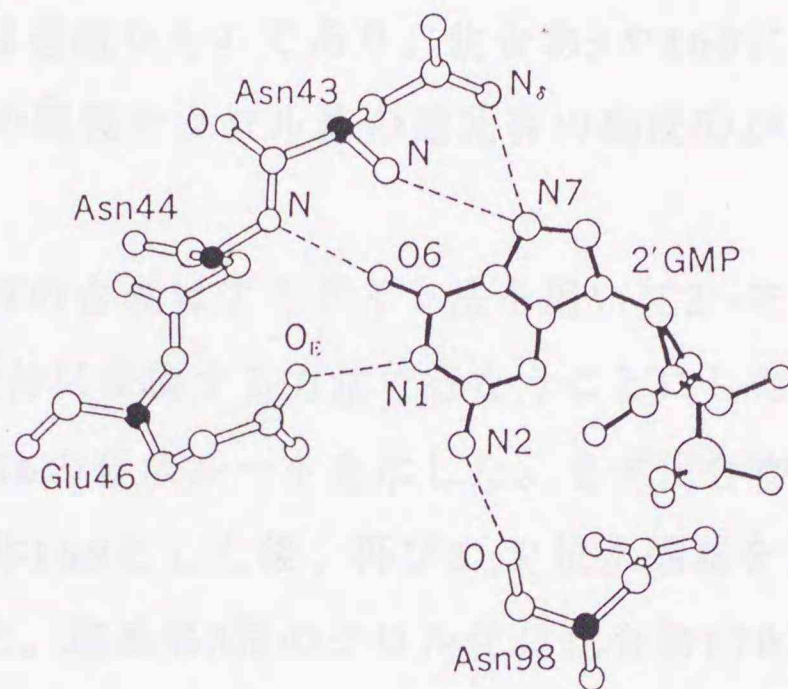


Fig. 24 Stereo view showing hydrogen-bonding interactions between RNase T₁ and base moiety of 2'-GMP

したがって今回相互作用の検討を行なう化合物**166**の3位の窒素原子の欠如はRNase T₁による認識の大きな障害とはならないと考えられた。しかしそのことを実際に証明した実験データは現在のところ報告されていないので、同時に**3**の2', 3'-環状リン酸体**167**も合成し、本来の基質であるグアノシン-2', 3'-環状リン酸(**168**)と比較した速度論的解析もあわせて行なうことにした。

注1 RNase T₁の塩基特異性については各種基質と酵素との相互作用の研究から次の3つの条件が満たされることが必要と考えられている¹²¹。1) プリン塩基の6位がオキソ型であり、さらにN1位はプロトン化されていることが好ましい、2) N7位がマスクされていない、3) N1位、2位アミノ基に大きな置換基がない、の以上3点である。

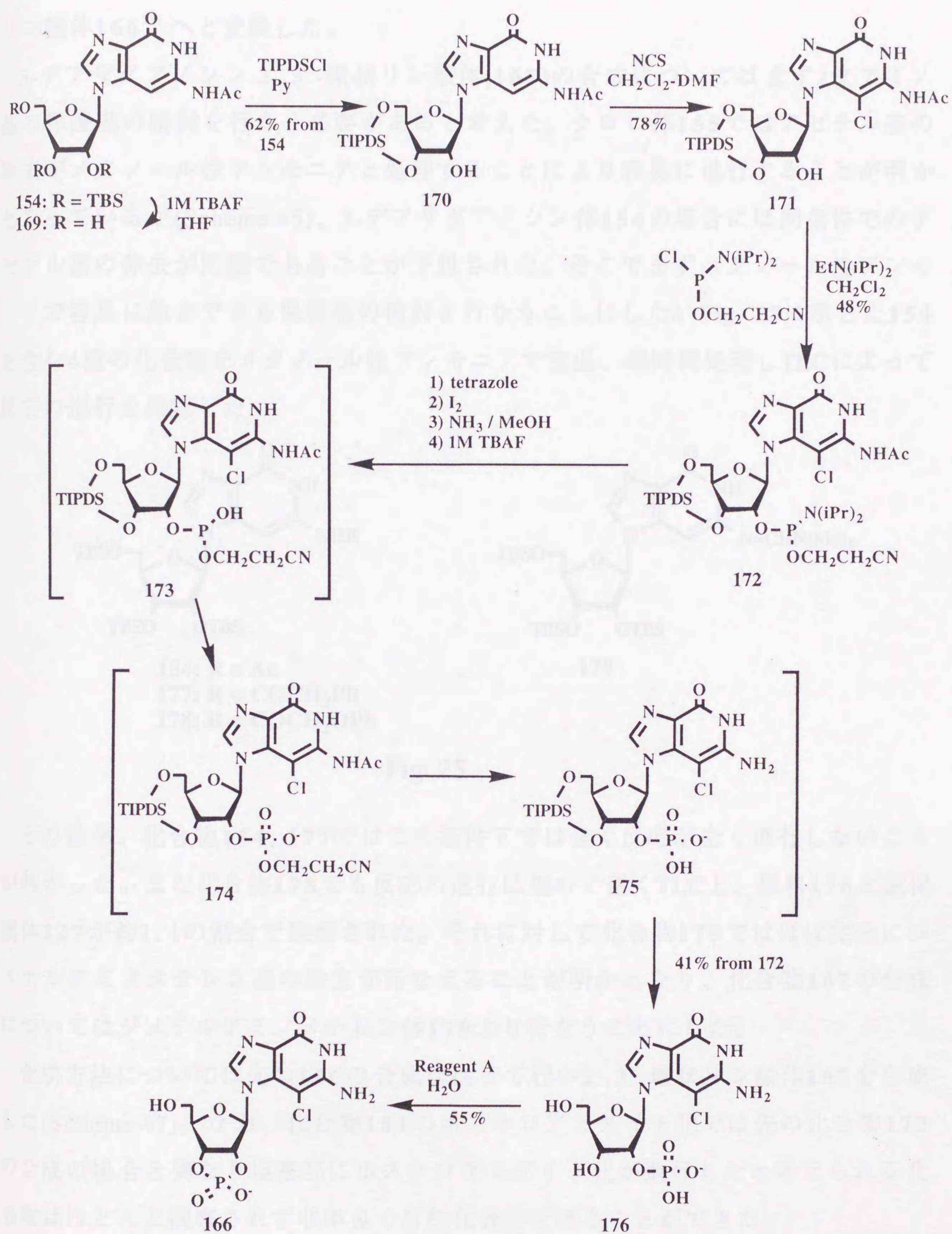
第1節 3-デアザグアノシン誘導体の2',3'-環状リンの合成

ヌクレオシド 2',3'-環状リン酸体の合成法は数多く知られているが²³、先にUedaらはヌクレオシドをDMF中、ピロリン酸あるいはポリリン酸と加熱還流すれば one potで合成できることを報告している¹²²。しかしこの方法は加熱還流を行なうという合成条件としては過激なものであり、化合物**3**や**160**にこの反応を用いた場合にはグリコシル結合の開裂やクロル基の還元等の副反応が優先して起こることが危惧された。

そこで化合物**166**, **167**の合成はアミダイト法を用いて2'-モノリン酸体を合成した後、2',3'-環状リン酸体に変換する方法で行なうことにした。

Scheme 46に化合物**166**の合成ルートを示した。まず化合物**154**の糖部シリル基を除去しアセトアミド体**169**とした後、再び3',5'位水酸基を選択的にシリル保護した化合物**170**に導いた。塩基部3位のクロル化は化合物**170**の塩化メチレンに対する溶解性が低いため、塩化メチレンとDMFの混合溶媒中で行ない、クロル体**171**を得た。さらに化合物**171**をアミダイト試薬と処理しアミダイト体**172**を合成した。なお、化合物**171**のホスホロアミダイト化の収率が48%と低かった理由については、**171**の塩基部3位クロル基、2位アセトアミド基の影響によりN1位のpKa値が低下し、その結果塩基部(N1位あるいはO6位のどちらか)にもホスホロアミダイト化が進行した化合物が副生するためではないかと考えている。ホスホロアミダイト化の際の反応溶液のTLCにおいて目的化合物である**172**よりも低極性の化合物のスポットが観察されており、これが塩基部にもホスホロアミダイト化が進行した化合物に対応していると考えられた。しかしこの化合物は非常に不安定であり単離精製を行なうことができなかった。

2'-リン酸体**176**は化合物**172**をテトラゾール処理、ヨード酸化した後にメタノール性アンモニアによってアセチル基とシアノエチル基の除去を同時に行ない最後にシリル保護基を除去することによって合成した。なお、中間体である化合物**173**, **174**, **175**については単離精製を行わずに化合物**176**に変換後にDEAE-celluloseカラムによって精製した。続いて化合物**176**は水に溶解し1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochlorideと処理することにより2',3'-環状



Reagent A = 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride

Scheme 46

リン酸体**166**^{注1}へと変換した。

3-デアザグアノシン 2',3'-環状リン酸体(**167**)の合成についてはまず2位アミノ基の保護基の検討を行なう必要があると考えた。クロロ体**155**ではアセチル基の除去がメタノール性アンモニアと処理することにより容易に進行することが明らかとなっているが(Scheme 45)、3-デアザグアノシン体**154**の場合には同条件でのアセチル基の除去が困難であることが予想された。そこでまずメタノール性アンモニアで容易に除去できる保護基の検討を行なうことにした。Fig. 25に示した**154**を含む4種の化合物をメタノール性アンモニアで室温、48時間処理しTLCによって反応の進行を確認した。

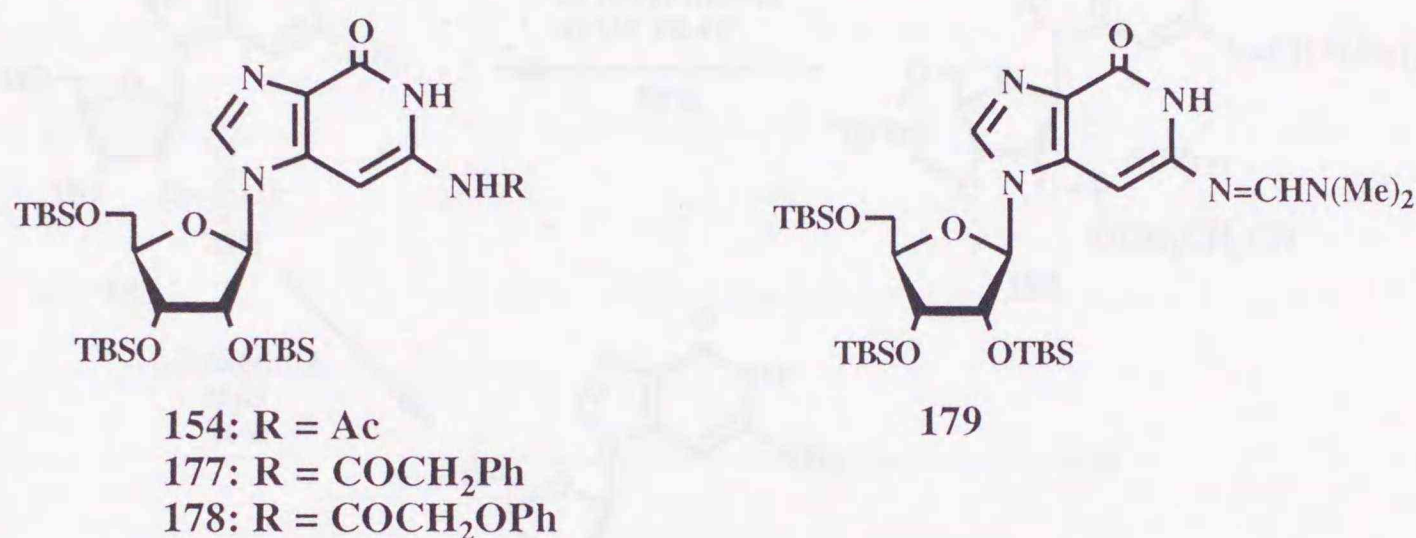
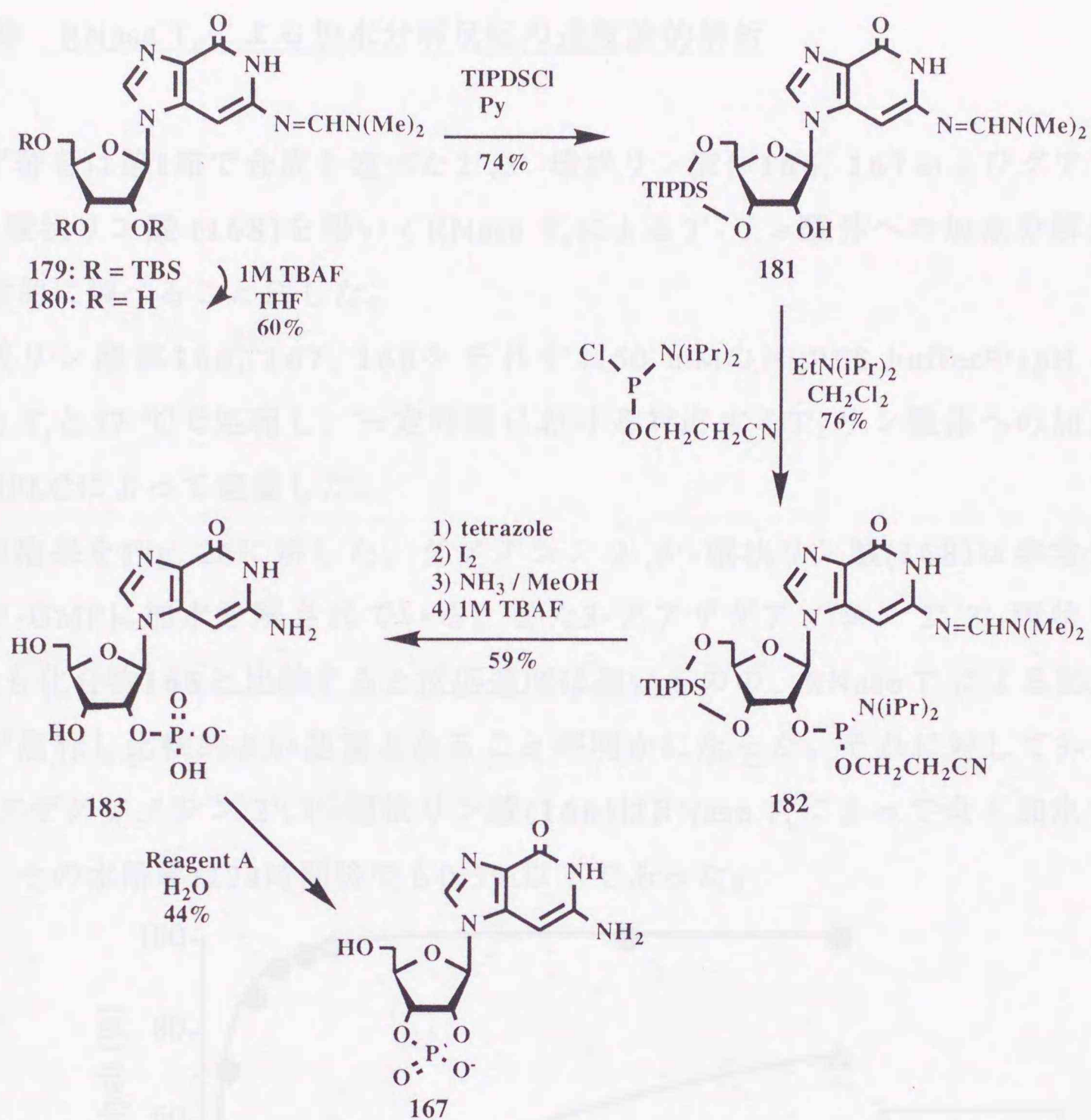


Fig. 25

その結果、化合物**154**, **177**ではこの条件下では全く反応が全く進行しないことが解かった。また化合物**178**でも反応の進行は極めて遅くTLC上、原料**178**と脱保護体**127**が約1:1の割合で観察された。それに対して化合物**179**ではほぼ完全にジメチルアミノメチレン基の除去が行なえることが明かとなり、化合物**167**の合成についてはジメチルアミノメチレン体**179**より行なうことにした。

合成方法については先の**166**の合成に従って行い2',3'-環状リン酸体**167**を合成した(Scheme 47)。なお、化合物**181**のホスホロアミダイト化では先の化合物**172**の合成の場合と異なり塩基部にホスホロアミダイト化が進行したと考えられる化合物はほとんど観察されず収率良く目的化合物を得ることができた。

^{注1} 化合物**166**はトリエチルアミン塩として単離した。また化合物**167**についても同様にトリエチルアミン塩として単離した。



Reagent A = 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride

Scheme 47

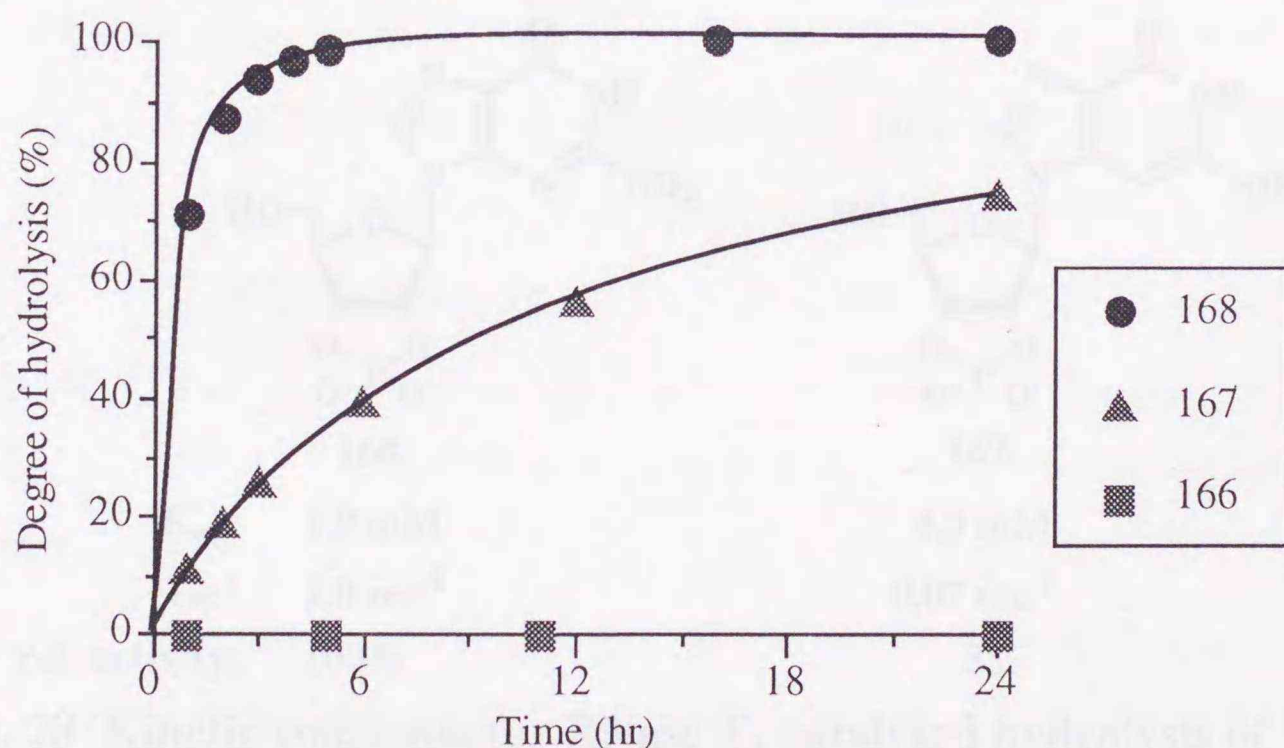
以上の合成法は行程数は決して短いものではないが、リボヌクレアーゼ、例えばRNase T₂¹²¹を用いれば2',3'-環状リン酸体を3'-リン酸体に変換することも可能であり2'-リン酸体、2',3'-環状リン酸体および3'-リン酸体を確実に合成し分けることのできるルートであると考えられた。

第2節 RNase T₁による加水分解反応の速度論的解析

まず著者は第1節で合成を述べた2',3'-環状リン酸体**166**, **167**およびグアノシン2',3'-環状リン酸(**168**)を用いてRNase T₁による3'-リン酸体への加水分解反応を定性的に調べることにした。

環状リン酸体**166**, **167**, **168**をそれぞれ50 mMのHEPES buffer中(pH 7.2)、RNase T₁と37 °Cで処理し、一定時間における対応する3'-リン酸体への加水分解率をHPLCによって定量した。

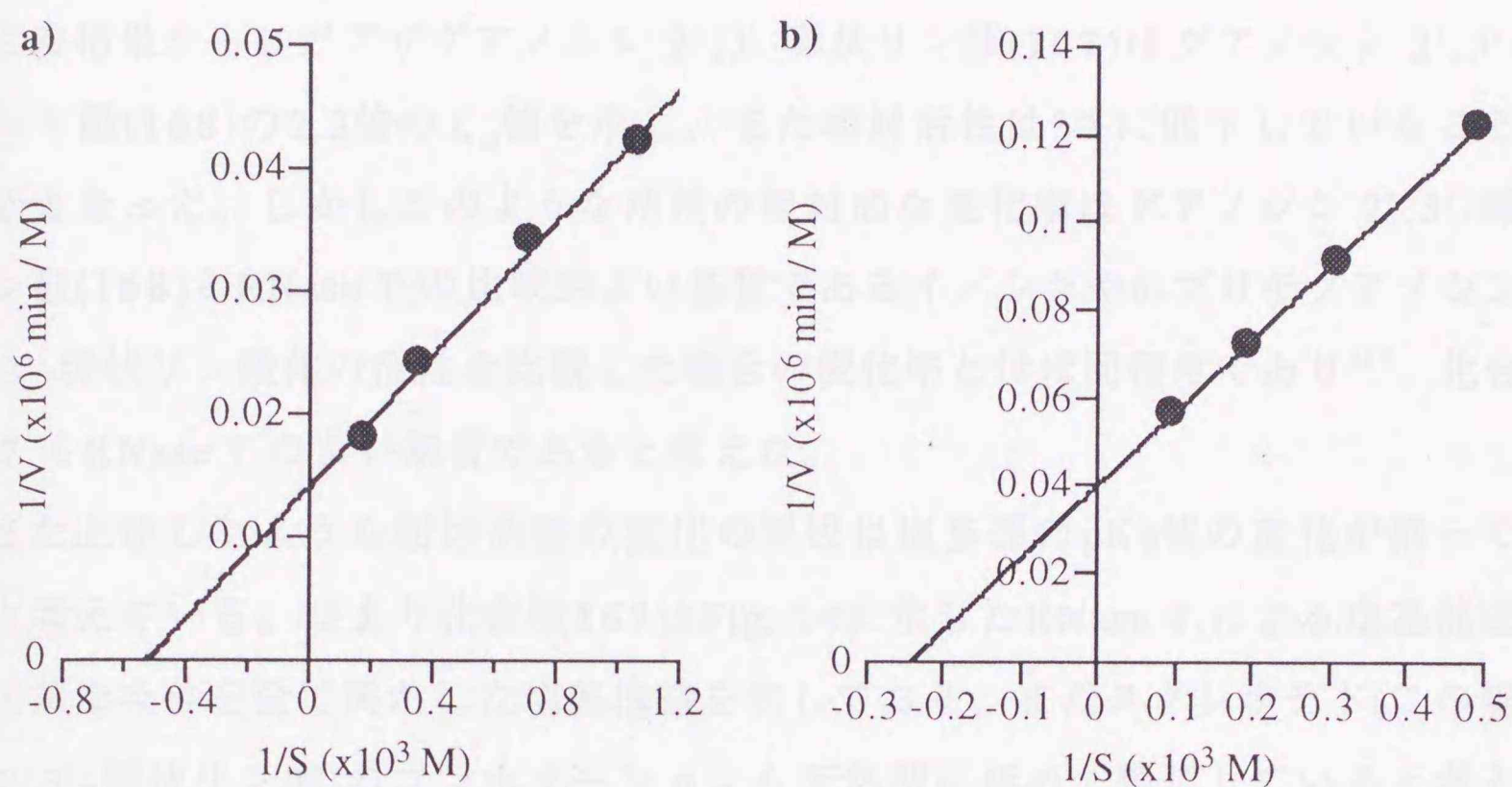
その結果をFig. 26に示した。グアノシン2',3'-環状リン酸(**168**)は非常に速やかに3'-GMPに加水分解されている。また3-デアザグアノシン2',3'-環状リン酸(**167**)も化合物**168**と比較すると反応速度は遅いものの、RNase T₁による加水分解反応が進行し比較的よい基質となることが明かになった。それに対して3-クロロ-3-デアザグアノシン2',3'-環状リン酸(**166**)はRNase T₁によって全く加水分解されず、その水解率は24時間後でも0.5%以下であった。



The cyclic phosphate (1 mM) were incubated with RNase T₁ (1 μM) in 50 mM HEPES buffer (pH 7.2) at 37 °C.

Fig. 26 Time course of the hydrolysis of 2',3'-cyclic phosphates by RNase T₁

なお、上述した実験において各2',3'-環状リン酸体を酵素非存在下でインキュベートした実験も合わせて行っており、Fig.26の結果がRNase T₁による加水分解によるものであることを確認している。



Substrate, a): Guanosine 2',3'-cyclic phosphate (168), b): 3-Deazaguanosine 2',3'-cyclic phosphate (167). The enzyme concentration was 1.2 μ M for 168 and 6.0 μ M for 167.

Fig. 27 Lineweaver-Burk plot for hydrolysis of 2',3'-cyclic phosphates by RNase T₁

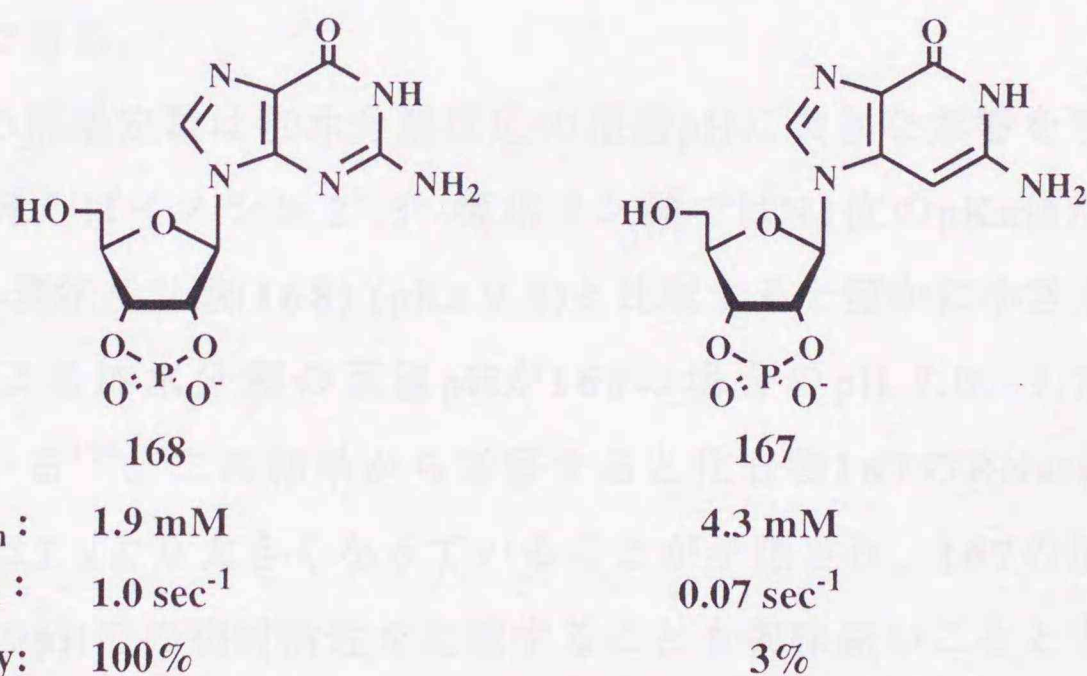


Fig. 28 Kinetic constants for RNase T₁ catalysed hydrolysis of 2',3'-cyclic phosphates

Fig. 26の実験結果より3-デアザグアノシン 2',3'-環状リン酸(167)がRNase T₁の基質となり得ることが明かとなったので、続いて著者はHPLCによって定量した加水分解率から加水分解速度を求めLineweaver-Burkプロットにより2',3'-環状リン酸体167と168のkinetic parameterを算出した。その結果をFig. 27およびFig. 28にそれぞれ示した。

この結果から3-デアザグアノシン 2',3'-環状リン酸(**167**)はグアノシン 2',3'-環状リン酸(**168**)の2.3倍の K_m 値を示し、また相対活性は3%に低下していることが明かとなった。しかしこのような活性の相対的な変化率はグアノシン 2',3'-環状リン酸(**168**)とRNase T₁の比較的よい基質であるイノシンや8-ブロモグアノシンの2',3'-環状リン酸体の活性を比較した場合の変化率とほぼ同程度であり¹²³、化合物**167**もRNase T₁のよい基質であると考えた。

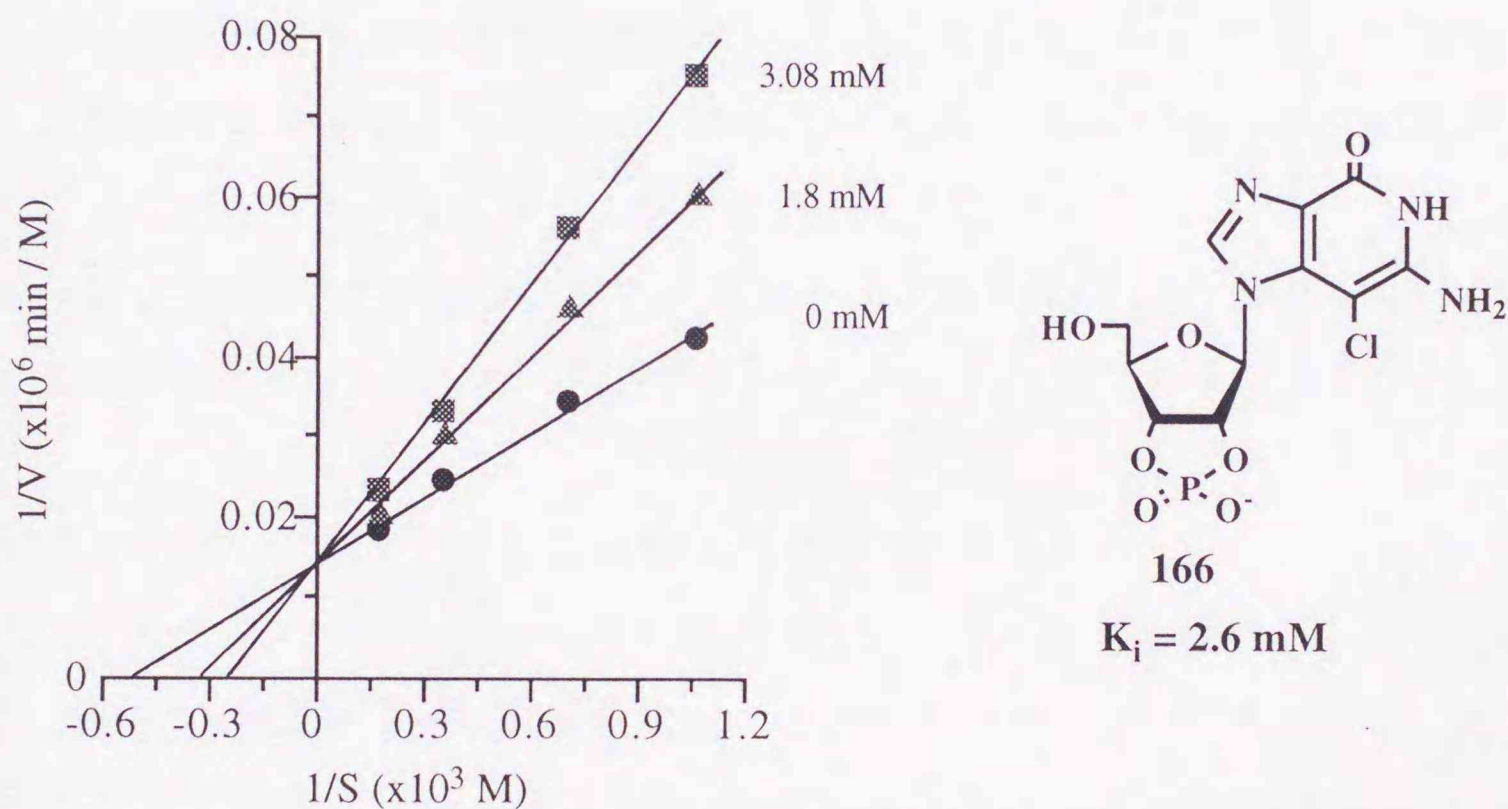
また上述したような相対活性の変化の原因は塩基部のpKa値の変化が第一であると考えている。つまり化合物**167**はFig. 24に示したRNase T₁による塩基部認識に必須な条件を全て満たした塩基構造を有しており、またヌクレオチド(この場合は2',3'-環状リン酸)のコンホメーションも天然型に極めて類似していると考えられる。しかし第4章のTable 16に示したように、塩基部のpKa値、特にN1位のpKa値が大きく変化している。N1位プロトンはRNase T₁のGlu 46の側鎖カルボキシル基とイオン性の高い強い水素結合を形成するプロトンでRNase T₁による基質認識において非常に重要なプロトンであり、そのpKa値の変化が相対活性の変化につながったということである。

またこのプロトンの解離定数は加水分解反応の至適pHに大きな影響を与えることが知られている。例えばイノシン 2',3'-環状リン酸ではN1位のpKa値が8.75でありグアノシン 2',3'-環状リン酸(**168**) (pKa 9.2)と比較すると僅かに小さくなり、その結果RNase T₁による加水分解の至適pHが**168**の場合のpH 7.0~7.2からpH 5.5~6.5に変化している¹²⁴。この結果から考察すると化合物**167**のRNase T₁による加水分解の至適pHは7.2より大きくなっていることが予想され、**167**の加水分解の至適pHを求め、そのpHでの相対活性を比較することも興味深いことと考えられた。なお、Table 16で求めたpKa値はヌクレオシドの値であるが化合物**168**のN7位、N1位のpKa値がそれぞれ2.3、9.2でありヌクレオシドのpKa値とほとんど変化していないことから¹²⁵、化合物**167**の塩基部のpKa値も化合物**3**の値とほぼ同じ値を示すと考えている。

ところで塩基部のpKa値がRNase T₁による加水分解反応の相対活性に影響を及ぼす一つの要因であると考えらるならば3-クロロ-3-デアザグアノシン 2',3'-環状リン酸(**166**)は化合物**167**よりもより良い基質となりえるはずである。しかしながら

先に述べたように2',3'-環状リン酸体**166**はRNase T₁によって全く加水分解されないことを明かにした。そこでその理由が著者の狙いどおり化合物**166**が酵素によって認識された場合にもsyn配座にコンホメーションが変化しないことによるものであるかどうかを調べる目的でグアノシン 2',3'-環状リン酸(**168**)のRNase T₁による加水分解反応における化合物**166**のK_i値を求めることにした。

化合物**166**を各種濃度で共存させ、化合物**168**のRNase T₁による加水分解反応を先と同様にHPLCによって解析しそれぞれの濃度での見かけ上のK_m値を算出し、この結果からK_i値を求めた。Fig. 29に各種インヒビター濃度におけるLineweaver-Burkプロットの結果を示した。



The final inhibitor concentrations were 3.08 mM and 1.8 mM. Enzyme concentration was 1.2 μM.

Fig. 29 K_i Determination of 3-chloro-3-deazaguanosine 2',3'-cyclic phosphate

この結果から3-クロロ-3-デアザグアノシン 2',3'-環状リン酸(**166**)は化合物**168**の加水分解を競合的に阻害し、またそのK_i値は2.6 mMであり化合物**166**はRNase T₁に対して高い親和性を示すがその酵素によって加水分解されない化合物であることが解かった。

以上の結果は3-クロロ-3-デアザグアノシン 2',3'-環状リン酸(**166**)がRNase T₁によって認識された場合にもsyn配座にコンホメーションが変化しない化合物であることを強く支持しており、デアザプリン塩基部3位にハロゲンを導入することに

より架橋による固定化を行わず、極めて天然基質に近い状態でのコンホメーションの固定が実現できたと考えられた。本研究で用いた化合物はグアノシン誘導体であるが、同様のコンホメーションのanti配座での固定がアデノシン、イノシン誘導体についても可能であり、また3-デアザプリン誘導体を対照として用いることによりさらに有用な情報が得られると考えられる。今後さらにこれらの誘導体をヌクレオシドあるいはヌクレオチドを基質とする酵素と基質の相互作用に関する立体化学的研究に利用していく予定である。

結語

- 1) 天然ヌクレオシドのAICA-ribosideを共通の出発原料として
 - i) IMP デヒドロゲナーゼ阻害剤として5-アルキニルイミダゾールヌクレオシドを末端アセチレン類とのクロスカップリングにより合成し、その中でEICARに極めて強い制がん、抗ウイルス活性を見いだすことができた。
 - ii) 種々のイミダゾールヌクレオシド誘導体を合成し、構造活性相関を検討した。その結果、イミダゾール5位のアルキニル基(エチニル基)はIMP デヒドロゲナーゼ阻害活性に極めて重要であることを明かにした。
 - iii) GMP シンターゼ阻害剤としてイミダゾアゼピンヌクレオシドを合成し、その化合物にもマウス白血病細胞 L1210に対して *in vitro* で優れた細胞増殖抑制活性があることを見いだした。またプリンヌクレオチド拮抗型イミダゾアゼピンヌクレオシド類も併せて合成した。
 - iv) EICAR, EICNRからの3-デアザプリンヌクレオシド類の簡便な一般合成法を確立できた。

2) 3-デアザプリンヌクレオシドを用いて

- i) 3-デアザプリンヌクレオシドの塩基部3位にハロゲンを導入し、それら誘導体がNMR実験からanti配座を優先する化合物であるという知見を得た。
- ii) 3-デアザグアノシン、3-クロロ-3-デアザグアノシンを対応する2',3'-環状リン酸体へと導き、RNase T₁による加水分解反応の速度論的解析を行ない、3-クロロ-3-デアザグアノシン 2',3'-環状リン酸がRNase T₁に対して高い親和性を示すがその酵素によって加水分解されない化合物であることを明かとした。この結果は3-クロロ-3-デアザグアノシン 2',3'-環状リン酸がanti配座にコンホメーションが固定されたヌクレオチドであることを支持するものである。

謝 辞

著者が薬化学講座に配属されて以来終始御指導を賜り、また同講座の職員として本研究を続ける機会を与えて下さいました北海道大学薬学部 故上田 亨教授に心から感謝申し上げるとともに御冥福をお祈り申し上げます。

本研究全般にわたり、終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜りました北海道大学薬学部 松田 彰教授に心より感謝致します。

本研究に対して常に討論に加わり、有益な御助言を下さいました北海道大学薬学部 周東 智助教授、小野 晶博士（現、東京都立大学理学部 助教授）、並びに薬化学講座の皆様に感謝致します。

生物活性試験を行なって頂きました金沢大学癌研究所 佐々木琢磨教授、田中基裕助教授、並びにベルギー・カソリック大学E. De Clercq教授に厚く御礼申し上げます。

RNase T₁を用いた酵素反応を行なうにあたり有益な御助言を下さいました北海道大学遺伝子有機化学講座 森岡弘志博士に厚く御礼申し上げます。

各種機器分析スペクトルの測定を行なって頂きました北海道大学機器分析センターのオペレーターの皆様に感謝致します。

1993年 7月 南川 典昭

実験の部

測定機器は以下のものを使用した。

NMRスペクトルは日本電子JNM-FX 100 (100 MHz)、日本電子JNM-GX 270 (270 MHz) スペクトロメーターを用いて測定した。

(内部標準としてテトラメチルシランを用い、 δ 値をppmで示し結合定数はJ値 (Hz) で示した。開裂様式は s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, m = multiplet, br = broad と略す。)

Massスペクトルは日本電子JMS DX-303、日本電子JMS HX-110スペクトロメーターを用いて測定した。

UV吸収スペクトルは島津UV-260、島津UV-2100S自動分光光度計を用いて測定した。

分取用HPLCはポンプ (TRI ROTAR-V, 日本分光)、UVモニター (UVIDEC-100-V, 日本分光)、レコーダー (RC-150, 日本分光) から構成されるシステムを用いた。またHPLCカラムはYMC-D-ODS-5 (250x20.0 mm)を使用した。

酵素反応解析のための分析用HPLCはポンプ (LC-8A, 島津)、UVモニター (SPD-6A, 島津)、レコーダー (C-R6A, 島津) から構成されるシステムを用いた。HPLCカラムはYMC-Pack IES-AX (250x4.6 mm) を使用した。

融点測定は柳本MP-3型微量融点測定器を用いて行なった。(融点はすべて未補正)

反応溶媒として使用したTHFは使用直前にナトリウムベンゾフェノンケチルにより蒸留したものを、アセトニトリルは五酸化二リンより蒸留したものをを用いた。また塩化メチレン、ベンゼン、ピリジン、DMFは水素化カルシウムより蒸留したものをを用いた。

メタノール性アンモニアは0℃でアンモニアをメタノールに飽和させた溶液を冷暗所で保存したものを使用した。

TLCはMerck Kiesel gel 60F₂₅₄を用いた。シリカゲルカラムクロマトグラフィーはYMC-GEL SIL60-230/70を用いて行なった。中性シリカゲルはICN Silica 63-200, 60 Aを使用した。(シリカゲルカラムクロマトグラフィーのカラムサイズの表記における()内の数値は試料を吸着させたシリカゲル部分の長さを示している。)

濾紙電気泳動にはToyo 51Aを用いた。

Guanosine 2',3'-cyclic phosphate sodium saltはSIGMA社より購入したものを使用した。

RNase T₁はSANKY CO., LTDのものを使用した。

第1章の実験

5-Iodo-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxiamide (8).

AICAリボシド (5.16 g, 20 mmol) をアセトニトリル (50 ml) に懸濁しトリエチルアミン (11.3 ml, 80 mmol)、無水酢酸 (7.6 ml, 80 mmol) 及び DMAP (50 mg, 0.41 mmol) を加え室温で懸濁液が透明な溶液になるまで攪拌した (約30分間)。反応液にメタノールを加え反応を停止した後、溶媒を留去し残渣をクロロホルムに溶解し飽和重曹水で3回、更に水で洗浄し、有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し化合物 **15** を無色油状物質として得た。

以下、Method A, Bでヨード化を行なった。

Method A) 得られた**15**をジヨードメタン (100 ml) に100 °Cで加熱攪拌下溶解し亜硝酸イソアミル (10 ml) を滴下した。原料消失を確認後 (約15分後)、得られた黒褐色の反応液を室温まで冷却しシリカゲルカラム (ϕ 3.6x40 cm) にアプライしクロロホルムでジヨードメタンを溶出した後、1~4% EtOHのCHCl₃溶液で溶出した。溶媒を留去し残渣にアセトンを加え溶媒を留去し、これを数回繰り返して化合物 **8** (5.42 g, 55%) を淡黄色あわ状物質として得た。

Method B) 得られた**15**をクロロホルム (10 ml) に溶解し、この溶液をジヨードメタン (100 ml) と亜硝酸イソアミル (10 ml) の混合溶液に100 °Cで加熱攪拌下滴下した。原料消失を確認後、上記と同様の方法で精製し化合物 **8** (6.83 g, 69%) を得た。

EI-MS : m/z 495 (M^+)

UV : $\lambda_{\max}$ (MeOH) 240 nm (ϵ 9,100)

¹H NMR (CDCl₃) δ : 7.96 (s, 1 H, H-2), 6.99 (br s, 1 H, NHa), 5.98 (d, 1 H, H-1', $J_{1,2'} = 4.9$ Hz), 5.40 (m, 3 H, H-2', 3', NHb), 4.39 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.17, 2.15, 2.13 (each s, each 3 H, acetyl).

Anal. Calcd for C₁₅H₁₈IN₃O₈: C, 36.38; H, 3.66; N, 8.49. Found: C, 36.20; H, 3.70; N, 8.29.

ジヨードメタンの回収

ジヨードメタンを含むフラクションを集め溶媒を留去した後、5%チオ硫酸ナトリウム水溶液で3回洗浄し無水Na₂SO₄で乾燥した。綿栓濾過し得られたジヨードメタンを減圧蒸留し精製した。

5-(Phenylethyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (17d).

化合物 **8** (495 mg, 1 mmol) と (PhCN)₂PdCl₂ (36 mg, 10 mol%) をガラス封管にとり、アルゴンガスで置換した後、アセトニトリル (5 ml) に溶解しトリエチルアミン (0.16 ml, 1.2 mmol)、フェニルアセチレン (0.13 ml, 1.2 mmol) を加え100 °Cで4時間加熱攪拌した。反応液をセライト濾過し、セライトをエタノールで洗浄した後溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ϕ 2.7x30 cm, 0~4% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物 **17d** (370 mg, 79%) を茶色あわ状物質として得た。

EI-MS : m/z 469 (M^+)

¹H NMR (CDCl₃) δ : 7.76 (s, 1 H, H-2), 7.60 (m, 2 H, Ph), 7.37 (m, 3 H, Ph), 6.96 (br s, 1 H,

NHa), 6.10 (d, 1 H, H-1', $J_{1,2'} = 4.9$ Hz), 5.59 (dd, 1 H, H-2', $J_{2,1'} = 4.9$, $J_{2,3'} = 5.4$ Hz), 5.42 (m, 2 H, H-3', NHb), 4.40 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.15, 2.13, 2.02 (each s, each 3 H, acetyl).

5-(3-Hydroxy-1-propyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (17a).

フェニルアセチレンのかわりにプロパギルアルコールを用い同様に3.5時間反応を行った。シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 30$ cm, 0~8% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物 **17a** (397 mg, 94%) を茶色油状物質として得た。

EI-MS : m/z 423 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ ; 7.75 (s, 1 H, H-2), 6.79 (br s, 1 H, NHa), 5.98 (d, 1 H, H-1', $J_{1,2'} = 4.6$ Hz), 5.72 (br s, 1 H, NHb), 5.65 (dd, 1 H, H-2', $J_{2,1'} = 4.6$, $J_{2,3'} = 5.4$ Hz), 5.40 (dd, 1 H, H-3', $J_{3,2'} = 5.4$, $J_{3,4'} = 5.1$ Hz), 4.57 (br s, 2 H, 5- CH_2OH), 4.40 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.18, 2.15, 2.13 (each s, each 3 H, acetyl).

5-(4-Hydroxy-1-butyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (17b).

フェニルアセチレンのかわりに3-ブチン-1-オールを用い同様に4時間反応を行った。シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 27$ cm, 0~4% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物 **17b** (405 mg, 93%) を茶色油状物質として得た。

EI-MS : m/z 437 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ ; 7.66 (s, 1 H, H-2), 6.97 (br s, 1 H, NHa), 5.96 (d, 1 H, H-1', $J_{1,2'} = 5.1$ Hz), 5.62 (dd, 1 H, H-2', $J_{2,1'} = 5.1$, $J_{2,3'} = 5.4$ Hz), 5.60 (br s, 1 H, NHb), 5.43 (dd, 1 H, H-3', $J_{3,2'} = 5.4$, $J_{3,4'} = 4.4$ Hz), 4.38 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 3.88 (m, 2 H, 5- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 2.75 (m, 2 H, 5- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 2.17, 2.14, 2.12 (each s, each 3 H, acetyl).

5-(1-Pentyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (17c).

フェニルアセチレンのかわりに1-ペンチンを用い同様に4時間反応を行った。シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.2 \times 19$ cm, 0~2% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物 **17c** (325 mg, 75%) を茶色油状物質として得た。

EI-MS : m/z 435 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ ; 7.68 (s, 1 H, H-2), 6.88 (br s, 1 H, NHa), 6.02 (d, 1 H, H-1', $J_{1,2'} = 4.9$ Hz), 5.55 (dd, 1 H, H-2', $J_{2,1'} = 4.9$, $J_{2,3'} = 5.4$ Hz), 5.47 (br s, 1 H, NHb), 5.40 (dd, 1 H, H-3', $J_{3,2'} = 5.4$, $J_{3,4'} = 4.4$ Hz), 4.38 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.54 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.16, 2.11, 2.10 (each s, each 3 H, acetyl), 1.79-1.02 (m, 5 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

5-(Cyclohexylethyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (17f).

フェニルアセチレンのかわりにシクロヘキシルアセチレンを用い同様に9時間反応を行った。シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.2 \times 10$ (3) cm, ヘキサン:酢酸エチル

=1:2~0:1) で精製し化合物**17f** (300 mg, 63%) を油状物質として得た。

EI-MS : m/z 475 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ ; 7.69 (s, 1 H, H-2), 6.86 (br s, 1 H, NHa), 6.02 (d, 1 H, H-1', $J_{1,2'} = 4.6$ Hz), 5.53 (dd, 1 H, H-2', $J_{2,1'} = 4.6$, $J_{2,3'} = 5.1$ Hz), 5.39 (m, 2 H, H-3' and NHb), 4.39 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.78 (m, 1 H, cyclohexyl proton), 2.17, 2.11, 2.10 (s, each 3H, acetyl), 1.56 (m, 10 H, cyclohexyl protons).

5-(3-Hydroxy-3-methyl-1-butyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)-imidazole-4-carboxamide (17e).

フェニルアセチレンのかわりに2-メチル-3-ブチン-2-オールを用い同様に3時間反応を行なった。シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.2 \times 15$ cm, 0~8% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**17e** (430 mg, 95%) を油状物質として得た。

EI-MS : m/z 451 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ ; 7.74 (s, 1 H, H-2), 6.94 (br s, 1 H, NHa), 5.97 (d, 1 H, H-1', $J_{1,2'} = 4.4$ Hz), 5.73 (br s, 1 H, NHb), 5.60 (dd, 1 H, H-2', $J_{2,1'} = 4.4$, $J_{2,3'} = 5.1$ Hz), 5.40 (dd, 1 H, H-3', $J_{3,2'} = 5.1$, $J_{3,4'} = 5.3$ Hz), 4.40 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.16, 2.13, 2.11 (each s, each 3 H, acetyl), 1.63 (s, 6 H, methyl x 2).

5-(3-Cyclopentyl-1-propyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)-imidazole-4-carboxamide (17g).

フェニルアセチレンのかわりに3-シクロペンチル-1-プロピンを用い同様に3時間反応を行なった。シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.2 \times 15$ (4) cm, ヘキサン:酢酸エチル=1:3~0:1→酢酸エチル:アセトン=3:1) で精製し化合物**17g** (368 mg, 77%) を油状物質として得た。

EI-MS : m/z 475 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ ; 7.68 (s, 1 H, H-2), 6.89 (br s, 1 H, NHa), 6.03 (d, 1 H, H-1', $J_{1,2'} = 5.1$ Hz), 5.53 (dd, 1 H, H-2', $J_{2,1'} = 5.1$, $J_{2,3'} = 5.4$ Hz), 5.41 (m, 2 H, H-3' and NHb), 4.38 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.57 (d, 2 H, CH_2 -cyclopentyl), 2.16, 2.12, 2.09 (each s, each 3 H, acetyl), 1.63 (s, 9 H, cyclopentyl protons).

5-(4-Phenyl-1-butyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (17h).

フェニルアセチレンのかわりに4-フェニル-1-ブチンを用い同様に10時間反応を行なった。シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.2 \times 13$ (4) cm, ヘキサン:酢酸エチル=1:2~0:1→酢酸エチル:アセトン=3:1) で精製し化合物**17h** (279 mg, 56%) を油状物質として得た。

EI-MS : m/z 497 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ ; 7.68 (s, 1 H, H-2), 7.29 (m, 5 H, Ph), 6.85 (br s, 1 H, NHa), 5.89 (d, 1 H, H-1', $J_{1,2'} = 4.6$ Hz), 5.54 (dd, 1 H, H-2', $J_{2,1'} = 4.6$, $J_{2,3'} = 5.4$ Hz), 4.36 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.91 (m, 4 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 2.15, 2.11, 2.07 (each s, each 3 H, acetyl).

5-(5-Cyano-1-pentyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (17i).

フェニルアセチレンのかわりに5-シアノ-1-ペンチンを用い同様に35時間反応を行なった。シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.2 \times 12$ (3) cm, ヘキサン:酢酸エチル=1:3 $\rightarrow$ 0:1 $\rightarrow$ 酢酸エチル:アセトン=3:1) で精製し化合物**17i** (395 mg, 86%) を油状物質として得た。

EI-MS : m/z 460 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.68 (s, 1 H, H-2), 6.89 (br s, 1 H, NHa), 5.96 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.9$ Hz), 5.60 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 4.9$, $J_{2',3'} = 5.4$ Hz), 5.40 (m, 2 H, H-3' and NHb), 4.38 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 3.14 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$), 2.74 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$), 2.15, 2.14, 2.13 (each s, each 3 H, acetyl), 1.48 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$).

5-(Phenylethyn-1-yl)-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (22d).

化合物**17d** (360 mg, 0.77 mmol) をメタノール性アンモニア (20 ml) に溶解し室温にて一晩静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 14$ (5) cm, 5 $\sim$ 20% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**22d** (198 mg, 75%) を白色結晶として得た。分析用試料としてエタノール-エーテルより再結晶し白色結晶を得た。

mp 168-169 $^\circ\text{C}$

EI-MS : m/z 343 (M^+)

UV : λ_{max} (H_2O) 301 nm (ϵ 17,100), 318 (sh) nm (ϵ 12,800); λ_{max} (0.5N HCl) 294 nm (ϵ 17,000), 310 (sh) nm (ϵ 13,200); λ_{max} (0.5N NaOH) 302 nm (ϵ 17,700), 318 (sh) nm (ϵ 12,400)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.19 (s, 1 H, H-2), 7.49 (m, 6 H, Ph and NHa), 7.24 (br s, 1 H, NHb), 5.76 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.1$ Hz), 5.57 (d, 1 H, 2'-OH, $J = 6.1$ Hz), 5.23 (d, 1 H, 3'-OH, $J = 4.9$ Hz), 5.07 (t, 1 H, 5'-OH, $J = 5.3$ Hz), 4.36 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.1$, $J_{2',3'} = 4.6$ Hz), 4.09 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.6$, $J_{3',4'} = 4.6$ Hz), 3.94 (dt, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 4.6$, $J_{4',5'} = 3.9$ Hz), 3.64 (dd, 2 H, H-5'a, b, $J_{4',5'} = 3.9$ Hz).

Anal. Calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot 1/4\text{H}_2\text{O}$: C, 58.70; H, 5.07; N, 12.08. Found: C, 58.91; H, 5.05; N, 11.95.

5-(3-Hydroxy-1-propyn-1-yl)-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (22a).

上記と同様の方法で化合物**17a** (300 mg, 0.71 mmol) をメタノール性アンモニア (15 ml) に溶解し室温にて一晩静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 15$ (3) cm, 5 $\sim$ 40% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**22a** (180 mg, 86%) を黄色あわ状物質として得た。分析用試料としてエタノール-エーテルより結晶化し淡黄色結晶を得た。

mp 148-149 $^\circ\text{C}$

EI-MS : m/z 280 ($M^+ - \text{OH}$)

UV : λ_{max} (H_2O) 267 nm (ϵ 10,600); λ_{max} (0.5N HCl) 255 nm (ϵ 9,700); λ_{max} (0.5N NaOH) 271 nm (ϵ 11,700)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.11 (s, 1 H, H-2), 7.31, 7.21 (each br s, each 1 H, NH_2), 5.66 (d, 1

H, H-1', $J_{1',2'} = 5.4$ Hz), 5.50 (d, 1 H, 2'-OH, $J = 6.1$ Hz), 5.45 (t, 1 H, 5-CH₂OH, $J = 6.1$ Hz), 5.21 (d, 1 H, 3'-OH, $J = 4.9$ Hz), 5.04 (t, 1 H, 5'-OH, $J = 5.3$ Hz), 4.37 (d, 2 H, CH₂OH, $J = 6.1$ Hz), 4.33 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.4$, $J_{2',2'OH} = 6.1$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.07 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$, $J_{3',3'OH} = 4.9$, $J_{3',4'} = 3.9$ Hz), 3.90 (dt, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 3.9$, $J_{4',5'} = 5.9$ Hz), 3.57 (dd, 2 H, H-5'a, b, $J_{5',4'} = 5.9$, $J_{5',5'OH} = 5.3$ Hz).

Anal. Calcd for C₁₂H₁₅N₃O₆: C, 48.48; H, 5.09; N, 14.14. Found: C, 48.45; H, 5.13; N, 13.99.

5-(4-Hydroxy-1-butyn-1-yl)-1-β-D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (22b).

上記と同様の方法で化合物**17b** (300 mg, 0.96 mmol) をメタノール性アンモニア (15 ml) に溶解し室温にて一晩静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ1.8x15 (3) cm, 5~40% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**22b** (168 mg, 79%) を黄色あわ状物質として得た。分析用試料としてエタノール-エーテルより結晶化し白色結晶を得た。

mp 156-158 °C

EI-MS : m/z 311 (M⁺)

UV : $\lambda_{\max}$ (H₂O) 268 nm (ϵ 11,600); $\lambda_{\max}$ (0.5N HCl) 256 nm (ϵ 10,700); $\lambda_{\max}$ (0.5N NaOH) 268 nm (ϵ 12,100)

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 8.06 (s, 1 H, H-2), 7.29, 7.08 (each br s, each 1 H, NH₂), 5.65 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.9$ Hz), 5.51 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'OH,2'} = 5.9$ Hz), 5.18 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'OH,3'} = 5.1$ Hz), 5.00 (m, 2 H, 5'-OH, 5-CH₂OH), 4.25 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 4.9$, $J_{2',2'OH} = 5.9$, $J_{2',3'} = 5.4$ Hz), 4.08 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.4$, $J_{3',3'OH} = 5.1$, $J_{3',4'} = 4.9$ Hz), 3.91 (m, 1 H, H-4'), 3.59 (m, 4 H, H-5'a, b, 5-CH₂OH), 2.64 (m, 2 H, 5-CH₂CH₂OH).

Anal. Calcd for C₁₃H₁₇N₃O₆: C, 50.16; H, 5.51; N, 13.50. Found: C, 50.18; H, 5.52; N, 13.50.

5-(1-Pentyn-1-yl)-1-β-D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (22c).

上記と同様の方法で化合物**17c** (300 mg, 0.97 mmol) をメタノール性アンモニア (15 ml) に溶解し室温にて一晩静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ1.8x16 (3.5) cm, 5~30% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**22c** (171 mg, 80%) を黄色あわ状物質として得た。分析用試料としてエタノール-ヘキサンより結晶化し白色結晶を得た。

mp 172-174 °C

EI-MS : m/z 309 (M⁺)

UV : $\lambda_{\max}$ (H₂O) 269 nm (ϵ 11,600); $\lambda_{\max}$ (0.5N HCl) 258 nm (ϵ 11,000); $\lambda_{\max}$ (0.5N NaOH) 269 nm (ϵ 12100)

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 8.06 (s, 1 H, H-2), 7.25, 7.12 (each br s, each 1 H, NH₂), 5.65 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.9$ Hz), 5.48 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'OH,2'} = 5.9$ Hz), 5.18 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'OH,3'} = 4.6$ Hz), 5.04 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5'OH,5'} = 5.3$ Hz), 4.30 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 4.9$, $J_{2',2'OH} = 5.9$, $J_{2',3'} = 5.4$ Hz), 4.07 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.4$, $J_{3',3'OH} = 4.6$, $J_{3',4'} = 4.9$ Hz), 3.89 (dt, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 4.9$, $J_{4',5'} = 3.9$ Hz), 3.57 (dd, 2 H, H-5'a, b, $J_{5',4'} = 3.9$, $J_{5',5'OH} = 5.3$ Hz), 2.42 (m,

2 H, 5-CH₂CH₂CH₃), 1.65-0.95 (m, 5 H, 5-CH₂CH₂CH₃).

Anal. Calcd for C₁₄H₁₉N₃O₅: C, 54.36; H, 6.19; N, 13.58. Found: C, 54.49; H, 6.17; N, 13.48.

5-(Cyclohexylethyn-1-yl)-1-β-D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (22f).

上記と同様の方法で化合物**17f** (280 mg, 0.59 mmol) をメタノール性アンモニア (15 ml) に溶解し室温にて一晩静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ2.2x9 (5) cm, 5~20% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**22f** (168 mg, 82%) を黄色油状物質として得た。分析用試料としてHPLC (YMC-D-ODS-5, 55% MeOH-H₂O, 9 ml/min, room temperature, retention time; 12 min) で再精製を行なった。

FAB-MS : m/z 350 ($M^+ + 1$)

UV : $\lambda_{\max}$ (H₂O) 270 nm (ϵ 11,800); $\lambda_{\max}$ (0.5 N HCl) 259 nm (ϵ 11,200); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 270 nm (ϵ 11,200)

¹H NMR (DMSO-*d*₆ + D₂O) δ : 8.05 (s, 1 H, H-2), 5.64 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.9$ Hz), 4.27 (t, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = J_{2',3'} = 4.9$ Hz), 4.05 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.9$, $J_{3',4'} = 4.4$ Hz), 3.88 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 4.4$, $J_{4',5'a} = 3.3$, $J_{4',5'b} = 3.8$ Hz), 3.61 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 3.8$, $J_{5'a,b} = 15.9$ Hz), 3.55 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 3.3$, $J_{5'a,b} = 15.9$ Hz), 2.74 (m, 2 H, cyclohexyl protons), 1.77 (m, 4 H, cyclohexyl protons), 1.48 (m, 2 H, cyclohexyl protons), 1.35 (m, 4 H, cyclohexyl protons).

Anal. Calcd for C₁₇H₂₃N₃O₅: C, 58.44; H, 6.63; N, 12.03. Found: C, 58.53; H, 6.72; N, 11.85.

5-(3-Hydroxy-3-methyl-1-butyn-1-yl)-1-β-D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (22e).

上記と同様の方法で化合物**17e** (460 mg, 1.02 mmol) をメタノール性アンモニア (15 ml) に溶解し室温にて一晩静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ2.2x13 (3) cm, 5~30% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**22e** (256 mg, 77%) を淡黄色あわ状物質として得た。分析用試料としてHPLC (YMC-D-ODS-5, 30% MeOH-H₂O, 9 ml/min, room temperature, retention time; 10 min) で再精製を行なった。

FAB-MS : m/z 326 ($M^+ + 1$)

UV : $\lambda_{\max}$ (H₂O) 267 nm (ϵ 7,900); $\lambda_{\max}$ (0.5 N HCl) 256 nm (ϵ 7,400); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 270 nm (ϵ 7,600)

¹H NMR (DMSO-*d*₆ + D₂O) δ : 8.09 (s, 1 H, H-2), 5.63 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.0$ Hz), 4.25 (t, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = J_{2',3'} = 5.0$ Hz), 4.06 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.0$, $J_{3',4'} = 4.3$ Hz), 3.90 (dt, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 4.3$, $J_{4',5'} = 3.8$ Hz), 3.62 (dd, 2 H, H-5'a, b, $J_{5',4'} = 3.8$, $J_{5'a,b} = 12.1$ Hz), 1.47 (s, 6 H, methyl x 2).

Anal. Calcd for C₁₄H₁₉N₃O₆: C, 51.69; H, 5.89; N, 12.92. Found: C, 51.53; H, 5.98; N, 12.64.

5-(3-Cyclopentyl-1-propyn-1-yl)-1-β-D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (22g).

上記と同様の方法で化合物**17g** (360 mg, 0.76 mmol) をメタノール性アンモニア (15 ml) に溶解し室温にて一晩静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ2.2x14 (3) cm, 5~30% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**22g** (204 mg, 77%) を黄色油状物質として得た。分析用試料としてHPLC (YMC-D-ODS-5, 55% MeOH-H₂O, 9 ml/min, room temperature, retention time; 13 min) で再精製を行なった。

FAB-MS : m/z 350 ($M^+ + 1$)

UV : $\lambda_{\max}$ (H₂O) 269 nm (ϵ 11,300); $\lambda_{\max}$ (0.5 N HCl) 259 nm (ϵ 10,600); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 271 nm (ϵ 10,700)

¹H NMR (DMSO-*d*₆ + D₂O) δ : 8.05 (s, 1 H, H-2), 5.64 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.5$ Hz), 4.28 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.5$, $J_{2',3'} = 5.0$ Hz), 4.05 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.0$, $J_{3',4'} = 4.4$ Hz), 3.88 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 4.4$, $J_{4',5'a} = 3.3$, $J_{4',5'b} = 3.8$ Hz), 3.55 (m, 2 H, H-5'a, b), 2.07 (m, 2 H, CH₂-cyclopentyl), 1.56 (m, 9 H, cyclopentyl protons).

Anal. Calcd for C₁₇H₂₃N₃O₅: C, 58.44; H, 6.63; N, 12.03. Found: C, 58.45; H, 6.82; N, 11.90.

5-(4-Phenyl-1-butyn-1-yl)-1-β-D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (22h).

上記と同様の方法で化合物**17h** (274 mg, 0.55 mmol) をメタノール性アンモニア (15 ml) に溶解し室温にて一晩静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ1.7x8 (7) cm, 5~30% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**22h** (179 mg, 88%) を淡茶色あわ状物質として得た。分析用試料としてHPLC (YMC-D-ODS-5, 50% MeOH-H₂O, 9 ml/min, room temperature, retention time; 17 min) で再精製を行なった。

FAB-MS : m/z 372 ($M^+ + 1$)

UV : $\lambda_{\max}$ (H₂O) 268 nm (ϵ 7,400); $\lambda_{\max}$ (0.5 N HCl) 257 nm (ϵ 6,400); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 268 nm (ϵ 6,000)

¹H NMR (DMSO-*d*₆ + D₂O) δ : 8.05 (s, 1 H, H-2), 7.32 (m, 5 H, Ph), 5.63 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.5$ Hz), 4.28 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.5$, $J_{2',3'} = 5.0$ Hz), 4.05 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.0$, $J_{3',4'} = 4.4$ Hz), 3.92 (dt, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 4.4$, $J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 3.8$ Hz), 3.56 (m, 2 H, H-5'a, b), 2.80 (m, 4 H, CH₂CH₂Ph).

Anal. Calcd for C₁₉H₂₁N₃O₅: C, 61.45; H, 5.70; N, 11.31. Found: C, 61.27; H, 5.78; N, 11.33.

5-(5-Cyano-1-pentyn-1-yl)-1-β-D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (22i).

上記と同様の方法で化合物**17i** (250 mg, 0.54 mmol) をメタノール性アンモニア (15 ml) に溶解し室温にて一晩静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ2.2x16 (4) cm, 5~20% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**22i** (119 mg, 66%) を淡黄色あわ状物質として得た。分析用試料としてHPLC (YMC-D-ODS-5, 25% MeOH-H₂O, 9 ml/min, room temperature, retention time; 10 min) で再精製を行なった。

FAB-MS : m/z 355 ($M^+ + 1$)

UV : $\lambda_{\max}$ (H_2O) 268 nm (ϵ 11,200); $\lambda_{\max}$ (0.5 N HCl) 256 nm (ϵ 10,700); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 269 nm (ϵ 10,900)

1H NMR ($DMSO-d_6 + D_2O$) δ : 8.06 (s, 1 H, H-2), 5.63 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.0$ Hz), 4.27 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.0$, $J_{2',3'} = 5.5$ Hz), 4.04 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.5$, $J_{3',4'} = 4.4$ Hz), 3.90 (dt, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 4.4$, $J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 3.9$ Hz), 3.61 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 3.9$, $J_{5'a,b} = 11.5$ Hz), 3.56 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 3.9$, $J_{5'a,b} = 11.5$ Hz), 2.80 (t, 2 H, $CH_2CH_2CH_2CN$), 2.63 (t, 2 H, $CH_2CH_2CH_2CN$), 1.87 (dt, 2 H, $CH_2CH_2CH_2CN$).

Anal. Calcd for $C_{15}H_{18}N_4O_5$: C, 53.89; H, 5.43; N, 16.76. Found: C, 53.81; H, 5.64; N, 16.53.

1,2-Bis[4-carbamoyl-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazol-5-yl]-acetylene (24a).

化合物 **8** (495 mg, 1 mmol) と $(PhCN)_2PdCl_2$ (18 mg, 5 mol%) をガラス封管にとりアルゴンガスで置換した後、アセトニトリル (5 ml) に溶解しトリエチルアミン (0.16 ml, 1.2 mmol), トリメチルシリルアセチレン (0.17 ml, 1.2 mmol) を加え 100 °C で 22 時間加熱攪拌した。反応液をセライト濾過し、セライトをエタノールで洗浄した後溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 30$ cm, 0~12% EtOH in $CHCl_3$) で精製し化合物 **24a** (208 mg, 55%) を茶色油状物質として得た。

EI-MS : m/z 760 (M^+)

1H NMR ($CDCl_3$) δ : 7.81 (s, 2 H, H-2 x 2), 6.99 (br s, 2 H, NHa x 2), 6.30 (d, 2 H, H-1' x 2, $J_{1',2'} = 4.2$ Hz), 5.96 (br s, 2 H, NHb x 2), 5.68 (m, 2 H, H-2' x 2), 5.37 (m, 2 H, H-3' x 2), 4.40 (m, 6 H, H-4' x 2, 5'a, b x 2), 2.13 (m, 18 H, acetyl x 6).

1,2-Bis(4-carbamoyl-1- β -D-ribofuranosylimidazol-5-yl)acetylene (24b).

化合物 **24a** (150 mg, 0.19 mmol) をメタノール性アンモニア (20 ml) に溶解し室温にて一晩静置した。溶媒を留去し、得られた残渣を水から結晶化し化合物 **24b** を無色結晶として得た。

mp 203-206 °C

FAB-MS : m/z 509 ($M^+ + 1$)

UV : $\lambda_{\max}$ (H_2O) 320 nm (ϵ 18,800), 340 nm (sh) (ϵ 13,400); $\lambda_{\max}$ (0.5 N HCl) 316 nm (ϵ 20,800), 316 nm (sh) (ϵ 15,200); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 317 nm (ϵ 19,300), 340 nm (sh) (ϵ 11,900)

1H NMR ($DMSO-d_6$) δ : 8.29 (s, 2 H, H-2 x 2), 7.72 (br s, 2 H, NHa x 2), 7.56 (br s, 2 H, NHb x 2), 5.86 (d, 2 H, H-1' x 2, $J_{1',2'} = 3.3$ Hz), 5.71 (br d, 2 H, 2'-OH x 2), 5.15 (br s, 2 H, 3'-OH x 2), 5.01 (br s, 2 H, 5'-OH x 2), 4.29 (br s, 2 H, H-2' x 2), 4.10 (br s, 2 H, H-3' x 2), 3.98 (m, 2 H, H-4' x 2), 3.75 (br d, 2 H, H-5'a x 2), 3.60 (br d, 2 H, H-5'b x 2).

Anal. Calcd for $C_{20}H_{24}N_6O_{10} \cdot 1/5H_2O$: C, 46.91; H, 4.80; N, 16.41. Found: C, 46.97; H, 4.72; N, 16.19.

5-(2-Trimethylsilylethyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)-imidazole-4-carboxamide (17j).

化合物 **8** (990 mg, 2 mmol) と $(\text{PhCN})_2\text{PdCl}_2$ (36 mg, 5 mol%) をガラス封管にとりアルゴンガスで置換した後、アセトニトリル (7 ml) に有機すず試薬 **25** (850 mg, 2.4 mmol) を加え 100 °C で 17 時間加熱攪拌した。反応液をセライト濾過し、セライトをエタノールで洗浄した後溶媒を留去した。残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 18$ (3) cm, ヘキサン:酢酸エチル = 1:1 ~ 0:1) で精製し化合物 **17j** (668 mg, 72%) を黄色あわ状物質として得た。

EI-MS : m/z 465 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.73 (s, 1 H, H-2), 6.92 (br s, 1 H, NHa), 6.03 (d, 1 H, H-1', $J_{1,2} = 4.6$ Hz), 5.52 (dd, 1 H, H-2', $J_{2,1'} = 4.6$, $J_{2,3'} = 5.4$ Hz), 5.42 (m, 2 H, H-3', NHb), 4.40 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.17, 2.11, 2.10 (each s, each 3 H, acetyl), 0.30 (s, 9 H, trimethylsilyl).

5-Ethynyl-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (**22j**).

Method A) 化合物 **17j** (400 mg, 0.86 mmol) をメタノール性アンモニア (25 ml) に溶解し室温で一晩静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.3 \times 15$ (5) cm, 5 ~ 30% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物 **22j** (200 mg, 87%) を黄色結晶として得た。分析用試料としてエタノールより再結晶し白色結晶を得た。

mp 182-185 °C

EI-MS : m/z 267 (M^+)

λ_{max} (H_2O) 269 nm (ϵ 9,800); λ_{max} (0.5N NaOH) 263 nm (ϵ 10,300)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.13 (s, 1 H, H-2), 7.34, 7.24 (each br s, each 1 H, NH_2), 5.66 (d, 1 H, H-1', $J_{1,2} = 5.4$ Hz), 5.52 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2,2'\text{-OH}} = 6.1$ Hz), 5.20 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3,3'\text{-OH}} = 4.9$ Hz), 5.05 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5,5'\text{-OH}} = 5.3$ Hz), 4.86 (s, 1 H, acetylene proton), 4.32 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2,1'} = 5.4$, $J_{2,3'} = 4.9$, $J_{2,2'\text{-OH}} = 6.1$ Hz), 4.06 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3,2'} = 4.9$, $J_{3,4'} = 3.9$, $J_{3,3'\text{-OH}} = 4.9$ Hz), 3.92 (q, 1 H, H-4', $J_{4,3'} = J_{4,5'a} = J_{4,5'b} = 3.9$ Hz), 3.57 (dd, 2 H, H-5'a, b, $J_{5,4'} = 3.9$, $J_{5,5'\text{-OH}} = 5.3$ Hz).

Anal. Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_5$: C, 49.44; H, 4.90; N, 15.72. Found: C, 49.45; H, 4.95; N, 15.62.

Method B) 化合物 **26e** (289 mg, 0.65 mmol) をアンモニア水 (4 ml) とメタノール (4 ml) の混合溶媒に溶解し 30% 過酸化水素水 (0.5 ml) を加え室温で 45 分間攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 7$ (2) cm, 5 ~ 30% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物 **22j** (133 mg, 77%) を黄色結晶として得た。

5-Iodo-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carbonitrile (**13**).

化合物 **12** (10.88 g, 29.7 mmol) をクロロホルム (20 ml) に溶解し、この溶液をジヨードメタン (150 ml) と亜硝酸イソアミル (15 ml) の混合溶液に 100 °C で加熱攪拌下滴下した。原料消失を確認後 (約 15 分)、得られた黒褐色の反応液を室温まで冷却しシリカゲルカラム ($\phi 3.6 \times 36$ cm) にアプライしクロロホルムでジヨードメタンを溶出した後、1 ~ 4% EtOH の CHCl_3 溶液で溶出した。溶媒を留去し残渣をエタノールより結晶化し化合物 **13**

(9.86 g, 70%) を黄色結晶として得た。

mp 139-141 °C (ref. 140-141 °C)

EI-MS : m/z 477 (M^+)

UV : $\lambda_{\max}$ 236 nm (ϵ 9,400)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.98 (s, 1 H, H-2), 5.84 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.9$ Hz), 5.49 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 4.9$, $J_{2',3'} = 5.4$ Hz), 5.38 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.4$, $J_{3',4'} = 3.9$ Hz), 4.39 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.15 (s, 9 H, acetyl x 3).

Anal. Calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_7$: C, 37.74; H, 3.35; N, 8.81. Found: C, 37.76; H, 3.18; N, 8.74.

5-(Phenylethyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carbonitrile (26d).

化合物**13** (477 mg, 1 mmol) と $(\text{PhCN})_2\text{PdCl}_2$ (18 mg, 5 mol%) をガラス封管にとりアルゴンガスで置換した後、アセトニトリル (5 ml) に溶解しトリエチルアミン (0.16 ml, 1.2 mmol), フェニルアセチレン (0.13 ml, 1.2 mmol) を加え 100 °C で 3.5 時間加熱攪拌した。反応液をセライト濾過し、セライトをエタノールで洗浄した後溶媒を留去した。残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.3 \times 15$ (3) cm, ヘキサン:酢酸エチル = 3:1 ~ 1:1) で精製し化合物**26d** (438 mg, 97%) を茶色油状物質として得た。

EI-MS : m/z 451 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.82 (s, 1 H, H-2), 7.49 (m, 5 H, Ph), 6.01 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.6$ Hz), 5.60 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 4.6$, $J_{2',3'} = 5.6$ Hz), 4.40 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.6$, $J_{3',4'} = 4.6$ Hz), 4.39 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.14, 2.13, 2.07 (each s, each 3 H, acetyl).

5-(3-Hydroxy-1-propyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carbonitrile (26a).

フェニルアセチレンのかわりにプロパギルアルコールを用い同様に2時間反応を行なった。シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 12$ (2) cm, ヘキサン:酢酸エチル = 2:1 ~ 1:2) で精製し化合物**26a** (311 mg, 77%) をあわ状物質として得た。

EI-MS : m/z 405 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.79 (s, 1 H, H-2), 5.88 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 3.6$ Hz), 5.70 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 3.7$, $J_{2',3'} = 5.4$ Hz), 5.40 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.4$, $J_{3',4'} = 5.6$ Hz), 4.58 (d, 2 H, 5- CH_2OH , $J = 6.6$ Hz), 4.40 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.68 (t, 1 H, 5- CH_2OH , $J = 6.6$ Hz), 2.14 (s, 9 H, acetyl x 3).

5-(4-Hydroxy-1-butyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carbonitrile (26b).

フェニルアセチレンのかわりに3-ブチン-1-オールを用い同様に5.5時間反応を行なった。シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 11$ (2) cm, ヘキサン:酢酸エチル = 2:1 ~ 1:2) で精製し化合物**26b** (331 mg, 79%) をあわ状物質として得た。

EI-MS : m/z 419 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.73 (s, 1 H, H-2), 5.89 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.4$ Hz), 5.66 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 4.4$, $J_{2',3'} = 5.4$ Hz), 5.37 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.4$, $J_{3',4'} = 5.1$ Hz), 4.38 (m, 3 H, H-4', H-5'a, b), 3.86 (dt, 2 H, 5- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $J = 5.9$, $J = 6.4$ Hz), 2.81 (t, 2 H, 5- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $J = 5.9$ Hz), 2.33 (t, 1 H, 5- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $J = 6.4$ Hz), 2.13 (s, 9 H, acetyl x 3).

5-(1-Pentyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carbonitrile (26c).

フェニルアセチレンのかわりに1-ペンチンを用い同様に3.5時間反応を行なった。シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 10$ (3) cm, ヘキサン:酢酸エチル=3:1~1:1) で精製し化合物**26c** (302 mg, 72%) をあわ状物質として得た。

EI-MS : m/z 417 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.74 (s, 1 H, H-2), 5.91 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.6$ Hz), 5.55 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 4.6$, $J_{2',3'} = 5.1$ Hz), 5.41 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.1$, $J_{3',4'} = 4.4$ Hz), 4.38 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 5.23 (t, 2 H, 5- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 6.4$ Hz), 2.14 (s, 3 H, acetyl), 2.12 (s, 6 H, acetyl x 2), 1.61 (dt, 2 H, 5- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 6.4$, $J = 7.6$ Hz), 1.08 (t, 3 H, 5- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.6$ Hz).

5-(2-Trimethylsilylethyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carbonitrile (26e).

フェニルアセチレンのかわりにトリメチルシリルアセチレンを用い同様に5時間反応を行なった。シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 11$ (2) cm, ヘキサン:酢酸エチル=2:1~1:2) で精製し化合物**26e** (341 mg, 76%) を黄色結晶として得た。分析用試料としてエタノール-ヘキサンより再結晶し淡黄色結晶を得た。

EI-MS : m/z 447 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.78 (s, 1 H, H-2), 5.92 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.4$ Hz), 5.53 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 4.4$, $J_{2',3'} = 5.1$ Hz), 5.37 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.1$, $J_{3',4'} = 4.9$ Hz), 4.40 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.12 (s, 9 H, acetyl x 3), 0.30 (s, 9 H, trimethyl).

Anal. Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_7\text{Si}$: C, 53.68; H, 5.63; N, 9.39. Found: C, 53.56; H, 5.64; N, 9.36.

5-(Phenylethyn-1-yl)-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carbonitrile (27d).

化合物**26d** (400 mg, 0.88 mmol) をメタノール (10 ml) に溶解しトリエチルアミン (1 ml) を加え室温で一晩攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 9$ (3.5) cm, 5~15% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**27d** (229 mg, 79%) を得た。分析用試料としてエタノール-ヘキサンより結晶化し白色結晶を得た。

mp 187-188 °C

EI-MS : m/z 325 (M^+)

UV : λ_{max} (H_2O) 296 nm (ϵ 18,800), 315 nm (ϵ 13,600); λ_{max} (0.5 N HCl) 296 nm (ϵ 18,100), 315 nm (ϵ 13,500); λ_{max} (0.5 N NaOH) 296 nm (ϵ 18,100), 315 nm (ϵ 13,000)

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 8.39 (s, 1 H, H-2), 7.60 (m, 5 H, Ph), 5.77 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.9$ Hz), 5.67 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2',\text{OH},2'} = 6.1$ Hz), 5.30 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3',\text{OH},3'} = 4.9$ Hz), 5.12 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5',\text{OH},5'} = 5.3$ Hz), 4.37 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 4.9$, $J_{2',2'\text{OH}} = 6.1$, $J_{2',3'} = 5.1$ Hz), 4.04 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.1$, $J_{3',3'\text{OH}} = 4.9$, $J_{3',4'} = 4.6$ Hz), 3.99 (dt, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 4.6$, $J_{4',5'} = 3.4$ Hz), 3.63 (dd, 2 H, H-5'a, b, $J_{5',4'} = 3.4$, $J_{5',5'\text{OH}} = 5.3$ Hz).

Anal. Calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_4$: C, 62.76; H, 4.65; N, 12.92. Found: C, 62.75; H, 4.64; N, 12.64.

5-(3-Hydroxy-1-propyn-1-yl)-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carbonitrile (27a).

上記と同様の方法で化合物26a (250 mg, 0.61 mmol) をメタノール中トリエチルアミンと処理した。シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 7$ (2) cm, 5~20% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物27a (146 mg, 85%) を得た。分析用試料としてエタノール-ヘキサンより結晶化し淡赤色結晶を得た。

mp 138-139 °C

EI-MS : m/z 279 (M^+)

UV : λ_{max} (H_2O) 259 nm (ϵ 12,900), 272 nm (sh) (ϵ 10,400); λ_{max} (0.5 N HCl) 259 nm (ϵ 14,400), 271 nm (sh) (ϵ 11,100); λ_{max} (0.5 N NaOH) 263 nm (ϵ 13,300), 275 nm (sh) (ϵ 10,900)

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 8.32 (s, 1 H, H-2), 5.64 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.4$ Hz), 5.61 (t, 1 H, 5- CH_2OH , $J = 6.1$ Hz), 5.60 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2',\text{OH},2'} = 6.1$ Hz), 5.27 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3',\text{OH},3'} = 4.9$ Hz), 5.07 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5',\text{OH},5'} = 5.3$ Hz), 4.43 (d, 2 H, 5- CH_2OH , $J = 6.1$ Hz), 4.35 (m, 1 H, H-2'), 4.03 (m, 2 H, H-3', 4'), 3.58 (m, 2 H, H-5'a, b).

Anal. Calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_5$: C, 51.61; H, 4.69; N, 15.05. Found: C, 51.59; H, 4.74; N, 14.82.

5-(4-Hydroxy-1-butyn-1-yl)-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carbonitrile (27b).

上記と同様の方法で化合物26b (320 mg, 0.76 mmol) をメタノール中トリエチルアミンと処理した。シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 11$ (2.5) cm, EtOH / $\text{CHCl}_3 = 5 \sim 30\%$) で精製し化合物27b (167 mg, 75%) を油状物質として得た。

EI-MS : m/z 293 (M^+)

UV : λ_{max} (H_2O) 259 nm (ϵ 13,100), 270 nm (sh) (ϵ 10,600); λ_{max} (0.5 N HCl) 259 nm (ϵ 13,100), 271 nm (sh) (ϵ 9,900); λ_{max} (0.5 N NaOH) 260 nm (ϵ 13,300), 272 nm (sh) (ϵ 10,800)

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 8.27 (s, 1 H, H-2), 5.64 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.1$ Hz), 5.60 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2',\text{OH},2'} = 6.2$ Hz), 5.26 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3',\text{OH},3'} = 5.1$ Hz), 5.09 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5',\text{OH},5'a} = 5.1$, $J_{5',\text{OH},5'b} = 5.5$ Hz), 5.04 (t, 1 H, 5- CH_2OH , $J = 5.5$ Hz), 4.32 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.1$, $J_{2',2'\text{OH}} = 6.2$, $J_{2',3'} = 4.8$ Hz), 4.06 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.8$, $J_{3',3'\text{OH}} = 5.1$, $J_{3',4'} = 4.4$ Hz), 3.93 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 4.4$, $J_{4',5'a} = 4.0$, $J_{4',5'b} = 3.7$ Hz), 3.61 (m, 4 H, H-5'a, b, 5- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 2.73 (t, 2 H, 5- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $J = 6.6$ Hz).

Anal. Calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot 1/3\text{H}_2\text{O}$: C, 52.17; H, 5.28; N, 14.04. Found: C, 52.30; H, 5.29; N, 14.05.

5-(1-Pentyn-1-yl)-1-β-D-ribofuranosylimidazole-4-carbonitrile (27c).

上記と同様の方法で化合物**26c** (302 mg, 0.72 mmol) をメタノール中トリエチルアミンと処理した。シリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ2.7x10 (3) cm, 5~20% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**27c** (186 mg, 88%) を得た。分析用試料としてイソプロパノール・ヘキサンより結晶化し白色結晶を得た。

mp 156-157 °C

EI-MS : m/z 291 (M^+)

UV : $\lambda_{\max}$ (H₂O) 259 nm (ϵ 13,800), 272 nm (sh) (ϵ 11,200); $\lambda_{\max}$ (0.5 N HCl) 259 nm (ϵ 13,400); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 261 nm (ϵ 13,700), 272 nm (sh) (ϵ 11,200)

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 8.28 (s, 1 H, H-2), 5.62 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.1$ Hz), 5.59 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2',OH,2'} = 5.9$ Hz), 5.26 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3',OH,3'} = 5.1$ Hz), 5.09 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5',OH,5'a} = 5.1$, $J_{5',OH,5'b} = 5.5$ Hz), 4.33 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.1$, $J_{2',2'OH} = 5.9$, $J_{2',3'} = 4.8$ Hz), 4.06 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.8$, $J_{3',3'OH} = 5.1$, $J_{3',4'} = 4.4$ Hz), 3.92 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 4.4$, $J_{4',5'a} = 4.0$, $J_{4',5'b} = 3.7$ Hz), 3.61 (ddd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 4.0$, $J_{5'a,b} = 12.1$, $J_{5'a,5'OH} = 5.1$ Hz), 5.52 (ddd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 3.7$, $J_{5'a,b} = 12.1$, $J_{5'b,5'OH} = 5.5$ Hz), 2.58 (t, 2 H, CH₂CH₂CH₃, $J = 7.0$ Hz), 1.60 (dt, 2 H, 5-CH₂CH₂CH₃, $J = 7.0$, $J = 7.3$ Hz), 1.03 (t, 3 H, 5-CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz).

Anal. Calcd for C₁₄H₁₇N₃O₄•1/5H₂O: C, 57.02; H, 5.95; N, 14.25. Found: C, 57.24; H, 5.88; N, 14.16.

5-Ethynyl-1-β-D-ribofuranosylimidazole-4-carbonitrile (27f).

化合物**26e** (618 mg, 1.38 mmol) をメタノール性アンモニア (20 ml) に溶解し室温で一晩静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ2.7x12 (3) cm, 5~30% EtOH in CHCl₃) で精製した。(得られた化合物の¹H NMRより副生するアセトアミドの混入が観察された。) HPLC (YMC-D-ODS-5, 30% MeOH-H₂O, 9 mL/min, room temperature, retention time 17 min) で再精製を行ない化合物**27f** (220 mg, 64%) を茶色油状物質として得た。

EI-MS : m/z 249 (M^+)

UV : $\lambda_{\max}$ (H₂O) 255 nm (ϵ 10,200), 266 nm (sh) (ϵ 8,000); $\lambda_{\max}$ (0.5 N HCl) 255 nm (ϵ 10,400), 267 nm (sh) (ϵ 7,900); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 256 nm (ϵ 10,000), 268 nm (sh) (ϵ 7,800)

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 8.33 (s, 1 H, H-2), 5.63 (d, 1 H, H-2', $J_{1',2'} = 5.1$ Hz), 5.60 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2',OH,2'} = 5.9$ Hz), 5.35 (s, 1 H, acetylene proton), 5.25 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3',OH,3'} = 4.9$ Hz), 5.07 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5',OH,5'} = 5.3$ Hz), 4.31 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.1$, $J_{2',2'OH} = 5.9$, $J_{2',3'} = 5.4$ Hz), 4.05 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.4$, $J_{3',3'OH} = 4.9$, $J_{3',4'} = 3.7$ Hz), 3.94 (dt, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 3.7$, $J_{4',5'} = 3.9$ Hz), 3.56 (dd, 2 H, H-5'a, b, $J_{5',4'} = 3.9$, $J_{5',5'OH} = 5.3$ Hz).

Anal. Calcd for C₁₁H₁₁N₃O₄•1/4H₂O: C, 52.07; H, 4.57; N, 16.56. Found: C, 52.06; H, 4.53; N, 16.38.

5-Ethynyl-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (23).

化合物 **17j** (310 mg, 0.66 mmol) をメタノール性アンモニア (10 ml) に溶解し室温にて

一晚静置した。溶媒を留去し、残渣をベンゼン共沸2回行なった後、アセトニトリル (5 ml) に懸濁しトリエチルアミン (0.37 ml, 2.64 mmol)、無水酢酸 (0.25 ml, 2.64 mmol) および DMAP (5 mg) を加え室温で1時間攪拌した。反応液にメタノールを加え反応を停止した後、溶媒を留去し残渣をクロロホルムに溶解し飽和重曹水で2回、さらに水で洗浄し、有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ1.8x13 (2.5) cm, ヘキサン:酢酸エチル=1:2~1:4) で精製し化合物**23** (223 mg, 85%) を得た。

EI-MS : m/z 393 (M^+)

¹H NMR (CDCl₃) δ; 7.73 (s, 1 H, H-2), 6.95 (br s, 1 H, NHa), 6.02 (d, 1 H, H-1', $J_{1,2'} = 5.1$ Hz), 5.78 (br s, 1H, NHb), 5.55 (dd, 1 H, H-2', $J_{2,1'} = 5.1$, $J_{2,3'} = 5.6$ Hz), 5.41 (dd, 1H, $J_{3,2'} = 5.6$, $J_{3,4'} = 3.9$ Hz), 4.39 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 3.48 (s, 1H, acetylene proton), 2.16, 2.14, 2.11 (each s, each 3 H, acetyl).

(Z)-5-[2-(Methylmercapto)vinyl]-1-β-D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (28).

化合物**23** (270 mg, 1.01 mmol) をメタノール (15 ml) に溶解し15% NaSMe水溶液 (1 ml) を加え室温で7時間攪拌した。反応液にDowex 50W-X8 (H⁺ form) を加え中和した。樹脂を濾去し、樹脂をメタノールで洗浄した後溶媒を留去した。残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ2.7x7 (3) cm, 5~40% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**28** (248 mg, 78%) を白色あわ状物質として得た。分析用試料としてメタノールより結晶化し白色結晶を得た。

FAB-MS : m/z 316 ($M^+ + 1$)

UV : λ_{max} (H₂O) 237 nm (ε 11,100), 281 nm (ε 4,800); λ_{max} (0.5 N HCl) 286 nm (ε 3,800); λ_{max} (0.5 N NaOH) 240 nm (ε 10,200), 283 nm (ε 4,800)

¹H NMR (DMSO-*d*₆ + D₂O) δ; 8.01 (s, 1 H, H-2), 6.63 (d, 1 H, 5-CH=CH, $J = 10.4$ Hz), 6.34 (d, 1 H, 5-CH=CH, $J = 10.4$ Hz), 5.48 (d, 1 H, H-1', $J_{1,2'} = 4.4$ Hz), 4.06 (dd, 1 H, H-2', $J_{2,1'} = 4.4$, $J_{2,3'} = 4.9$ Hz), 4.03 (dd, 1 H, H-3', $J_{3,2'} = 4.9$, $J_{3,4'} = 3.8$ Hz), 3.87 (dt, 1 H, H-4', $J_{4,3'} = 3.8$, $J_{4,5'a} = J_{4,5'b} = 3.3$ Hz), 3.59 (m, 2 H, H-5'a, b), 2.25 (s, 3 H, SCH₃).

Anal. Calcd for C₁₂H₁₇N₃O₅S•1/5H₂O: C, 45.19; H, 5.50; N, 13.17; S, 10.05. Found: C, 45.33; H, 5.43; N, 12.91; S, 10.16.

5-Iodo-1-(2-deoxy-3,5-O-TIPDS-β-D-ribofuranosyl)imidazole-4-carbonitrile (30).

化合物**29** (500 mg, 1.07 mmol) を100 °Cの油浴中ジヨードメタン (6 ml) に加熱溶解し亜硝酸イソアミル (0.6 ml) を加え加熱攪拌した。得られた黒褐色の反応液をシリカゲルカラム (φ2.3x13 cm) にアプライしヘキサンでジヨードメタンを溶出した後、ヘキサン:酢酸エチル=10:1~6:1で溶出し化合物**30** (397 mg, 64%) を黄色結晶として得た。分析用試料としてヘキサンより再結晶し黄色結晶を得た。

mp 148-149 °C

EI-MS : m/z 577 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 8.06 (s, 1 H, H-2), 5.89 (dd, 1 H, H-1', $J_{1',2'a} = 6.8$, $J_{1',2'b} = 2.0$ Hz), 4.59 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'a} = 7.6$, $J_{3',2'b} = 2.2$, $J_{3',4'} = 8.1$ Hz), 4.08 (m, 2 H, H-5'a, b), 3.84 (dt, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 8.1$, $J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 2.9$ Hz), 2.48 (m, 2 H, H-2'a, b), 1.05 (m, 28 H, isoPr).

Anal. Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{IN}_3\text{O}_4\text{Si}_2$: C, 43.67; H, 6.28; N, 7.27. Found: C, 43.27; H, 6.35; N, 7.33.

5-(2-Trimethylsilylethyn-1-yl)-1-(2-deoxy-3,5-O-TIPDS- β -D-ribofuranosyl)-imidazole-4-carbonitrile (31).

化合物30 (577 mg, 1 mmol) と $(\text{PhCN})_2\text{PdCl}_2$ (18 mg, 5 mol%) をガラス封管にとりアルゴンガスで置換した後、アセトニトリル (5 ml) に溶解しトリエチルアミン (0.16 ml, 1.2 mmol), トリメチルシリルアセチレン (0.17 ml, 1.2 mmol) を加え100 $^\circ\text{C}$ で2時間加熱攪拌した。反応液をセライト濾過し、セライトをエタノールで洗浄した後溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.3 \times 19$ (4) cm, 0~5% AcOEt in hexane) で精製し化合物31 (322 mg, 59%) を黄色結晶として得た。分析用試料としてヘキサンより再結晶し黄色結晶を得た。

mp 128-129 $^\circ\text{C}$.

EI-MS : m/z 547 (M^+).

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.85 (s, 1 H, H-2), 6.00 (dd, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 6.4$, $J_{1',2''} = 2.4$ Hz), 4.56 (ddd, 1 H, H-3'), 4.06 (m, 2 H, H-5'a, b), 3.84 (dt, 1 H, H-4'), 2.50 (m, 2 H, H-2'a, b), 1.04 (m, 28 H, isoPr), 0.29 (s, 9 H, TMS).

Anal. Calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{N}_3\text{O}_4\text{Si}_3$: C, 56.99; H, 8.28; N, 7.67. Found: C, 56.77; H, 8.45; N, 7.70.

5-Ethynyl-1-(2-deoxy- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carbonitrile (32).

化合物31 (164 mg, 0.3 mmol) をTHF (5 ml) に溶解し氷冷下1M TBAFのTHF溶液 (0.99 ml) を加え室温で10分間攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 6$ (2) cm, 5~15% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物32 (73 mg, 97%) をガラス状物質として得た。

EI-MS : m/z 233 (M^+)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.29 (s, 1 H, H-2), 6.08 (dd, 1 H, H-1', $J_{1',2'a} = 6.4$, $J_{1',2'b} = 6.6$ Hz), 5.37 (s, 1 H, acetylene proton), 5.36 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'\text{OH},3'} = 4.4$ Hz), 4.97 (t, 1 H, 5'-OH, $J = 5.3$ Hz), 4.29 (m, 1 H, H-3'), 3.86 (m, 1 H, H-4'), 3.53 (m, 2 H, H-5'a, b), 3.30 (m, 2 H, H-2'a, b).

Exact-MS : m/z Calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3$ (M^+): 233.0800. Found: 233.0782.

5-Ethynyl-1-(2-deoxy- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (33).

化合物32 (110 mg, 0.47 mmol) をアンモニア水 (1.5 ml) とメタノール (1.5 ml) の混合溶媒に溶解し30%過酸化水素水 (0.1 ml) を加え室温で30分間攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 10$ (3) cm, 5~15% EtOH in CHCl_3) で精

製し化合物**33** (100 mg, 84%) を白色結晶として得た。分析用試料としてエタノール-ヘキサンより再結晶し白色結晶を得た。

mp 174-175 °C

EI-MS : m/z 251 (M^+)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.09 (s, 1 H, H-2), 7.34, 7.24 (each br s, 2 H, CONH_2), 6.08 (t, 1 H, H-1', $J_{1',2'a} = J_{1',2'b} = 6.6$ Hz), 5.33 (d, 1 H, 3'-OH, $J = 4.2$ Hz), 4.96 (t, 1 H, 5'-OH, $J = 5.4$ Hz), 4.87 (s, 1 H, acetylene proton), 4.33 (m, 1 H, H-3'), 3.84 (m, 1 H, H-4'), 3.31 (m, 2 H, H-5'a, b), 2.40 (m, 2 H, H-2'a, b).

Anal. Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4$: C, 52.59; H, 5.22; N, 16.72. Found: C, 52.49; H, 5.17; N, 16.59.

5-Iodo-1-(5-deoxy-2,3-O-isopropylidene- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carbonitrile (35).

化合物**34** (1.06 g, 4.00 mmol) を100 °Cの油浴中ジヨードメタン (20 ml) に加熱溶解し亜硝酸イソアミル (2 ml) を加え加熱攪拌した。得られた黒褐色の反応液をシリカゲルカラム ($\phi 2.7 \times 27$ cm) にアプライしヘキサンでジヨードメタンを溶出した後、ヘキサン:酢酸エチル=5:1~2:1で溶出し化合物**35** (982 mg, 66%) を黄色油状物質として得た。

EI-MS : m/z 375 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.79 (s, 1 H, H-2), 5.75 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 2.9$ Hz), 4.83 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 2.9$, $J_{2',3'} = 6.3$ Hz), 4.54 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 6.3$, $J_{3',4'} = 3.9$ Hz), 4.35 (dd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 3.9$, $J_{4',5'} = 6.0$ Hz), 1.62, 1.37 (each s, 6 H, isoPr), 1.43 (d, 3 H, H-5', $J_{5',4'} = 6.6$ Hz).

5-(2-Trimethylsilylethyn-1-yl)-1-(5-deoxy-2,3-O-isopropylidene- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carbonitrile (36).

化合物**35** (739 mg, 1.97 mmol) と $(\text{PhCN})_2\text{PdCl}_2$ (36 mg, 5 mol%) をガラス封管にとりアルゴンガスで置換した後、アセトニトリル (7 ml) に溶解しトリエチルアミン (0.32 ml, 2.4 mmol), トリメチルシリルアセチレン (0.34 ml, 2.4 mmol) を加え100 °Cで5.5時間加熱攪拌した。反応液をセライト濾過し、セライトをエタノールで洗浄した後溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 20$ (3) cm, ヘキサン:酢酸エチル=5:1~2:1) で精製し化合物**36** (278 mg, 41%) を黄色結晶として得た。分析用試料としてヘキサンより再結晶し黄色結晶を得た。

mp 70-72 °C

EI-MS : m/z 345 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.61 (s, 1 H, H-2), 5.80 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 2.5$ Hz), 4.99 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 2.5$, $J_{2',3'} = 6.1$ Hz), 4.42 (m, 2 H, H-3', 4'), 1.58, 1.35 (each s, 6 H, isoPr), 1.40 (d, 3 H, H-5'), 0.29 (s, 9 H, TMS).

Anal. Calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3\text{Si}$: C, 59.10; H, 6.71; N, 12.16. Found: C, 58.94; H, 6.79; N, 12.14.

5-Ethynyl-1-(5-deoxy- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carbonitrile (39).

Method A) 化合物**36** (50 mg, 0.14 mmol) を90%TFA水溶液 (3 ml) に溶解し室温で10分間攪拌した。溶媒を留去し残渣をエタノールで3回共沸した後、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 7$ (2) cm, 0~4% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**38** (43 mg, 97%) を油状物質として得た。

EI-MS : m/z 305 (M^+)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$) δ ; 8.26 (s, 1 H, H-2), 5.61 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.9$ Hz), 4.39 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 4.9$, $J_{2',3'} = 5.1$ Hz), 3.90 (m, 2 H, H-3', 4'), 1.30 (d, 3 H, H-5', $J_{5',4'} = 7.4$ Hz), 0.28 (s, 9 H, TMS).

化合物**38** (130 mg, 0.43 mmol) をメタノール性アンモニア (3 ml) に溶解し室温で一晩静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.5 \times 5$ (2) cm, 0~6% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**39** (81 mg, 76%) をガラス状物質として得た。

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ ; 8.26 (s, 1 H, H-2), 5.60 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.1$ Hz), 5.58 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'\text{OH},2'} = 5.9$ Hz), 5.35 (s, 1 H, acetylene proton), 5.24 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'\text{OH},3'} = 5.1$ Hz), 4.38 (m, 1 H, H-2'), 3.87 (m, 2 H, H-3', 4'), 1.27 (d, 3 H, H-5', $J_{5',4'} = 6.4$ Hz).

Exact-MS : m/z Calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3$ (M^+): 233.0800. Found: 233.0779.

Method B) 化合物**36** (278 mg, 0.81 mmol) をTHF (5 ml) に溶解し、氷冷下1 M TBAFのTHF溶液 (1.2 ml) を加え室温で10分間攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 10$ (3) cm, ヘキサン:酢酸エチル=1:2) で精製し化合物**37** (198 mg, 90%) を得た。得られた化合物**37**を90% TFA水溶液 (10 ml) に溶解し室温で10分間攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 12$ (1.5) cm, 0~12% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**39** (164 mg, 97%) を得た。

5-Ethynyl-1-(5-deoxy- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (40).

化合物**39** (84 mg, 0.28 mmol) をアンモニア水 (1.5 ml) とメタノール (1.5 ml) の混合溶媒に溶解し30% 過酸化水素水 (0.1 ml) を加え室温で30分間攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 8$ (2) cm, 5~15% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**40** (47 mg, 68%) を白色結晶として得た。分析用試料としてエタノール-ヘキサンより再結晶し白色結晶を得た。

mp 171-172 °C

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ ; 8.05 (s, 1 H, H-2), 7.35, 7.25 (each br s, 2 H, CONH_2), 5.62 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.1$ Hz), 5.52 (d, 1 H, 2'-OH), 5.21 (d, 1 H, 3'-OH), 4.86 (s, 1 H, acetylene proton), 4.39 (m, 1 H, H-2'), 3.87 (m, 2 H, H-3', 4'), 1.29 (d, 3 H, H-5', $J_{5',4'} = 6.1$ Hz).

Exact-MS : m/z Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4$ (M^+): 251.0906. Found: 251.0923.

4-Cyano-5-ethynylimidazole (41).

化合物**26e** (447 mg, 1 mmol) を1N HCl (10 ml) とメタノール (5 ml) の混合溶媒に溶解し、100 °Cで4時間加熱還流した。反応液を1N NaOHで中和した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 13$ (4) cm, 0~8% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**41** (112 mg, 96%) を淡黄色結晶として得た。分析用試料としてメタノール-水より再結晶し淡黄色結晶を得た。

mp 169 °C (colored from 140 °C)

EI-MS : m/z 117 (M^+)

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 13.70 (br s, 1 H, NH), 7.99 (s, 1 H, H-2), 5.02 (s, 1 H, acetylene proton).

Anal. Calcd for C₆H₃N₃: C, 61.54; H, 2.58; N, 35.88. Found: C, 61.50; H, 2.52; N, 35.78.

4-Amino-5-ethynylimidazole (42).

化合物**22j** (200 mg, 0.75 mmol) を1N HCl (5 ml) に溶解し、100 °Cで4時間加熱還流した。反応液を1N NaOHで中和した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 11$ (3) cm, 0~16% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**42** (38 mg, 38%) を淡黄色結晶として得た。分析用試料としてエタノール-ヘキサンより再結晶し淡黄色結晶を得た。

mp 208-209 °C (colored from 175 °C)

EI-MS : m/z 135 (M^+)

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 13.0 (br s, 1 H, NH), 7.71 (s, 1 H, H-2), 7.25, 7.22 (each br s, 2 H, CONH₂), 4.52 (s, 1 H, acetylene proton).

Anal. Calcd for C₆H₅N₃O: C, 53.33; H, 3.73; N, 31.10. Found: C, 53.18; H, 3.66; N, 31.15.

5-Vinyl-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (50).

化合物**23** (393 mg, 1 mmol) をエタノール (50 ml) に溶解し5% パラジウム炭素 (30 mg) を加え水素雰囲気下 (50 psi) 室温にて12時間反応を行なった。反応液をセライト濾過し、セライトを加温したエタノールで洗浄し溶媒を留去した。得られた残渣を少量のクロロホルムに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 11$ (2.5) cm, ヘキサン:酢酸エチル=1:1~1:3) で精製し化合物**50** (300 mg, 76%) をあわ状物質として得た。

EI-MS : m/z 395 (M^+)

¹H NMR (CDCl₃) δ : 7.75 (s, 1 H, H-2), 7.21 (dd, 1 H, 5-CH=CHaHb, $J = 18.3$, $J = 12.0$ Hz), 7.05 (br s, 1 H, NHa), 5.96 (d, 1 H, H-1', $J_{1,2'} = 5.4$ Hz), 5.83 (dd, 1 H, 5-CHc=CHaCHb, $J_{a,c} = 18.3$, $J_{a,b} = 1.0$ Hz), 5.59 (dd, 1 H, H-2', $J_{2,1'} = 5.4$, $J_{2,3'} = 6.1$ Hz), 5.47 (dd, 1 H, 5-CHc=CHaCHb, $J_{b,c} = 12.0$, $J_{a,b} = 1.0$ Hz), 5.43 (m, 2 H, H-3', NHb), 4.36 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.16, 2.14, 2.09 (each s, each 3 H, acetyl).

5-Vinyl-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (43).

化合物**50** (80 mg, 0.20 mmol) をメタノール性アンモニア (5 ml) に溶解し室温にて一晩

静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 6$ (1) cm, 5~30% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**43** (46 mg, 85%) を白色結晶として得た。分析用試料としてエタノール-エーテルより再結晶し白色結晶を得た。

mp 193 °C (sintered from 100 °C)

EI-MS : m/z 269 (M^+)

UV : λ_{max} (H_2O) 248 nm (ϵ 7,300); λ_{max} (0.5 N NaOH) 249 nm (ϵ 9,800)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$) δ : 8.13 (s, 1 H, H-2), 7.20 (dd, 1 H, 5-CH=CH₂, $J = 18.3$, $J = 12.2$ Hz), 5.86 (dd, 1 H, 5-CHc=CHaHb, $J_{a,b} = 1.5$, $J_{a,c} = 18.3$ Hz), 5.64 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.1$ Hz), 5.50 (dd, 1 H, 5-CHc=CHaCHb, $J_{a,b} = 1.5$, $J_{b,c} = 12.2$ Hz), 4.31 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.1$, $J_{2',3'} = 4.9$ Hz), 4.08 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.9$, $J_{3',4'} = 4.4$ Hz), 3.92 (m, 1 H, H-4'), 3.60 (m, 2 H, H-5'a,b).

Anal. Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_5$: C, 49.07; H, 5.62; N, 15.61. Found: C, 48.84; H, 5.75; N, 15.49.

5-Acetyl-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (**51**).

化合物**23** (80 mg, 0.2 mmol) を80%酢酸水溶液に溶解し酢酸水銀 (127 mg, 0.4 mmol) を加え室温で攪拌した。20時間後、酢酸水銀 (127 mg, 0.4 mmol) をさらに加え、計44時間攪拌した。反応液に硫化水素ガス、続いて窒素ガスを通じた後セライト濾過し、濾液を留去した。残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 11$ (1.5) cm, ヘキサン: 酢酸エチル = 1:1 ~ 1:2) で精製し化合物**51** (48 mg, 59%) を白色結晶として得た。

EI-MS : m/z 411 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 8.04 (s, 1 H, H-2), 7.24 (br s, 1 H, NHa), 6.21 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 2.5$ Hz), 5.61 (br s, 1 H, NHb), 5.40 (m, 2H, H-2', 3'), 4.43 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.83 (s, 3H, methyl), 2.19, 2.18, 2.07 (each s, each 3 H, acetyl).

5-Acetyl-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (**44**).

化合物**51** (41 mg, 0.1 mmol) をメタノール性アンモニア (5 ml) に溶解し室温にて6時間静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のMeOHに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 5$ (2) cm, 5~20% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**44** (28 mg, quant) を白色結晶として得た。分析用試料としてエタノール-ヘキサンより結晶化し白色結晶を得た。

EI-MS : m/z 285 (M^+)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$) δ : 8.31 (s, 1 H, H-2), 5.75 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 3.4$ Hz), 4.03 (m, 3 H, H-2', 3', 4'), 3.62 (m, 2 H, H-5'a,b), 3.41 (s, 3H, methyl).

Anal. Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_6$: C, 46.32; H, 5.30; N, 14.73. Found: C, 46.57; H, 5.41; N, 14.47.

(*E*)-5-(2-Carbomethoxyvinyl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (**52**).

化合物**8** (495 mg, 1 mmol) と $(\text{PhCN})_2\text{PdCl}_2$ (36 mg, 10 mol%) をガラス封管にとりアルゴンガスで置換した後、アセトニトリル (5 ml) に溶解しトリエチルアミン (0.16 ml, 1.2 mmol), アクリル酸メチル (0.18 ml, 2 mmol) を加え、100 °Cで16時間加熱攪拌した。反応液をセライト濾過し、セライトをエタノールで洗浄した後溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.3 \times 14$ (1.5) cm, ヘキサン:酢酸エチル=1:2~1:3) で精製し化合物**52** (293 mg, 65%) を黄色結晶として得た。分析用試料としてクロロホルム-エーテルより再結晶し淡黄色結晶を得た。

mp 161 °C

EI-MS : m/z 453 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 8.06 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 16.4$ Hz), 7.83 (s, 1 H, H-2), 7.16 (br s, 1 H, NHa), 6.94 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 16.4$ Hz), 5.96 (d, 1 H H-1', $J_{1',2'} = 5.6$ Hz), 5.57 (t, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = J_{2',3'} = 5.6$ Hz), 5.49 (br s, 1 H, NHb), 5.42 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.6$, $J_{3',4'} = 3.4$ Hz), 4.48~4.34 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 3.82 (s, 3 H, methyl), 2.16, 2.15, 2.11 (each s, each 3 H, acetyl).

Anal. Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_{10}$: C, 50.33; H, 5.11; N, 9.27. Found: C, 50.16; H, 5.05; N, 9.20.

5-Hydroxymethyl-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (**54**).

化合物**52** (500 mg, 1.1 mmol) の塩化メチレン (20 ml) 溶液を-78 °Cに冷却し、溶液の色が青くなるまで (約15分間) オゾン-酸素気流を通じた。原料消失を確認後、窒素ガスを通じ過剰のオゾンを除き、 NaBH_3CN (274 mg, 4.4 mmol) / AcOH (4 ml) の懸濁液を加え冷却バスより取り出し室温になるまで攪拌した。30分後、反応液をクロロホルム (100 ml) で希釈し飽和重曹水で3回、更に飽和食塩水で洗浄し、有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 15$ cm, 0~4% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**54** (285 mg, 65%) を淡黄色油状物質として得た。

EI-MS : m/z 399 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.68 (s, 1 H, H-2), 7.16 (br s, 1 H, NHa), 5.91 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 6.0$ Hz), 5.81 (br s, 1 H, NHb), 5.47 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 6.0$, $J_{2',3'} = 5.5$ Hz), 5.40 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.5$, $J_{3',4'} = 3.8$ Hz), 5.27 (br t, 1 H, CH_2OH), 4.88 (m, 2 H, CH_2OH), 4.40 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.15 (s, 6 H, acetyl x 2), 2.11 (s, 3 H, acetyl).

5-Hydroxymethyl-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (**45**).

化合物**54** (240 mg, 0.60 mmol) をメタノール性アンモニア (10 ml) に溶解し室温にて1.5時間静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 5$ (2) cm, 5~40% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**45** (137 mg, 83%) を白色あわ状物質として得た。分析用試料としてエタノールより結晶化し白色結晶を得た。

mp 154-155 °C

FAB-MS : m/z 274 ($M^+ + 1$), 547 ($2M^+ + 1$)

UV : λ_{max} (H_2O) 237 nm (ϵ 9,300); UV λ_{max} (0.5 N NaOH) 240 nm (ϵ 9,900)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.99 (s, 1 H, H-2), 7.41, 7.20 (each br s, each 1 H, NH_2), 5.74 (d, 1

H, H-1', $J_{1',2'} = 4.9$ Hz), 5.49 (dd, 1 H, CH₂OH, $J = 6.1, 5.5$ Hz), 5.45 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH, 2'} = 6.0$ Hz), 5.16 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH, 3'} = 5.5$ Hz), 5.05 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH, 5'a} = 4.9, J_{5'-OH, 5'b} = 5.5$ Hz), 4.93 (dd, 1 H, CHaOH, $J = 5.5, 13.2$ Hz), 4.76 (dd, 1 H, CHbOH, $J = 6.1, 13.2$ Hz), 4.16 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 4.9, J_{2',2'-OH} = 6.0, J_{2',3'} = 5.5$ Hz), 4.05 (dt, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = J_{3',3'-OH} = 5.5, J_{3',4'} = 5.0$ Hz), 3.90 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 5.0, J_{4',5'a} = 3.9, J_{4',5'b} = 3.3$ Hz), 3.66 (ddd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 3.9, J_{5'a,5'b} = 12., J_{5'a,5'-OH} = 4.9$ Hz), 3.56 (ddd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 3.3, J_{5'b,5'a} = 12., J_{5'b,5'-OH} = 5.5$ Hz).

Anal. Calcd for C₁₀H₁₅N₃O₆: C, 43.96; H, 5.53; N, 15.38. Found: C, 43.96; H, 5.66; N, 15.20.

5-Formyl-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (53).

化合物52 (810 mg, 1.79 mmol) の塩化メチレン (20 ml) 溶液を -78°C に冷却し、溶液の色が青くなるまで (約20分間) オゾン-酸素気流を通じた。原料消失を確認後、窒素ガスを通じ過剰のオゾンを除き、Me₂S (0.26 ml, 3.58 mmol) を加え冷却バスを取り除き室温になるまで攪拌した。30分後、溶媒を留去し残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ2.7x16 (7) cm, ヘキサン:酢酸エチル = 1:2~0:1) で精製し化合物53 (447 mg, 63%) を白色あわ状物質として得た。分析用試料としてエタノール-ヘキサンより結晶化し白色結晶を得た。

mp 143-144 °C

FAB-MS : m/z 398 ($M^+ + 1$)

¹H NMR (CDCl₃) δ; 10.60 (s, 1 H, CHO), 8.13 (s, 1 H, H-2), 7.20 (br s, 1 H, NHa), 6.52 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 2.7$ Hz), 5.62 (br s, 1 H, NHb), 5.40 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 2.7, J_{2',3'} = 5.5$ Hz), 5.31 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.5, J_{3',4'} = 7.7$ Hz), 4.43 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.19 (s, 6 H, acetyl x 2), 2.08 (s, 3 H, acetyl).

Anal. Calcd for C₁₆H₁₉N₃O₉: C, 48.36; H, 4.82; N, 10.58. Found: C, 48.36; H, 4.82; N, 10.43.

5-Formyl-1-β-D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (46).

化合物53 (200 mg, 0.50 mmol) を MeOH (5 ml) に溶解し 1N NaOMe / MeOH (50 μl) を加え室温で攪拌した。30分後更に 1N NaOMe / MeOH (100 μl) を加え1時間攪拌した。反応液に 1NHCl (150 μl) を加え中和した後、溶媒を留去し残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ1.7x5 (3) cm, 5~30% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物46 (97 mg, 71%) を無色油状物質として得た。分析用試料としてエタノールより結晶化し白色結晶を得た。

mp 184-187 °C

FAB-MS : m/z 272 ($M^+ + 1$), 543 ($2M^+ + 1$)

UV : λ_{max} (H₂O) 276 nm (ε 9,800); λ_{max} (0.5 N NaOH) 245 nm (ε 8,300)

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ; 10.47 (s, 1 H, CHO), 8.60 (s, 1 H, H-2), 7.83, 7.65 (each br s, each 1 H, NH₂), 6.23 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 2.2$ Hz), 5.47 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH, 2'} = 4.9$ Hz), 5.17 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH, 5'a} = J_{5'-OH, 5'b} = 4.9$ Hz), 5.07 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH, 3'} = 5.5$ Hz), 4.07 (m, 2 H, H-2', 3'), 3.92 (m, 1 H, H-4'), 3.76 (m, 1 H, H-5'a), 3.60 (m, 1 H, H-5'b).

Anal. Calcd for C₁₀H₁₃N₃O₆: C, 44.28; H, 4.83; N, 15.49. Found: C, 43.93; H, 5.94; N,

5-Hydroxyiminomethyl-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (55).

化合物**53** (800 mg, 2.01 mmol) をピリジン (10 ml) に溶解し、 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (168 mg, 2.41 mmol) を加え室温で30分間攪拌した。反応液にアセトンを加え反応を停止した後、溶媒を留去し残渣をクロロホルムに溶解し水で3回洗浄し、有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒を留去し、残渣をトルエン共沸した後シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 15$ cm, 0~4% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**55** (576 mg, 69%) を白色あわ状物質として得た。分析用試料としてエタノール-ヘキサンより結晶化し白色結晶を得た。

mp 196-197 °C

EI-MS : m/z 412 (M^+)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 9.09 (s, 1 H, $\text{CH}=\text{N}$), 8.00 (s, 1 H, H-2), 7.79 (br s, 1 H, OH), 7.11 (br s, 1 H, NHa), 6.44 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 2.8$ Hz), 5.77 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 2.8$, $J_{2',3'} = 4.9$ Hz), 5.48 (br s, 1 H, NHb), 5.33 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.9$, $J_{3',4'} = 7.1$ Hz), 4.41 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.18, 2.15, 2.08 (each s, each 3 H, acetyl).

Anal. Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_9$: C, 46.60; H, 4.89; N, 13.59. Found: C, 46.51; H, 4.95; N, 13.51.

5-Hydroxyiminomethyl-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (47).

化合物**55** (196 mg, 0.48 mmol) をメタノール性アンモニア (10 ml) に溶解し室温にて2時間静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.3 \times 5$ (2) cm, 5~20% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**47** (123 mg, 90%) を白色あわ状物質として得た。分析用試料としてイソプロパノール-ヘキサンより結晶化し白色結晶を得た。

mp 175-178 °C

FAB-MS : m/z 287 (M^++1)

UV : λ_{max} (H_2O) 277 nm (ϵ 12,500); λ_{max} (0.5 N HCl) 260 nm (ϵ 10,200); λ_{max} (0.5 N NaOH) 297 nm (ϵ 11,100)

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.51 (s, 1 H, N-OH), 8.82 (s, 1 H, $\text{CH}=\text{N}$), 8.28 (s, 1 H, H-2), 7.51, 7.31 (each br d, each 1 H, NH_2), 6.27 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 3.9$ Hz), 5.27 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2',\text{OH},2'} = 5.0$ Hz), 5.08 (m, 2 H, 3',5'-OH), 4.17 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 3.9$, $J_{2',2'\text{-OH}} = 5.0$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.06 (m, 1 H, H-3'), 3.86 (m, 1 H, H-4'), 3.67 (m, 1 H, H-5'a), 3.54 (m, 1 H, H-5'b).

Anal. Calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_6$: C, 41.96; H, 4.93; N, 19.57. Found: C, 41.67; H, 4.93; N, 19.36.

5-Cyano-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (56).

化合物**53** (503 mg, 1.33 mmol) をピリジン (10 ml) に溶解し、 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (111 mg, 1.60 mmol) を加え室温で攪拌した。原料消失を確認後、反応液をアルゴン雰囲気下氷冷しフェニルクロロフォルメート (0.32 ml, 2.66 mmol) を加え、室温で攪拌した。30分後、氷冷下さらにフェニルクロロフォルメート (0.20 ml, 1.66 mmol) を加え室温で1時間攪拌した。

反応終了後、反応液を100°Cで20分間加熱攪拌した。溶媒を留去し、残渣をクロロホルムに溶解し水で2回、更に飽和食塩水で洗浄し有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し残渣をトルエン共沸した後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ2.7x11 cm, 0~4% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**56** (430 mg, 86%) を淡黄色あわ状物質として得た。

EI-MS : m/z 394 (M^+)

¹H NMR (CDCl₃) δ; 7.87 (s, 1 H, H-2), 6.93 (br s, 1 H, NHa), 6.00 (d, 1 H H-1', $J_{1',2'} = 5.5$ Hz), 5.77 (br s, 1 H, NHb), 5.43 (m, 2 H, H-2', 3'), 4.50 (m, 1 H, H-4'), 4.41 (m, 2 H, H-5'a, b), 2.17, 2.16, 2.13 (each s, each 3 H, acetyl).

5-Cyano-1-β-D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (**48**).

化合物**56** (683 mg, 1.73 mmol) をメタノール (10 ml) に溶解しトリエチルアミン (2 ml) を加え室温で10時間攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量のエタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ3.2x6 (4) cm, 5~30% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**48** (370 mg, 80%) を白色あわ状物質とした得た。分析用試料としてエタノール-ヘキサンより結晶化し白色結晶を得た。

mp 169-171 °C

EI-MS : m/z 268 (M^+)

UV : λ_{max} (H₂O) 250 nm (ε 9,400); λ_{max} (0.5 N HCl) 250 nm (ε 9,400); λ_{max} (0.5 N NaOH) 252 nm (ε 10,000)

IR (Nujol): 2280 cm⁻¹ (ν_{CN})

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ; 8.40 (s, 1 H, H-2), 7.77, 7.64 (each br s, each 1 H, NH₂), 5.68 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH,2'} = 5.9$ Hz), 5.66 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.5$ Hz), 5.30 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH,3'} = 4.8$ Hz), 5.05 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH,5'a} = 5.1$, $J_{5'-OH,5'b} = 5.5$ Hz), 4.35 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.5$, $J_{2',2'-OH} = 5.9$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.08 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$, $J_{3',3'-OH} = 4.8$, $J_{3',4'} = 4.0$ Hz), 3.97 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 4.0$, $J_{4',5'a} = 3.7$, $J_{4',5'b} = 3.9$ Hz), 3.62 (ddd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 3.7$, $J_{5'a,5'b} = 12.1$, $J_{5'a,5'-OH} = 5.1$ Hz), 3.58 (ddd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 3.9$, $J_{5'b,5'a} = 12.1$, $J_{5'b,5'-OH} = 3.9$ Hz).

Anal. Calcd for C₁₀H₁₂N₄O₅•1/4H₂O: C, 44.08; H, 4.62; N, 20.54. Found: C, 44.30; H, 4.52; N, 20.44.

4,5-Dicyano-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl)imidazole (**57**).

化合物**53** (900 mg, 2.27 mmol) をピリジン (20 ml) に溶解し、NH₂OH•HCl (187 mg, 2.72 mmol) を加え室温で攪拌した。原料消失を確認後、反応液をアルゴン雰囲気下氷冷し無水トリフロロ酢酸 (0.96 ml, 6.81 mmol) を滴下し、室温で攪拌した。1時間後、氷冷下さらに無水トリフロロ酢酸 (0.96 ml, 6.81 mmol) を加え室温で1時間攪拌した。反応液に氷を加え反応を停止し、溶媒を留去した。残渣を酢酸エチルに溶解し水で2回、更に飽和食塩水で洗浄し有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し残渣をトルエン共沸した後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ3.7x14 (5) cm, ヘキサン:酢酸エチル=2:1~1:3) で精製し化合物**57** (430 mg, 86%) を黄色油状物質として得た。

FAB-MS : m/z 377 (M^++1)

¹H NMR (CDCl₃) δ; 7.98 (s, 1 H, H-2), 5.95 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.5$ Hz), 5.42 (m, 2 H,

H-2', 3'), 4.50 (m, 1 H, H-4'), 4.42 (m, 2 H, H-5'a, b), 2.18, 2.15, 2.14 (each s, each 3 H, acetyl).

Methyl 4-cyano-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboximidate (60).

化合物57 (515 mg, 1.37 mmol) をメタノール (30 ml) に溶解しトリエチルアミン (3 ml) を加え室温で10時間攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量のエタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 10$ (7) cm, 5~30% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物60 (290 mg, 75%) を淡黄色結晶とした得た。分析用試料としてメタノールより再結晶し白色結晶を得た。

mp 185-186 °C (lit. 185-186 °C, dec.)

FAB-MS : m/z 283 ($M^+ + 1$)

UV : λ_{max} (H_2O) 247 nm (ϵ 8,700); λ_{max} (0.5 N HCl) 257 nm (ϵ 9,500); λ_{max} (0.5 N NaOH) 249 nm (ϵ 10,200)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.21 (br s, 0.54 H, NH of isomer A), 8.92 (br s, 0.46 H, NH of isomer B), 8.51 (s, 0.46 H, H-2 of isomer B), 8.36 (s, 0.54 H, H-2 of isomer A), 6.40 (d, 0.46 H, H-1' of isomer B, $J_{1',2'} = 2.7$ Hz), 5.71 (d, 0.54 H, 2'-OH of isomer A, $J_{2'-\text{OH},2'} = 6.0$ Hz), 5.66 (d, 0.54 H, H-1' of isomer A, $J_{1',2'} = 4.4$ Hz), 5.44 (d, 0.46 H, 2'-OH of isomer B, $J_{2'-\text{OH},2'} = 4.9$ Hz), 5.25~5.08 (m, 2 H, 3'-OH, 5'-OH), 4.20~3.91 (m, 3 H, H-2', 3', 4'), 3.80 (s, 1.62 H, methyl of isomer A), 3.76 (s, 1.38 H, methyl of isomer B), 3.73~3.51 (m, 2 H, H-5'a, b).

(化合物60には回転異性体が存在するために ^1H -NMRスペクトルにおいて2種の混合物として観察される。各スペクトルの帰属をする便宜上、存在比の多い方をisomer A、少ない方をisomer Bと命名した。)

4,5-Dicyano-1- β -D-ribofuranosylimidazole (63).

化合物48 (134 mg, 0.5 mmol) をピリジン (5 ml) に溶解し Et_3SiCl (0.4 ml, 2.5 mmol) を加え室温で1.5時間攪拌した。反応液にエタノールを加え反応を停止し、溶媒を留去した後残渣を酢酸エチルに溶解し水で3回洗浄し有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒を留去し残渣をトルエン共沸3回行なった後、塩化メチレン (5 ml) に溶解し氷冷下トリエチルアミン (0.71 ml, 5 mmol)、オキシ塩化リン (0.1 ml, 1.0 mmol) を加え室温で15分間攪拌した。反応液に氷冷下水を加え反応を停止した後、水 (60 ml) を加えクロロホルムで3回抽出した。有機層を合わせて無水 Na_2SO_4 で乾燥した後、溶媒を留去し残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 9$ (5) cm, ヘキサン:酢酸エチル = 10:1~6:1) で精製し化合物62を無色油状物質として得た。

^1H NMR (CDCl_3) δ : 8.22 (s, 1 H, H-2), 5.74 (d, 1 H H-1', $J_{1',2'} = 5.5$ Hz), 5.31 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.5$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.22 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$, $J_{3',4'} = 2.8$ Hz), 4.15 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 2.8$, $J_{4',5'a} = 2.8$, $J_{4',5'b} = 1.7$ Hz), 3.91 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 3.3$, $J_{5'a,b} = 11.5$ Hz), 3.77 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 1.7$, $J_{5'b,a} = 11.5$ Hz), 0.99~0.40 (m, 45 H, ethyl x 9).

得られた化合物62をTHF (10 ml) に溶解し氷冷下1M TBAFのTHF溶液 (2 ml, 2 mmol) を加え室温で10分間攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量のMeOHに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー

($\phi 1.8 \times 10$ (6) cm, 5~30% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**63** (89 mg, 71%) を得た。

FAB-MS : m/z 251 ($M^+ + 1$)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.60 (s, 1 H, H-2), 5.77 (d, 1 H H-1', $J_{1', 2'} = 6.0$ Hz), 5.75 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-\text{OH}, 2'} = 5.0$ Hz), 5.35 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-\text{OH}, 3'} = 5.5$ Hz), 5.09 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-\text{OH}, 5'a} = J_{5'-\text{OH}, 5'b} = 5.5$ Hz), 4.31 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2', 1'} = 6.0$, $J_{2', 2'-\text{OH}} = 5.0$, $J_{2', 3'} = 5.5$ Hz), 4.10~3.99 (m, 2 H, H-3', 4'), 3.70~3.53 (m, 2 H, H-5'a, b).

(E)-5-(2-Bromovinyl)-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (49).

化合物**52** (480 mg, 1.06 mmol) を MeOH (7 ml) に溶解し、0.5N NaOH (7 ml) を加え室温で攪拌した。2時間後、1N HCl を加え中和し溶媒を留去した。残渣を水 (20 ml) に溶解し、酢酸ナトリウム (174 mg, 2.12 mmol) を加え 100 $^\circ\text{C}$ で 5 分間加熱攪拌した。油浴より取り出し 60 $^\circ\text{C}$ まで冷却し NBS (189 mg, 1.06 mmol) を少しずつ加え室温で攪拌した。3時間後 60 $^\circ\text{C}$ に再び加熱し NBS (189 mg, 1.06 mmol) を少しずつ加え室温で更に 2.5 時間攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 10$ (4) cm, 5~40% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**49** (308 mg, 84%) を白色粉末として得た。分析用試料として HPLC (YMC-D-ODS-5, 30 % MeOH- H_2O , 8 ml / min, room temperature, retention time; 20 min) で再精製を行なった。

mp 167-168 $^\circ\text{C}$

FAB-MS : m/z 348, 350 ($M^+ + 1$)

UV : λ_{max} (H_2O) 274 nm (ϵ 10,200); λ_{max} (0.5 N NaOH) 277 nm (ϵ 10,600)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.14 (s, 1 H, H-2), 7.63 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 14.3$ Hz), 7.48 (br s, 1 H, NHa), 7.45 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 14.3$ Hz), 7.27 (br s, 1 H, NHb), 5.62 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-\text{OH}, 2'} = 6.2$ Hz), 5.60 (d, 1 H, H-1', $J_{1', 2'} = 5.5$ Hz), 5.28 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-\text{OH}, 3'} = 5.5$ Hz), 5.09 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-\text{OH}, 5'a} = J_{5'-\text{OH}, 5'b} = 5.3$ Hz), 4.29 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2', 1'} = 5.5$, $J_{2', 2'-\text{OH}} = 6.2$, $J_{2', 3'} = 5.1$ Hz), 4.06 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3', 2'} = 5.1$, $J_{3', 3'-\text{OH}} = 5.5$, $J_{3', 4'} = 3.7$ Hz), 3.97 (m, 1 H, H-4'), 3.68~3.51 (m, 2 H, H-5'a, b).

Anal. Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{BrN}_3\text{O}_5$: C, 37.95; H, 4.05; N, 12.07; Br, 22.95. Found: C, 38.14; H, 3.98; N, 11.91; Br, 22.60.

第2章の実験

(E)-5-(3-Hydroxy-1-propenyl)-1-(2,3,5-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (79).

化合物**17a** (423 mg, 1 mmol) をエタノール (50 ml) に溶解し5%パラジウム炭素 (100 mg) を加え水素雰囲気下 (50 psi) 室温で48時間反応激しく振とうした。反応液をセライト濾過し、セライトを加温したエタノールで洗浄した後溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ2.7x16 cm, 0~8% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**79** (395 mg, 93%) を黄色油状物質として得た。

EI-MS : m/z 425 (M^+)

¹H NMR (DMSO-*d*₆+D₂O) δ; 8.06 (s, 1 H, H-2), 6.28 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 11.7$ Hz), 6.08 (dt, 1 H, vinyl proton, $J = 11.7, 6.2$ Hz), 5.74 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 6.2$ Hz), 5.53 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 6.2, J_{2',3'} = 5.9$ Hz), 5.33 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.9, J_{3',4'} = 4.2$ Hz), 4.37~4.26 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 3.81 (d, 2 H, methylene proton, $J = 6.2$ Hz), 2.10, 2.06, 2.04 (each s, each 3 H, acetyl).

Anal. Calcd for C₁₈H₂₃N₃O₉: C, 50.82; H, 5.45; N, 9.88. Found: C, 50.42; H, 5.45; N, 9.92.

1-(2,3,5-Tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-1,5-dihydroimidazo[4,5-c]azepin-4,6-dione (82).

化合物**79** (200 mg, 0.47 mmol) を塩化メチレン (25 ml) に溶解しBaMnO₄ (1.2g, 4.7 mmol) を加え室温で攪拌した。20時間後、BaMnO₄ (600 mg, 2.4 mmol) をさらに加え計29時間攪拌した。反応液をセライト濾過し、セライトを加温したエタノールで洗浄した後溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ2.7x16 cm, 0~8% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**82** (132 mg, 67%) を得た。

EI-MS : m/z 421 (M^+)

¹H NMR (CDCl₃) δ; 8.65 (br s, 1 H, NH), 8.10 (s, 1 H, H-2), 7.29 (d, 1 H, H-8, $J = 12.5$ Hz), 6.50 (d, 1 H, H-7, $J = 12.5$ Hz), 5.98 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.1$ Hz), 5.48 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.1, J_{2',3'} = 5.5$ Hz), 5.38 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.5, J_{3',4'} = 4.8$ Hz), 4.56~4.36 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.17, 2.16, 2.15 (each s, each 3 H, acetyl).

(E)-5-(3-Hydroxy-1-propenyl)-1-(2,3,5-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (84).

化合物**8** (990 mg, 2 mmol) と(PhCN)₂PdCl₂ (36 mg, 5 mol%) をガラス封管にとりアルゴンガスで置換した後、アセトニトリル (7 ml) に溶解し(E)-1-tributylstannylprop-1-en-3-ol (**83**) (1.38 g, 4 mmol) を加え、100 °Cで12時間加熱攪拌した。反応液をセライト濾過し、セライトをエタノールで洗浄した後溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ2.7x24 cm, 0~8% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**84** (576 mg, 68%) を黄色あわ状物質として得た。

EI-MS : m/z 425 (M^+)

¹H NMR (CDCl₃) δ; 7.75 (s, 1 H, H-2), 7.13 (br s, 1 H, NHa), 6.96 (dt, 1 H, vinyl proton, $J = 1.8, 16.5$ Hz), 6.53 (dt, 1 H, vinyl proton, $J = 4.8, 16.5$ Hz), 5.90 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.5$ Hz), 5.71 (br s, 1 H, NHb), 5.63 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.5, J_{2',3'} = 5.1$ Hz), 5.42 (dd, 1 H,

H-3', $J_{3',2'} = 5.1$, $J_{3',4'} = 4.4$ Hz), 4.41~4.34 (m, 5 H, H-4', 5'a, 5'b, CH₂OH), 3.35 (br s, 1 H, CH₂OH), 2.15, 2.14, 2.10 (each s, each 3 H, acetyl).

(E)-5-(2-Formylvinyl)-1-(2,3,5-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (85).

化合物**84** (900 mg, 2.12 mmol) を塩化メチレン (50 ml) に溶解し、BaMnO₄ (5.4 g, 21.2 mmol) を加え室温で13時間攪拌した。反応液にセライトを加え、5分間攪拌した後セライト濾過しセライトをクロロホルムで洗浄した。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ3.2x15 cm, 0~4% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**85** (726 mg, 81%) を黄色結晶として得た。分析用試料としてエタノールより再結晶し淡黄色結晶を得た。

mp 78-80 °C

EI-MS : m/z 423 (M⁺)

¹H NMR (CDCl₃) δ; 9.72 (d, 1H, CHO, $J = 7.6$ Hz), 8.38 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 16.8$ Hz), 7.92 (s, 1 H, H-2), 7.17 (br s, 1 H, NHa), 6.70 (dd, 1 H, vinyl proton, $J = 7.6, 16.8$ Hz), 5.95 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.9$ Hz), 5.67 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.9$, $J_{2',3'} = 5.4$ Hz), 5.47~5.38 (m, 2 H, H-3', NHb), 4.47~4.33 (m, 3 H, H-4', 5'a, 5'b), 2.15, 2.14, 2.12 (each s, each 3 H, acetyl).

Anal. Calcd for C₁₈H₂₁N₃O₉: C, 51.06; H, 5.00; N, 9.93. Found: C, 50.86; H, 5.15; N, 9.64.

(E)-5-(2-Formylvinyl)-1-β-D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (86).

化合物**85** (600 mg, 1.42 mmol) をメタノール (20 ml) に溶解し1N NaOMe / MeOH (50 μl) を加え室温で30分間攪拌した。1N HCl (50 ml) を加え中和した後、溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (φ2.3x14 (3) cm, 5~25% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**86** (322mg, 76%) を淡黄色あわ状物質として得た。分析用試料としてHPLC (YMC-D-ODS-5, 20% MeOH-H₂O, 8 ml / min, room temperature, retention time; 16 min) で再精製し、白色あわ状物質を得た。

EI-MS : m/z 297 (M⁺)

UV : λ_{max} (H₂O) 314 nm (ε 15,600); λ_{max} (0.5 N HCl) 285 nm (ε 10,500); λ_{max} (0.5 N NaOH) 316 nm (ε 12,800)

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ; 9.64 (d, 1 H, CHO, $J = 7.7$ Hz), 8.37 (s, 1 H, H-2), 8.25 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 16.5$ Hz), 7.69, 7.46 (each br s, each 1 H, amido proton), 6.97 (dd, 1 H, vinyl proton, $J = 7.7, 16.5$ Hz), 5.73 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.0$ Hz), 5.64 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH,2} = 6.0$ Hz), 5.31 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH,3'} = 5.5$ Hz), 5.13 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH,5'a} = J_{5'-OH,5'b} = 5.0$ Hz), 4.32 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.0$, $J_{2',2'-OH} = 6.0$, $J_{2',3'} = 5.5$ Hz), 4.10 (dt, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = J_{3',3'-OH} = 5.5$, $J_{3',4'} = 2.1$ Hz), 3.98~3.96 (m, 1 H, H-4'), 3.70~3.54 (m, 2 H, H-5'a, b).

Anal. Calcd for C₁₂H₁₅N₃O₆•1/4H₂O: C, 47.75; H, 5.18; N, 13.92. Found: C, 47.90; H, 5.21; N, 13.65.

6-Hydroxy-1-β-D-ribofuranosyl-5,6-dihydroimidazo[4,5-*c*]azepin-4(1H)-one (73).

化合物**86** (80 mg, 0.27 mmol) をメタノール (200 ml) に溶解し脱気後アルゴンガスを通じ、パイレックスフィルターを付けた高圧水銀灯 (100 W) で30分間照射を行なった。溶媒を留去し、残渣をHPLC (YMC-D-ODS-5, 10% MeOH-H₂O, 8 ml / min, room temperature, retention time; 10min, 13min) で精製し化合物**73** (45 mg, 56%) を異性体の混合物として得た。得られた無色油状物質をエタノール共沸し粉末化した。

FAB-MS : m/z 298 ($M^+ + 1$)

UV : $\lambda_{\max}$ (H₂O) 278 nm (ϵ 5,600); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 268 nm (ϵ 5,400)

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 8.09 (s, 1H, H-2), 7.99 (d, 0.5 H, NH of isomer A, $J = 5.5$ Hz), 7.91 (d, 0.5 H, NH of isomer B, $J = 4.4$ Hz), 6.76 (d, 1 H, H-8, $J = 10.4$ Hz), 6.31 (d, 0.5 H, 6-OH of isomer A, $J = 5.5$ Hz), 6.24~6.18 (m, 1.5 H, H-7, 6-OH of isomer B), 5.61 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.5$ Hz), 5.52 (br s, 1 H, 2'-OH), 5.20 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH,3'} = 4.4$ Hz), 5.08 (br s, 1 H, 5'-OH), 4.98~4.94 (m, 1 H, H-6), 4.22~4.18 (m, 1 H, H-2'), 4.06~4.05 (m, 1 H, H-3), 3.94~3.91 (m, 1 H, H-4'), 3.67~3.53 (m, 2 H, H-5'a, b).

Anal. Calcd for C₁₂H₁₅N₃O₆: C, 48.48; H, 5.09; N, 14.14. Found: C, 48.36; H, 5.20; N, 13.85.

(E)-5-(2-Cyanovinyl)-1-(2,3,5-tri-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (89).

アクリル酸メチルのかわりにアクリロニトリルを用い化合物**52**の合成と同様の方法で反応を行なった。シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し化合物**89** (247 mg, 59%) を油状物質として得た。分析用試料としてクロロホルム-エーテルより結晶化し白色結晶を得た。

mp 90-93 °C

EI-MS : m/z 420 (M^+)

IR : 2200 cm⁻¹ (ν_{CN})

¹H NMR (CDCl₃) δ : 7.82 (s, 1 H, H-2), 7.62 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 16.6$ Hz), 7.21 (br s, 1 H, NHa), 7.12 (d, 1 H vinyl proton, $J = 16.6$ Hz), 5.85 (d, 1 H H-1', $J_{1',2'} = 6.4$ Hz), 5.62~5.37 (m, 3 H, H-2', 3', NHb), 4.51~4.34 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.19, 2.14, 2.12 (each s, each 3 H, acetyl).

Anal. Calcd for C₁₈H₂₀N₄O₈: C, 51.43; H, 4.80; N, 13.33. Found: C, 51.54; H, 4.78; N, 13.15.

(E)-5-(2-Carbamoylvinyl)-1-(2,3,5-tri-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (90).

アクリル酸メチルのかわりにアクリルアミドを用い同様に反応を行なった。シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し化合物**90** (337 mg, 77%) をあわ状物質として得た。分析用試料としてアセトン-エーテルより結晶化し淡黄色結晶を得た。

mp 168-170 °C

EI-MS : m/z 438 (M^+)

¹H NMR (CDCl₃+D₂O) δ : 7.80 (s, 1 H, H-2), 7.61 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 16.8$ Hz), 7.59 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 16.8$ Hz), 6.02 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.9$ Hz), 5.53 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.9$, $J_{2',3'} = 5.6$ Hz), 5.42 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.6$, $J_{3',4'} = 3.3$ Hz), 4.45~4.34 (m, 3

H, H-4', 5'a, b), 2.17, 2.14, 2.11 (each s, each 3 H, acetyl).

Anal. Calcd for $C_{18}H_{22}N_4O_9$: C, 49.31; H, 5.06; N, 12.78. Found: C, 49.38; H, 5.02; N, 12.62.

(E)-5-(2-Carbomethoxyvinyl)-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (94).

化合物**52** (200 mg, 0.44 mmol) をメタノール (15 ml) に溶解しトリエチルアミン (0.5 ml) を加え室温にて4.5時間攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 9$ (3.5) cm, 5~20% EtOH in $CHCl_3$) で精製し化合物**94** (119 mg, 82%) を淡黄色結晶として得た。分析用試料としてエタノール-ヘキサンより再結晶し白色結晶を得た。

mp 169-170 °C

EI-MS: m/z 327 (M^+)

UV: λ_{max} (H_2O) 301 nm (ϵ 14,200); λ_{max} (0.5 N HCl) 275 nm (ϵ 9,900); λ_{max} (0.5 N NaOH) 290 nm (ϵ 12,600)

1H NMR ($DMSO-d_6$) δ : 8.31 (s, 1 H, H-2), 8.24 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 16.6$ Hz), 7.59, 7.38 (each br s, each 1 H, NH_2), 6.73 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 16.6$ Hz), 5.67 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.4$ Hz), 5.60 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH,2'} = 5.9$ Hz), 5.32 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH,3'} = 5.1$ Hz), 5.09 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH,5'a} = J_{5'-OH,5'b} = 5.5$ Hz), 4.36 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.1$, $J_{2',2'-OH} = 5.9$, $J_{2',3'} = 5.5$ Hz), 4.09 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.5$, $J_{3',3'-OH} = 5.1$, $J_{3',4'} = 4.8$ Hz), 3.98~3.94 (m, 1 H, H-4'), 3.74 (s, 3 H, methyl), 3.69~3.53 (m, 2 H, H-5'a, b).

Anal. Calcd for $C_{13}H_{17}N_3O_7$: C, 47.71; H, 5.24; N, 12.84. Found: C, 47.44; H, 5.32; N, 12.54.

(E)-5-(2-Cyanovinyl)-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (95).

上記と同様の方法で化合物**89** (200 mg, 0.48 mmol) をメタノール (15 ml) に溶解しトリエチルアミン (0.5 ml) を加え室温にて3.5時間攪拌した。析出した白色沈殿を濾取し、濾液を濃縮し残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 11$ (5) cm, 5~30% EtOH in $CHCl_3$) で精製し化合物**95** (計113 mg, 81%) を白色結晶として得た。分析用試料としてエタノール-水より再結晶し白色結晶を得た。

mp 225-226 °C

EI-MS: m/z 294 (M^+)

IR: 2230 cm^{-1} (ν_{CN})

UV: λ_{max} (H_2O) 299 nm (ϵ 13,300); λ_{max} (0.5 N HCl) 277 nm (ϵ 8,900); λ_{max} (0.5 N NaOH) 301 nm (ϵ 13,400)

1H NMR ($DMSO-d_6$) δ : 8.30 (s, 1 H, H-2), 7.93 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 16.5$ Hz), 7.68, 7.47 (each br s, each 1 H, NH_2), 6.88 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 16.5$ Hz), 5.73 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.1$ Hz), 5.68 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH,2'} = 6.2$ Hz), 5.26 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH,3'} = 5.5$ Hz), 5.13 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH,5'a} = J_{5'-OH,5'b} = 4.9$ Hz), 4.23 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.1$, $J_{2',2'-OH} = 6.2$, $J_{2',3'} = 5.5$ Hz), 4.06 (dt, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = J_{3',3'-OH} = 5.5$, $J_{3',4'} = 4.8$ Hz), 4.00~3.96 (m, 1 H, H-4'), 3.70~3.55 (m, 2 H, H-5'a, b).

Anal. Calcd for $C_{12}H_{14}N_4O_5$: C, 48.94; H, 4.80; N, 19.04. Found: C, 48.93; H, 4.82; N, 18.86.

(E)-5-(2-Carbamoylviny)-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (96).

化合物**90** (210 mg, 0.48 mmol) をメタノール性アンモニア (10 ml) に溶解し室温にて一晚静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 8$ (3) cm, 5~40% EtOH in $CHCl_3$) で精製し化合物**96** (138 mg, 92%) を淡黄色結晶として得た。分析用試料としてエタノールより再結晶し白色結晶を得た。

mp 213-216 °C

EI-MS: m/z 312 (M^+)

UV: λ_{max} (H_2O) 297 nm (ϵ 13,800); λ_{max} (0.5 N HCl) 272 nm (ϵ 9,700); λ_{max} (0.5 N NaOH) 298 nm (ϵ 14,200)

1H NMR ($DMSO-d_6$) δ : 8.21 (s, 1 H, H-2), 7.87 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 16.5$ Hz), 7.64, 7.48, 7.27, 7.17 (each br s, each 1 H, NH_2), 6.77 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 16.5$ Hz), 5.60 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.9$ Hz), 5.53 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH,2'} = 6.6$ Hz), 5.29 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH,3'} = 5.1$ Hz), 5.10 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH,5'a} = J_{5'-OH,5'b} = 5.3$ Hz), 4.36 (dt, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = J_{2',3'} = 5.9$, $J_{2',2'-OH} = 6.6$ Hz), 4.08 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.9$, $J_{3',3'-OH} = 6.6$, $J_{3',4'} = 4.8$ Hz), 3.99~3.96 (m, 1 H, H-4'), 3.68~3.51 (m, 2 H, H-5'a, b).

Anal. Calcd for $C_{12}H_{16}N_4O_6 \cdot 1/4H_2O$: C, 45.50; H, 5.25; N, 17.69. Found: C, 45.71; H, 5.17; N, 17.75.

(Z)-5-(2-Carbomethoxyvinyl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (91).

化合物**52** (300 mg, 0.66 mmol) をアセトニトリル (300 ml) に溶解し脱気後アルゴンガスを通じ、パイレックスフィルターを付けた高圧水銀灯 (100 W) で26時間照射を行なった。溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 11$ (3) cm, ヘキサン:酢酸エチル = 1:1~0:1) で精製し化合物**91** (240 mg, 80%, 油状物質) と**52** (59 mg, 20%) を得た。

EI-MS: m/z 453 (M^+)

1H NMR ($CDCl_3$) δ : 7.78 (s, 1 H, H-2), 7.09 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 12.0$ Hz), 6.98 (br s, 1 H, NH_a), 6.29 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 12.0$ Hz), 5.73 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.4$ Hz), 5.50~5.38 (m, 3 H, H-2', 3', NH_b), 4.35 (br s, 3 H, H-4', 5'a, b), 3.64 (s, 3 H, methyl), 2.15, 2.11, 2.08 (each s, each 3 H, acetyl).

(Z)-5-(2-Cyanovinyl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (92).

上記と同様の方法で、化合物**89** (300 mg, 0.71 mmol) を光照射した。溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 13$ (3.5) cm, ヘキサン:酢酸エチル = 1:1~0:1) で精製し化合物**92** (266 mg, 89%, 油状物質) と**89** (33 mg, 11%) を得た。

EI-MS : m/z 420 (M^+)

IR : 2200 cm^{-1} (ν_{CN})

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.86 (s, 1 H, H-2), 7.44 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 11.7\text{ Hz}$), 7.05 (br s, 1 H, NHa), 5.88 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.9\text{ Hz}$), 5.84 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 11.7\text{ Hz}$), 5.53~5.32 (m, 3 H, H-2', 3', NHb), 4.45~4.34 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.15, 2.14, 2.11 (each s, each 3 H, acetyl).

(Z)-5-(2-Carbamoylvinyl)-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (93).

上記と同様の方法で、化合物**90** (1.01 g, 2.31 mmol) を光照射した。溶媒を留去し、残渣を少量のエタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.3 \times 10$ (4) cm, 5~20% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**93** (564 mg, 54%, あわ状物質) と化合物**90** (417 mg, 41%) を得た。分析用試料としてエタノールより結晶化し白色結晶を得た。

mp 173-174 °C

EI-MS : m/z 438 (M^+)

$^1\text{H NMR}$ ($\text{CDCl}_3 + \text{D}_2\text{O}$) δ : 7.77 (s, 1 H, H-2), 6.70 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 12.2\text{ Hz}$), 6.41 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 12.2\text{ Hz}$), 5.77 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.9\text{ Hz}$), 5.53~5.38 (m, 2 H, H-2', 3'), 4.35 (br s, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.15, 2.13, 2.10 (each s, each 3 H, acetyl).

Anal. Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_9$: C, 49.31; H, 5.06; N, 12.78. Found: C, 49.28; H, 5.04; N, 12.90.

(Z)-5-(2-Carbomethoxyvinyl)-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (97) and 1- β -D-Ribofuranosyl-1,5-dihydroimidazo[4,5-*c*]azepin-4,6-dione (75).

化合物**91** (530 mg, 1.17 mmol) をメタノール (30 ml) に溶解しトリエチルアミン (1 ml) を加え室温にて3時間攪拌した。溶媒を留去し残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 7$ (5) cm, 5~30% EtOH in CHCl_3) で精製し、さらにHPLC (YMC-D-ODS-5, 10% MeOH- H_2O , 8 ml/min, room temperature, retention time; 20min, 34min) で分取した。化合物**97** (152 mg, 40%) を白色あわ状物質、化合物**75** (101 mg, 29%) を白色結晶として得た。化合物**75**はメタノール-水より再結晶した。

Physical data for **97**

EI-MS : m/z 296 ($M^+ - \text{OMe}$)

UV : λ_{max} (H_2O) 296 nm (ϵ 3,900); λ_{max} (0.5 N NaOH) 305 nm (sh) (ϵ 5,500)

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.06 (s, 1 H, H-2), 7.29, 7.05 (each br s, each 1 H, NH_2), 7.03 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 12.1\text{ Hz}$), 6.20 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 12.1\text{ Hz}$), 5.40 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.9\text{ Hz}$), 5.38 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-\text{OH}, 2'} = 5.8\text{ Hz}$), 5.15 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-\text{OH}, 3'} = 5.1\text{ Hz}$), 5.04 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-\text{OH}, 5'a} = J_{5'-\text{OH}, 5'b} = 5.3\text{ Hz}$), 4.13~4.01 (m, 2 H, H-2', 3'), 3.85 (dt, 1 H, H-4', $J = 3.7, 4.0\text{ Hz}$), 3.69~3.49 (m, 2 H, H-5'a, b), 3.54 (s, 3 H, methyl).

Anal. Calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_7$: C, 47.71; H, 5.24; N, 12.84. Found: C, 47.72; H, 5.30; N, 12.73.

Physical data for **75**

mp >280 °C (colored at 230 °C)

FAB-MS : m/z 296 ($M^+ + 1$)

UV : $\lambda_{\max}$ (H_2O) 316 nm (ϵ 6,400), 235 nm (ϵ 12,000) ; $\lambda_{\max}$ (0.5 N HCl) 305 nm (ϵ 4,700)

1H NMR ($DMSO-d_6$) δ : 11.21 (br s, 1 H, NH), 8.38 (s, 1 H, H-2), 7.54, (d, 1 H, H-8, $J_{8,7} = 12.6$ Hz), 6.34 (d, 1 H, H-7, $J_{7,8} = 12.6$ Hz), 5.85 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.5$ Hz), 5.63 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH,2'} = 6.0$ Hz), 5.27 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH,3'} = 4.9$ Hz), 5.15 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH,5'a} = J_{5'-OH,5'b} = 5.2$ Hz), 4.22 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.5$, $J_{2',2'-OH} = 6.0$, $J_{2',3'} = 4.9$ Hz), 4.08 (dt, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = J_{3',3'-OH} = 4.9$, $J_{3',4'} = 3.3$ Hz), 4.00~3.99 (m, 1 H, H-4'), 3.69~3.54 (m, 2 H, H-5'a, b).

Anal. Calcd for $C_{12}H_{13}N_3O_6 \cdot 1/4H_2O$: C, 48.08; H, 4.54; N, 14.02. Found: C, 48.21; H, 4.47; N, 13.97.

(Z)-5-(2-Cyanovinyl)-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (99).

上記と同様の方法で化合物**92** (490 mg, 1.17 mmol) をメタノール (20 ml) に溶解しトリエチルアミン (1 ml) を加え室温にて3.5時間攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 12$ (4) cm, 5~40% EtOH in $CHCl_3$) で精製し化合物**99** (260 mg, 76%) を淡黄色のあわ状物質として得た。分析用試料としてHPLC (YMC-D-ODS-5, 20% MeOH- H_2O , 8 ml / min, room temperature, retention time; 8min) で再精製し、白色あわ状物質を得た。

EI-MS : m/z 294 (M^+)

IR : 2230 cm^{-1} (ν_{CN})

UV : $\lambda_{\max}$ (H_2O) 291 nm (ϵ 5,200); $\lambda_{\max}$ (0.5 N HCl) 265 nm (ϵ 4,800); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 287 nm (ϵ 5,600)

1H NMR ($DMSO-d_6$) δ : 8.16 (s, 1 H, H-2), 7.40 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 11.7$ Hz), 7.38, 7.21 (each br s, each 1 H, NH_2), 6.15 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 11.7$ Hz), 5.52 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 6.2$ Hz), 5.51 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH,2'} = 5.5$ Hz), 5.21 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH,3'} = 5.1$ Hz), 5.09 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH,5'a} = J_{5'-OH,5'b} = 5.3$ Hz), 4.13 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 6.2$, $J_{2',2'-OH} = 5.5$, $J_{2',3'} = 5.1$ Hz), 4.06~3.89 (m, 2 H, H-3', 4'), 3.68~3.51 (m, 2 H, H-5'a, b).

Anal. Calcd for $C_{12}H_{14}N_4O_5 \cdot 1/2H_2O$: C, 47.56; H, 4.99; N, 18.49. Found: C, 47.60; H, 4.84; N, 18.49.

(Z)-5-(2-Carbamoylvinyl)-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (88).

化合物**93** (350 mg, 0.80 mmol) をメタノール性アンモニア (10 ml) に溶解し室温にて3時間静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 5$ (3) cm, 5~40% EtOH in $CHCl_3$) で精製し化合物**88** (230 mg, 92%) を白色結晶として得た。分析用試料としてエタノールより再結晶し白色結晶を得た。

mp 180-181 °C

EI-MS : m/z 312 (M^+)

UV : $\lambda_{\max}$ (H_2O) 285 nm (sh) (ϵ 3,200); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 285 nm (sh) (ϵ 3,700)

1H NMR ($DMSO-d_6$) δ : 8.02 (s, 1 H, H-2), 7.66, 7.27, 7.09, 7.05 (each br s, each 1 H, amido

proton), 6.73, 6.20 (each d, each 1 H, vinyl proton, $J = 12.1$ Hz), 5.45 (d, 1 H, H-1', $J_{1', 2'} = 3.3$ Hz), 5.27 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH, 2'} = 4.8$ Hz), 5.08~5.01 (m, 2 H, 3'-OH, 5'-OH), 4.08~3.99 (m, 2 H, H-2', 3'), 3.84~3.82 (m, 1 H, H-4'), 3.70~3.49 (m, 2 H, H-5'a, b).

Anal. Calcd for $C_{12}H_{16}N_4O_6$: C, 46.15; H, 5.16; N, 17.94. Found: C, 46.12; H, 5.18; N, 17.82.

6-Amino-1- β -D-ribofuranosylimidazo[4,5-c]azepin-4(1H)-one (76).

化合物99 (150 mg, 0.51 mmol) の5% $NaHCO_3$ 水溶液 (9 ml) を80 °Cで1.5時間加熱攪拌した。反応液に1N HClを加え中和した後溶媒を留去し残渣をHPLC (YMC-D-ODS-5, 5% MeOH- H_2O , 9 ml/min, room temperature, retention time; 24 min) で精製し化合物76 (50 mg, 33%) を白色結晶として得た。分析用試料として水より再結晶し白色結晶を得た。

mp >200 °C

FAB-MS : m/z 295 ($M^+ + 1$)

UV : λ_{max} (H_2O) 324 nm (ϵ 5,600), 240 nm (ϵ 22,700); λ_{max} (0.5 N HCl) 331 nm (ϵ 5,000), 257 nm (ϵ 10,600); λ_{max} (0.5 N NaOH) 316 nm (ϵ 4,700)

1H NMR ($DMSO-d_6$) δ : 8.27 (s, 1 H, H-2), 7.51 (d, 1 H, H-8, $J = 11.7$ Hz), 7.49 (br s, 2 H, NH_2), 6.45 (d, 1 H, H-7, $J = 11.7$ Hz), 5.77 (d, 1 H, H-1', $J_{1', 2'} = 5.9$ Hz), 5.55 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH, 2'} = 5.9$ Hz), 5.23 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH, 3'} = 4.8$ Hz), 5.12 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH, 5'a} = J_{5'-OH, 5'b} = 5.1$ Hz), 4.20 (dt, 1 H, H-2', $J_{2', 1'} = J_{2', 2'-OH} = 5.9$, $J_{2', 3'} = 5.1$ Hz), 4.09 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3', 2'} = 5.1$, $J_{3', 3'-OH} = 4.8$, $J_{3', 4'} = 4.4$ Hz), 3.96 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4', 3'} = 4.4$, $J_{4', 5'a} = 3.3$, $J_{4', 5'b} = 3.7$ Hz), 3.64 (ddd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a, 4'} = 3.3$, $J_{5'a, 5'b} = 12.1$, $J_{5'a, 5'-OH} = 5.1$ Hz), 3.57 (ddd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b, 4'} = 3.7$, $J_{5'b, 5'a} = 12.1$, $J_{5'b, 5'-OH} = 5.1$ Hz).

Anal. Calcd for $C_{12}H_{14}N_4O_5 \cdot 1/4H_2O$: C, 48.28; H, 4.81; N, 18.77. Found: C, 48.15; H, 4.97; N, 18.58.

6-Hydroxy-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)-5,6-dihydroimidazo[4,5-c]-azepin-4(1H)-one (100).

化合物85 (423 mg, 1.00 mmol) をメタノール (350 ml) に溶解し脱気後アルゴンガスを通じ、パイレックスフィルターを付けた高圧水銀灯 (100 W) で40分間照射を行なった。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 3.2 \times 7$ cm, 0~16% EtOH in $CHCl_3$) で精製し化合物100 (366 mg, 87%) を淡黄色油状物質として得た。

FAB-MS : m/z 424 ($M^+ + 1$)

1H NMR ($CDCl_3 + D_2O$) δ : 7.88 (s, 0.5 H, H-2 of isomer A), 7.87 (s, 0.5 H, H-2 of isomer B), 6.70 (d, 0.5 H, H-1' of isomer A or B, $J_{1', 2'} = 6.6$ Hz), 6.66 (d, 0.5 H, H-1' of isomer A or B, $J_{1', 2'} = 6.2$ Hz), 6.38~6.31 (m, 1 H, H-8), 5.87~5.84 (m, 1 H, H-2'), 5.51~5.37 (m, 3 H, H-6, 7, 3'), 4.45~4.32 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.15, 2.14, 2.10 (each s, each 3 H, acetyl).

6-Acetoxy-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)-5,6-dihydroimidazo[4,5-c]-azepin-4(1H)-one (101).

化合物100 (270 mg, 0.64 mmol) をピリジン (10 ml) に溶解し無水酢酸 (0.3 ml, 3.2 mmol) を加え室温で24時間攪拌した。反応液にエタノールを加え反応を停止した後、溶媒を留去し、残渣をクロロホルムに溶解し飽和重曹水、水、飽和食塩水の順に洗浄し有

機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒を留去し、残渣をトルエン共沸した後シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 5$ cm, 0~4% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**101** (211 mg, 71%) を黄色油状物質として得た。

FAB-MS: m/z 424 ($\text{M}^+ - \text{OAc} + 1$)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.92 (s, 0.4 H, H-2 of isomer A), 7.86 (s, 0.6 H, H-2 of isomer B), 7.01 (d, 0.4 H, NH of isomer A, $J = 5.0$ Hz), 6.79 (d, 0.6 H, NH of isomer B, $J = 4.4$ Hz), 6.75 (d, 0.6 H, H-1' of isomer B, $J_{1',2'} = 8.8$ Hz), 6.71 (d, 0.5 H, H-1' of isomer A, $J_{1',2'} = 8.2$ Hz), 6.27 (dd, 0.6 H, H-8 of isomer B, $J = 1.7, 7.2$ Hz), 6.23 (dd, 0.4 H, H-8 of isomer A, $J = 1.1, 6.6$ Hz), 5.86 (m, 1 H, H-2'), 5.50~5.36 (m, 2 H, H-7, 3'), 4.95 (m, 1 H, H-6), 4.48~4.36 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 2.15, 2.14, 2.11, 2.10 (each s, each 3 H, acetyl).

1-(2,3,5-Tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)-5,6-dihydroimidazo[4,5-*c*]azepin-4(1*H*)-one (102) and 1-(2,3,5-Tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)-5,8-dihydroimidazo[4,5-*c*]azepin-4(1*H*)-one (103).

化合物**101** (220 mg, 0.47 mmol) をアセトニトリル (8 ml) に溶解しトリブチルホスフィン (22 μl , 0.09 mmol)、トリエチルアミン (0.13 ml, 0.94 mmol)、ギ酸 (36 μl , 0.94 mmol) および酢酸パラジウム (12 mg, 10 mol%) を加えアルゴン雰囲気下 90 $^\circ\text{C}$ で1時間加熱還流を行なった。反応液をセライト濾過後、溶媒を留去し残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 13$ cm, 0~8% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**102** (40 mg, 20%) と化合物**103** (120 mg, 62%) をそれぞれ得た。

Physical data for **102**

FAB-MS: m/z 408 ($\text{M}^+ + 1$)

^1H -NMR ($\text{CDCl}_3 + \text{D}_2\text{O}$) δ : 7.91 (s, 1 H, H-2), 6.80 (d, 1 H, H-8, $J = 10.4$ Hz), 6.27 (dt, 1 H, H-7, $J = 6.0, 10.4$ Hz), 5.84 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.5$ Hz), 5.47~5.39 (m, 2 H, H-2', 3'), 4.45~4.31 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 3.69 (t, 2 H, H-6, $J = 6.0$ Hz), 2.16, 2.13, 2.10 (each s, each 3 H, acetyl).

Physical data for **103**

FAB-MS: m/z 408 ($\text{M}^+ + 1$)

^1H -NMR (CDCl_3) δ : 7.81 (s, 1 H, H-2), 7.69 (br s, 1 H, NH, $J = 6.1$ Hz), 5.96 (dd, 1 H, H-6, $J = 6.1, 9.3$ Hz), 5.71 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.9$ Hz), 5.45 (dd, 1 H, H-1', $J_{2',1'} = 4.9, J_{2',3'} = 5.5$ Hz), 5.39 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.5, J_{3',4'} = 4.4$ Hz), 4.92 (dt, 1 H, H-7, $J = 2.2, 9.3$ Hz), 4.44~4.38 (m, 3 H, H-4', 5'a, b), 4.36 (d, 2 H, H-8, $J = 2.2$ Hz), 2.15, 2.14, 2.12 (each s, each 3 H, acetyl).

1- β -D-Ribofuranosyl-5,6-dihydroimidazo[4,5-*c*]azepin-4(1*H*)-one (77)

化合物**102** (100 mg, 0.25 mmol) をメタノール性アンモニア (5 ml) に溶解し室温で2時間静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のMeOHに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 9$ (3.5) cm, 5~40% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**77** (53 mg, 77%) を得た。分析用試料としてHPLC (YMC-D-ODS-5, 10% MeOH- H_2O , 9 ml/min, room temperature, retention time; 14 min) で再精製を行ない白色固体として得た。

FAB-MS : m/z 282 ($M^+ + 1$)

UV : $\lambda_{\max}$ (H_2O) 274 nm (ϵ 3,200); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 273 nm (ϵ 3,100)

1H NMR ($DMSO-d_6 + D_2O$) δ : 8.10 (s, 1 H, H-2), 6.89 (d, 1 H, H-8, $J = 10.4$ Hz), 6.24 (dt, 1 H, H-7, $J = 6.6, 10.4$ Hz), 5.59 (d, 1 H H-1', $J_{1', 2'} = 6.0$ Hz), 4.19 (dd, 1 H, H-2', $J_{2', 1'} = 6.0$, $J_{2', 3'} = 5.5$ Hz), 4.04 (dd, 1 H, H-3', $J_{3', 2'} = 5.5$, $J_{3', 4'} = 3.3$ Hz), 3.92 (dt, 1 H, H-4', $J_{4', 3'} = J_{4', 5'b} = 3.3$, $J_{4', 5'a} = 3.8$ Hz), 3.63 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a, 4'} = 3.8$, $J_{5'a, 5'b} = 12.1$ Hz), 3.55 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b, 4'} = 3.3$, $J_{5'b, 5'a} = 12.1$ Hz).

Exact FAB-MS : m/z Calcd for $C_{11}H_{13}N_3O_4$ ($M^+ + 1$): 282.1090. Found: 282.1116.

1- β -D-Ribofuranosyl-5,8-dihydroimidazo[4,5-*c*]azepin-4(1*H*)-one (78).

化合物103 (100 mg, 0.25 mmol) をメタノール性アンモニア (5 ml) に溶解し室温で2時間静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のMeOHに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 9$ (3.5) cm, 5~40% EtOH in $CHCl_3$) で精製し化合物78 (42 mg, 61%) を得た。分析用試料としてHPLC (YMC-D-ODS-5, 10% MeOH- H_2O , 9 ml/min, room temperature, retention time; 20 min) で再精製を行ない白色固体として得た。

FAB-MS : m/z 282 ($M^+ + 1$)

UV : $\lambda_{\max}$ (H_2O) 241 nm (ϵ 8,300); $\lambda_{\max}$ (0.5 N HCl) 282 nm (ϵ 1,800), 233 nm (ϵ 7,700); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 242 nm (ϵ 8,900)

1H NMR ($DMSO-d_6$) δ : 8.87 (br d, 1 H, H-5), 7.99 (s, 1 H, H-2), 5.82 (dd, 1 H, H-6, $J = 6.6, 9.5$ Hz), 5.50 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH, 2'} = 5.9$ Hz), 5.47 (d, 1 H H-1', $J_{1', 2'} = 5.5$ Hz), 5.20 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH, 3'} = 4.8$ Hz), 5.05 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH, 5'} = 5.3$ Hz), 4.84 (dt, 1 H, H-7, $J = 4.8, 9.5$ Hz), 4.17 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2', 1'} = 5.5$, $J_{2', 2'-OH} = 5.9$, $J_{2', 3'} = 5.1$ Hz), 4.03 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3', 2'} = 5.1$, $J_{3', 3'-OH} = 4.8$, $J_{3', 4'} = 3.7$ Hz), 3.61~3.48 (m, 4 H, H-8, H-5'a, b).

Anal. Calcd for $C_{12}H_{15}N_3O_5 \cdot 1/4H_2O$: C, 50.43; H, 5.47; N, 14.70. Found: C, 50.41; H, 5.49; N, 14.38.

第3章の実験

5-Ethynyl-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (112).

化合物**22j** (534 mg, 2 mmol) をDMF (15 ml) に溶解しTBDMSCl (1.20 g, 8 mmol) とイミダゾール (1.08 g, 16 mmol) を加え室温で攪拌した。22時間後、TBDMSCl (600 mg, 4 mmol) とイミダゾール (540 mg, 8 mmol) を加え更に18時間攪拌した。反応液にエタノールを加え反応を停止し溶媒を留去した。残渣を酢酸エチルに溶解し、水で2回、更に飽和食塩水で洗浄後有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ϕ 3.2x10 (4) cm, ヘキサン:酢酸エチル=3:1~1:1) で精製し化合物**112** (1.08 g, 89%) を黄色あわ状物質として得た。

EI-MS : m/z 610 (M^+ +1)

¹H NMR (CDCl₃) δ : 7.93 (s, 1 H, H-2), 6.92 (br s, 1 H, NHa), 5.84 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.1$ Hz), 5.47 (br s, 1 H, NHb), 4.28 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.1$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.21 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$, $J_{3',4'} = 3.7$ Hz), 4.09 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 3.7$, $J_{4',5'a} = 2.9$, $J_{4',5'b} = 1.8$ Hz), 3.93 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.9$, $J_{5'a,5'b} = 11.4$ Hz), 3.78 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 1.8$, $J_{5'b,5'a} = 11.4$ Hz), 3.76 (s, 1 H, acetylene proton), 0.96, 0.92, 0.85 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.09 (s, 6 H, methyl x2), 0.14, 0.13, -0.01, -0.15 (each s, each 3 H, methyl).

1-(2,3,5-Tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (115) and 6-hydroxy-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)-6,7-dihydroimidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (116).

化合物**112** (266 mg, 0.41 mmol) をエタノール (10 ml) に溶解し50% ジメチルアミン水溶液 (5 ml) を加え、スチール封管中80 °Cで4.5時間加熱した。原料消失を確認後、溶媒を留去し残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ϕ 2.7x8 cm, 0~8% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**115** (67 mg, 27%) を黄色結晶として、また化合物**116** (141 mg, 55%) を淡褐色油状物質として得た。化合物**115**は酢酸エチル-ヘキサンより再結晶し白色結晶を得た。

Physical data for **115**

mp 251-252 °C

EI-MS : m/z 609 (M^+)

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 11.23 (d, 1 H, NH, $J = 6.6$ Hz), 8.19 (s, 1 H, H-2), 7.06 (dd, 1 H, H-6, $J = 6.6$, $J = 7.1$ Hz), 6.71 (d, 1 H, H-7, $J = 7.1$ Hz), 5.75 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.7$ Hz), 4.36 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 7.7$, $J_{2',3'} = 4.9$ Hz), 4.15 (d, 1 H, H-3', $J_{3',4'} = 4.9$ Hz), 3.89 (br s, 1 H, H-4'), 3.91-3.78 (m, 2 H, H-5'a, b), 0.91 (s, 18 H, *tert*-butyl x 2), 0.70 (s, 9 H, *tert*-butyl), 0.12, 0.11, 0.10, 0.09, -0.16, -0.57 (each s, each 3 H, methyl).

Anal. Calcd for C₂₉H₅₅N₃O₅Si₃: C, 57.10; H, 9.09; N, 6.89. Found: C, 56.83; H, 8.85; N, 6.80.

Physical data for **116**

FAB-MS : m/z 627 (M^+ +1)

¹H NMR (CDCl₃) δ : 7.99 (br s, 1 H, NH), 7.80, 7.79 (each s, 1 H, H-2), 5.80 (br s, 1 H, OH), 5.49 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.0$ Hz), 5.41 (br s, 1 H, H-6), 4.26-4.13 (m, 2 H, H-2', 3'), 4.06 (br s, 1 H, H-4'), 3.91-3.75 (m, 2 H, H-5'a, b), 3.16 (br s, 2 H, H-7), 0.96-0.75 (m, 27 H, *tert*-butyl x 3), 0.16~-0.30 (m, 18 H, methyl x 6).

化合物**116**から化合物**115**への変換

化合物**116** (64 mg, 0.10 mmol) をTHF (3 ml) と50%酢酸水溶液 (1 ml) の混合溶媒に溶解し、室温で1.5時間攪拌した。溶媒を留去し残渣をエタノールで3回共沸を行なった。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.5 \times 5$ cm, 0~6% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**115** (54 mg, 87%) を白色結晶として得た。

1- β -D-Ribofuranosylimidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (104).

化合物**22j** (400 mg, 1.50 mmol) をエタノール (40 ml) に懸濁し50%ジメチルアミン水溶液 (15 ml) を加え、スチール封管中80 °Cで5.5時間加熱した。原料消失を確認後、溶媒を留去し残渣にエタノール (15 ml) と50%酢酸水溶液 (5 ml) の混合溶媒を加え室温で一晩攪拌した。溶媒を留去し酢酸臭がなくなるまでエタノール共沸後、得られた黄色結晶をエタノール-水より再結晶し化合物**104** (257 mg, 64%) を淡黄色結晶として得た。

mp 218 - 219 °C (lit. 218 - 219 °C)

FAB-MS : m/z 268 ($M^+ + 1$)

UV : λ_{max} (H_2O) 257 nm (ϵ 10,300); λ_{max} (0.5 N HCl) 269 nm (ϵ 9,800); λ_{max} (0.5 N NaOH) 264 nm (ϵ 10,600)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.18 (br s, 1 H, NH), 8.22 (s, 1 H, H-2), 7.14 (br t, 1 H, H-6), 6.69 (d, 1 H, H-7, $J_{7,6} = 7.1$ Hz), 5.71 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 6.6$ Hz), 5.47 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-\text{OH}, 2'} = 6.6$ Hz), 5.19 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-\text{OH}, 3'} = 4.9$ Hz), 5.08 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-\text{OH}, 5'a} = 4.9$ Hz, $J_{5'-\text{OH}, 5'b} = 5.5$ Hz), 4.23 (dt, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = J_{2',2'-\text{OH}} = 6.6$, $J_{2',3'} = 6.0$ Hz), 4.06 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 6.0$, $J_{3',3'-\text{OH}} = 4.9$, $J_{3',4'} = 3.3$ Hz), 3.94 (m, 1 H, H-4'), 3.60 (m, 2H, H-5'a,b).

5-(3-*tert*-Butyldimethylsiloxy-1-propyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (117).

化合物**22a** (157 mg, 0.53 mmol) をDMF (5 ml) に溶解しTBDMSCl (398 mg, 2.65 mmol) とイミダゾール (360 mg, 5.30 mmol) を加え室温で攪拌した。18時間後、TBDMSCl (199 mg, 1.33 mmol) とイミダゾール (180 mg, 2.65 mmol) を加え更に2晩攪拌した。反応液にエタノールを加え反応を停止し溶媒を留去した。残渣を酢酸エチルに溶解し、水で2回、更に飽和食塩水で洗浄後有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 3.2 \times 10$ (4) cm, ヘキサン:酢酸エチル=3:1~1:1) で精製し化合物**117** (288 mg, 72%) を無色油状物質として得た。

EI-MS : m/z 754 ($M^+ + 1$)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.89 (s, 1 H, H-2), 6.89 (br s, 1 H, NHa), 5.82 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.5$ Hz), 5.35 (br s, 1 H, NHb), 4.63, 4.56 (each d, each 1 H, CH_2 , $J = 16.5$ Hz), 4.27 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.5$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.21 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$, $J_{3',4'} = 4.0$ Hz), 4.07 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 4.0$, $J_{4',5'a} = 2.9$, $J_{4',5'b} = 2.2$ Hz), 3.90 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.9$, $J_{5'a,5'b} = 11.7$ Hz), 3.77 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 2.2$, $J_{5'b,5'a} = 11.7$ Hz), 0.95, 0.92, 0.90, 0.84 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.16 (s, 6H, methyl x 2), 0.14, 0.13, 0.10, 0.09, -0.01, -0.03 (each s, each 3 H, methyl).

5-(1-Pentyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)-imidazole-4-carboxamide (118).

化合物 **22c** (200 mg, 0.65 mmol) を DMF (7 ml) に溶解し TBDMSCl (390 mg, 2.60 mmol) と イミダゾール (354 mg, 5.20 mmol) を加え室温で攪拌した。17時間後、TBDMSCl (195 mg, 1.30 mmol) と イミダゾール (177 mg, 2.60 mmol) を加え更に2晩攪拌した。反応液にエタノールを加え反応を停止し溶媒を留去した。残渣を酢酸エチルに溶解し、水で2回、更に飽和食塩水で洗浄後有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(ϕ 2.7x7 (3) cm, ヘキサン:酢酸エチル=3:1~1:1)で精製し化合物 **118** (323 mg, 77%) を白色あわ状物質として得た。

EI-MS : m/z 652 (M^+ +1)

¹H NMR (CDCl₃) δ : 7.82 (s, 1 H, H-2), 6.88 (br s, 1 H, NHa), 5.86 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 6.2$ Hz), 5.35 (br s, 1 H, NHb), 4.28 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 6.2$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.18 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$, $J_{3',4'} = 2.6$ Hz), 4.06 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 2.6$, $J_{4',5'a} = 2.9$, $J_{4',5'b} = 2.2$ Hz), 3.88 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.9$, $J_{5'a,5'b} = 11.4$ Hz), 3.76 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 2.2$, $J_{5'b,5'a} = 11.4$ Hz), 2.48 (t, 2 H, CH₂CH₂CH₃, $J = 7.0$ Hz), 1.66 (dt, 2 H, CH₂CH₂CH₃, $J = 7.0$, 7.3 Hz), 1.07 (t, 3 H, CH₂CH₂CH₃, $J = 7.3$ Hz), 0.95, 0.92, 0.84 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.14, 0.13, 0.10, 0.09, -0.01, -0.06 (each s, each 3 H, methyl).

5-(Phenylethyn-1-yl)-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)-imidazole-4-carboxamide (119).

化合物 **22d** (110 mg, 0.32 mmol) を DMF (5 ml) に溶解し TBDMSCl (192 mg, 1.28 mmol) と イミダゾール (174 mg, 2.56 mmol) を加え室温で攪拌した。36時間後、TBDMSCl (96 mg, 0.64 mmol) と イミダゾール (87 mg, 1.28 mmol) を加え更に1晩攪拌した。反応液にエタノールを加え反応を停止し溶媒を留去した。残渣を酢酸エチルに溶解し、水で2回、更に飽和食塩水で洗浄後有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(ϕ 2.7x7 (3) cm, ヘキサン:酢酸エチル=2:1~1:2)で精製し化合物 **119** (174 mg, 79%) を白色あわ状物質として得た。

EI-MS : m/z 685 (M^+ +1)

¹H NMR (CDCl₃) δ : 7.88 (s, 1 H, H-2), 7.57 (m, 2 H, Ph), 7.35 (m, 3 H, Ph), 6.92 (br s, 1 H, NHa), 5.97 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 6.2$ Hz), 5.40 (br s, 1 H, NHb), 4.33 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 6.2$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.21 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$, $J_{3',4'} = 1.8$ Hz), 4.08 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 1.8$, $J_{4',5'a} = 2.9$, $J_{4',5'b} = 2.2$ Hz), 3.88 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.9$, $J_{5'a,5'b} = 11.4$ Hz), 3.78 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 2.2$, $J_{5'b,5'a} = 11.4$ Hz), 0.95, 0.93, 0.80 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.14, 0.13, 0.12, 0.10, -0.07, -0.23 (each s, each 3 H, methyl).

6-(*tert*-Butyldimethylsiloxyethyl)-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)-imidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (120) and

6-hydroxyethyl-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)-imidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (121).

化合物 **117** (160 mg, 0.21 mmol) をエタノール (5 ml) に溶解し50% ジメチルアミン水溶液 (1 ml) を加え、スチール封管中80℃で9時間加熱した。原料消失を確認後、溶媒を留去

し残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.8 \times 9$ cm, 0~10% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**120** (49 mg, 31%) と化合物**121** (61 mg, 45%) をそれぞれ黄色油状物質として得た。

Physical data for **120**

EI-MS : m/z 753 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ ; 9.62 (br s, 1 H, NH), 8.04 (s, 1 H, H-2), 6.36 (s, 1 H, H-7), 5.70 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.2$ Hz), 4.66 (s, 2 H, CH_2), 4.28 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 7.2$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.19~4.11 (m, 2 H, H-3', 4'), 3.90 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.8$, $J_{5'a,5'b} = 11.5$ Hz), 3.80 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 2.2$, $J_{5'b,5'a} = 11.5$ Hz), 0.96, 0.95, 0.94, 0.75 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.16, 0.14, 0.13, 0.12, 0.11, 0.10, -0.11, -0.47 (each s, each 3 H, methyl).

Physical data for **121**

EI-MS : m/z 639 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ ; 12.30 (br s, 1 H, NH), 8.08 (s, 1 H, H-2), 6.52 (s, 1 H, H-7), 5.73 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.2$ Hz), 5.00 (br s, 1 H, OH), 4.69 (br s, 2 H, CH_2), 4.29 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 7.2$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.20~4.13 (m, 2 H, H-3', 4'), 3.91 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.7$, $J_{5'a,5'b} = 11.5$ Hz), 3.81 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 2.2$, $J_{5'b,5'a} = 11.5$ Hz), 0.96, 0.95, 0.77 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.16, 0.15, 0.12, 0.11, -0.10, -0.47 (each s, each 3 H, methyl).

6-Propyl-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-*c*]-pyridin-4(5*H*)-one (122).

化合物**118** (310 mg, 0.48 mmol) をエタノール (15 ml) に溶解し50% ジメチルアミン水溶液 (5 ml) を加え、スチール封管中120 $^{\circ}\text{C}$ で21時間加熱した。溶媒を留去し、残渣を少量のエタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 8$ (1.5) cm, ヘキサン:酢酸エチル = 2:1 ~ 0:1 $\rightarrow$ 酢酸エチル:アセトン = 4:1) で精製し化合物**122** (44 mg, 14%) を淡黄色油状物質として得た。

EI-MS : m/z 651 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ ; 10.88 (br s, 1 H, NH), 8.03 (s, 1 H, H-2), 6.26 (s, 1 H, H-7), 5.70 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.1$ Hz), 4.30 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 7.1$, $J_{2',3'} = 4.9$ Hz), 4.20 (m, 1 H, H-3'), 4.12 (br s, 1 H, H-4'), 3.92~3.79 (m, 2 H, H-5'a, b), 2.65 (t, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.7$ Hz), 1.74 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.82 (m, 3 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.99, 0.95, 0.77 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.16, 0.15, 0.13, 0.12 (each s, each 3 H, methyl), -0.09 (s, 6 H, methyl x 2).

6-Hydroxymethyl-1- β -D-ribofuranosylimidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (123).

化合物**120** (47 mg, 0.06 mmol) と化合物**121** (59 mg, 0.09 mmol) をTHF (10 ml) に溶解し、氷冷下1M TBAFのTHF溶液 (0.66 ml, 0.66 mmol) を加え室温で30分間攪拌した。溶媒を留去し残渣を水 (3 ml) に溶解しAmberlite XAD-4樹脂カラム ($\phi 2.7 \times 29$ cm, 0-60% MeOH in H_2O) で精製し化合物**123** (40 mg, 87%) を淡黄色ガラス状物質として得た。分析用試料としてエタノール-水より結晶化し白色結晶を得た。

mp 216-218 $^{\circ}\text{C}$

FAB-MS : m/z 298 ($\text{M}^+ + 1$)

UV : λ_{max} (H_2O) 260 nm (ϵ 10,100) 278 nm (sh) (ϵ 7,800); λ_{max} (0.5 N HCl) 272 nm (ϵ

11,700); λ_{max} (0.5 N NaOH) 269 nm (ϵ 9,400)

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.00 (br s, 1 H, NH) 8.21 (s, 1 H, H-2), 7.37 (s, 1 H, H-7), 5.70 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 6.0$ Hz), 5.50 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-\text{OH},2'} = 6.6$ Hz), 5.41 (t, 1 H, CH_2OH , $J = 6.0$ Hz), 5.22 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-\text{OH},3'} = 4.9$ Hz), 5.08 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-\text{OH},5'a} = 5.4$, $J_{5'-\text{OH},5'b} = 4.9$ Hz), 4.35 (d, 2 H, CH_2OH , $J = 6.0$ Hz), 4.27 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 6.0$, $J_{2',2'-\text{OH}} = 6.6$, $J_{2',3'} = 5.5$ Hz), 4.08 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.5$, $J_{3',3'-\text{OH}} = 4.9$, $J_{3',4'} = 3.3$ Hz), 3.96 (m, 1 H, H-4'), 3.61 (m, 2 H, H-5'a, b).

Anal. Calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_6$: C, 48.48; H, 5.09; N, 14.14. Found: C, 48.50; H, 5.04; N, 13.92.

5-(2-Hydroxyiminoethyl)-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (124).

化合物112 (410mg, 0.67 mmol) をエタノール (12 ml) に溶解し50% ジメチルアミン水溶液 (3 ml) を加え、スチール封管中50 $^{\circ}\text{C}$ で8時間加熱した。原料消失を確認後、反応液を氷冷し $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (94 mg, 1.37 mmol) と酢酸 (2 ml) を加え室温で7.5時間攪拌した。反応液にアセトン (5 ml) を加え反応を停止し残渣を酢酸エチルに溶解し、水で2回、飽和重曹水で1回、更に飽和食塩水で洗浄後有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 9$ (3) cm, ヘキサン:酢酸エチル=3:1~2:3) で精製し化合物124 (391 mg, 91%) を白色結晶として得た。分析用試料として酢酸エチル-ヘキサンより再結晶し白色結晶を得た。

mp 193-194 $^{\circ}\text{C}$

EI-MS: m/z 642 (M^+)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.12 (br s, 0.67 H, N-OH of isomer A), 7.75 (s, 1 H, H-2), 7.59 (br s, 0.33 H, N-OH of isomer B), 7.50 (dd, 0.33 H, CH_2CH of isomer B, $J = 4.8, 5.9$ Hz), 7.04 (br s, 1 H, amide proton), 6.84 (dd, 0.67 H, CH_2CH of isomer A, $J = 5.1, 5.9$ Hz), 5.74 (d, 0.67 H, H-1' of isomer A, $J = 7.3$ Hz), 5.67 (d, 0.33 H, H-1' of isomer B, $J = 7.0$ Hz), 5.44 (br s, 1 H, amide proton), 4.41-3.72 (m, 7 H, CH_2CH , H-2', 3', 4', 5'a, b), 0.94, 0.93, 0.81 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.12 (s, 6 H, methyl x 2), 0.11, 0.09, -0.05, -0.28 (each s, each 3 H, methyl).

Anal. Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_6\text{Si}_3$: C, 54.16; H, 9.09; N, 8.71. Found: C, 54.06; H, 9.20; N, 8.67. (化合物124には異性体が存在するために ^1H -NMRスペクトルにおいて2種の混合物として観察される。各スペクトルを帰属する便宜上、存在比の多い方をisomer A、少ない方をisomer Bと命名した。)

5-Cyanomethyl-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide (126).

化合物124 (110 mg, 0.17 mmol) をベンゼン (10 ml) に懸濁し、アルゴン雰囲気下反応液を氷冷しフェニルイソシアネート (28 μl , 0.26 mmol) を加え室温で1時間攪拌した。反応液に氷を加え反応を停止し、これに酢酸エチルを加え水で2回、更に飽和食塩水で洗浄後有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒を留去し、残渣をピリジン (10 ml) に溶解し50 $^{\circ}\text{C}$ で20分間加熱攪拌した。溶媒を留去し残渣をトルエンで3回共沸した後、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.7 \times 5$ (2) cm, 0~33% AcOEt in hexane) で精製し化合物126

(70 mg, 66%) を無色油状物質として得た。

EI-MS : m/z 567 (M^+ -*tert*-butyl)

IR : 2250 cm^{-1} (ν_{CN})

^1H NMR (CDCl_3) δ ; 7.69 (s, 1 H, H-2), 7.00 (br s, 1 H, NHa), 5.69 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.0$ Hz), 5.38 (br s, 1 H, NHb), 4.68, 4.27 (each d, each 1 H, CH_2CN , $J = 16.9$ Hz), 4.16 (m, 3 H, H-2', 3', 4'), 3.94 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.6$, $J_{5'a,5'b} = 11.4$ Hz), 3.79 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 2.2$, $J_{5'b,5'a} = 11.4$ Hz), 0.94 (s, 18 H, *tert*-butyl x 2), 0.81 (s, 9 H, *tert*-butyl), 0.13 (s, 6 H, methyl x 2), 0.12, 0.11, -0.04, -0.32 (each s, each 3 H, methyl).

6-Amino-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-*c*]-pyridin-4(5*H*)-one (127).

化合物124からの合成

化合物124 (1.50 g, 2.43 mmol) をベンゼン (50 ml) に懸濁し、アルゴン雰囲気下反応液を氷冷しフェニルイソシアネート (0.38 ml, 3.51 mmol) を加え室温で1.5時間攪拌した。反応液に氷を加え反応を停止し、これに酢酸エチルを加え水で2回、更に飽和食塩水で洗浄後有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒を留去し、残渣をエタノール (40 ml) と5% Na_2CO_3 水溶液 (20 ml) の混合溶媒に溶解し反応液を100 °Cで1.5時間加熱攪拌した。溶媒を留去し残渣をクロロホルムと水、及び飽和食塩水で分配した後有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 3.2 \times 12\text{ cm}$, 0~12% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物127 (818 mg, 56%) を淡青色あわ状物質として得た。

EI-MS : m/z 624 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ ; 12.85 (br s, 1 H, NH), 7.81 (s, 1 H, H-2), 5.61 (s, 1 H, H-7), 5.60 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.1$ Hz), 4.72 (br s, 2 H, NH_2), 4.28 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 7.1$ Hz, $J_{2',3'} = 4.9$ Hz), 4.18 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.9$, $J_{3',4'} = 6.1$ Hz), 4.09 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 6.1$, $J_{4',5'a} = 2.7$, $J_{4',5'b} = 2.2$ Hz), 3.89 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.7$, $J_{5'a,5'b} = 11.5$ Hz), 3.79 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 2.2$, $J_{5'b,5'a} = 11.5$ Hz), 0.96, 0.94, 0.79 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.15, 0.14, 0.12, 0.10, -0.09, -0.39 (each s, each 3 H, methyl).

化合物126からの合成

化合物126 (392 mg, 0.63 mmol) をエタノール (15 ml) と5% Na_2CO_3 水溶液 (5 ml) の混合溶媒に溶解し反応液を100 °Cで40分間加熱攪拌した。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 8\text{ cm}$, 0~12% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物127 (319 mg, 81%) を淡青色あわ状物質として得た。

6-Amino-1- β -D-ribofuranosylimidazo[4,5-*c*]-pyridin-4(5*H*)-one (3).

化合物127 (810 mg, 1.30 mmol) をTHF (10 ml) に溶解し、氷冷下1M TBAFのTHF溶液 (6.5 ml, 6.5 mmol) を加え室温で1時間攪拌した。溶媒を留去し残渣を水 (10 ml) に溶解しAmberlite XAD-4樹脂カラム ($\phi 5.4 \times 34\text{ cm}$, 0-80% MeOH in H_2O) で精製し化合物3 (285 mg, 78%) を淡茶色結晶として得た。分析用試料として水より結晶化し白色結晶を得た。

mp 217-220 °C (dec.) (lit. 255-257 °C dec.)

FAB - MS : m/z 283 ($M^+ + 1$)

UV : λ_{max} (H_2O) 271 nm (ϵ 11,500), 299 nm (ϵ 8,500); λ_{max} (0.5 N HCl) 286 nm (ϵ 12,400), 310 nm (sh) (ϵ 6,300); λ_{max} (0.5 N NaOH) 281 nm (ϵ 12,000)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.29 (br s, 1 H, NH), 7.86 (s, 1 H, H-2), 5.56 (br s, 2 H, NH_2), 5.46 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 6.1$ Hz), 5.45 (s, 1 H, H-7), 5.44 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'\text{-OH},2'} = 6.6$ Hz), 5.17 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'\text{-OH},3'} = 5.0$ Hz), 5.00 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'\text{-OH},5'a} = 5.5$, $J_{5'\text{-OH},5'b} = 5.0$ Hz), 4.21 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 6.1$, $J_{2',2'\text{-OH}} = 6.6$, $J_{2',3'} = 5.0$ Hz), 4.01 (dt, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = J_{3',3'\text{-OH}} = 5.0$, $J_{3',4'} = 3.9$ Hz), 3.87 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 3.9$, $J_{4',5'a} = 3.8$, $J_{4',5'b} = 4.4$ Hz), 3.61 (ddd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 3.8$, $J_{5'a,5'b} = 12.1$, $J_{5'a,5'\text{-OH}} = 5.5$ Hz), 3.51 (ddd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 4.4$, $J_{5'b,5'a} = 12.1$, $J_{5'b,5'\text{-OH}} = 5.0$ Hz).

Anal. Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5$: C, 46.81; H, 5.00; N, 19.85. Found: C, 46.93; H, 4.99; N, 19.58.

5-Ethynyl-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carbonitrile (131).

化合物27f (797 mg, 3.20 mmol) をDMF (20 ml) に溶解しTBDMSCl (1.92 g, 12.8 mmol) とイミダゾール (1.74 g, 25.6 mmol) を加え室温で72時間攪拌した。反応液にエタノールを加え反応を停止し溶媒を留去した。残渣を酢酸エチルに溶解し、水で2回、更に飽和食塩水で洗浄後有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 3.2 \times 10$ (5) cm, 0~16% AcOEt in hexane) で精製し化合物131 (1.57 g, 83%) を黄色結晶として得た。分析用試料としてヘキサンより再結晶し無色結晶を得た。

mp 101-103 °C

EI-MS : m/z 591 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 8.01 (s, 1 H, H-2), 5.76 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.5$ Hz), 4.25 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.5$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.18 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$, $J_{3',4'} = 2.9$ Hz), 4.09 (q, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 2.9$ Hz), 3.91 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.9$, $J_{5'a,5'b} = 11.7$ Hz), 3.80 (s, 1 H, acetylene proton), 3.78 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 2.9$, $J_{5'b,5'a} = 11.7$ Hz), 0.95, 0.92, 0.85 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.14, 0.13, 0.10, 0.09, -0.01, -0.21 (each s, each 3 H, methyl).

Anal. Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{53}\text{N}_3\text{O}_4\text{Si}_3$: C, 58.83; H, 9.02; N, 7.10. Found: C, 58.74; H, 9.02; N, 7.00.

5,2'-*O*-Cycloetheno-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carbonitrile (129).

化合物27f (200 mg, 0.80 mmol) をメタノール (5 ml) に溶解し、スチール封管にとりメタノール性アンモニア (10 ml) を加え120 °Cで3時間加熱した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.1 \times 6$ (2) cm, 4~35% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物129 (61 mg, 31%) を淡黄色結晶として、また化合物103 (36 mg, 17%) を黄色結晶として得た。化合物129 は酢酸エチル-ヘキサンより再結晶し白色結晶を得た。

mp 198-201 °C

EI-MS : m/z 249 (M^+)

UV : λ_{max} (H_2O) 278 nm (ϵ 17,700); λ_{max} (0.5 N HCl) 276 nm (ϵ 17,800); λ_{max} (0.5 N NaOH) 281 nm (ϵ 17,900)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.77 (s, 1 H, H-2), 6.79 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 7.7$ Hz), 5.84 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'\text{-OH},3'} = 4.4$ Hz), 5.69 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 6.0$ Hz), 5.66 (d, 1 H, vinyl proton, $J =$

7.7 Hz), 4.96 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH, 5'a} = 6.0$, $J_{5'-OH, 5'b} = 5.0$ Hz), 4.40 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 6.0$, $J_{2',3'} = 4.9$ Hz), 4.34 (m, 1 H, H-3'), 4.24 (m, 1 H, H-4'), 3.48 (m, 2 H, H-5'a, b).

Anal. Calcd for $C_{11}H_{11}N_3O_4$: C, 53.01; H, 4.45; N, 16.86. Found: C, 52.99; H, 4.48; N, 17.01.

5,2'-O-Cycloetheno-1-(3,5-di-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carbonitrile (130).

化合物**129** (25 mg, 0.1 mmol) をピリジン (2 ml) に溶解し無水酢酸 (10 ml, 0.4 mmol) を加え室温で一晩攪拌した。反応液にエタノールを加え過剰の無水酢酸を分解した後、溶媒を留去した。残渣を酢酸エチルに溶解し水で2回、更に飽和食塩水で洗浄後有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒を留去し残渣をトルエン共沸した後、少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.7 \times 5$ (1) cm, 20~50% AcOEt in hexane) で精製し化合物**130** (23 mg, 69%) を無色油状物質として得た。

EI-MS : m/z 333 (M^+)

IR : 2220 cm^{-1} (ν_{CN})

1H NMR (DMSO- d_6) δ : 7.76 (s, 1 H, H-2), 6.75 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 8.1$ Hz), 5.79 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 6.6$ Hz), 5.71 (d, 1 H, vinyl proton, $J = 8.1$ Hz), 5.53 (d, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.5$ Hz), 4.73 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 6.6$, $J_{2',3'} = 5.5$ Hz), 4.64 (dd, 1 H, H-4', $J_{4',5'a} = 4.4$, $J_{4',5'b} = 4.8$ Hz), 4.22 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 4.4$, $J_{5'a,b} = 12.1$ Hz), 4.16 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 4.8$, $J_{5'b,a} = 12.1$ Hz), 2.18, 1.85 (each s, each 3 H, acetyl).

4-Amino-1-(2,3,5-tri-O-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-*c*]-pyridine (132).

化合物**131** (2.28 g, 3.86 mmol) をメタノール (10 ml) に溶解し、スチール封管にとりメタノール性アンモニア (40 ml) を加え120 $^{\circ}C$ で3時間加熱した。原料消失を確認後、溶媒を留去し残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 3.2 \times 13$ (3) cm, ヘキサン:酢酸エチル = 2:1~1:4) で精製し化合物**132** (1.78 g, 76%) を白色結晶として得た。分析用試料としてヘキサンより再結晶し白色結晶を得た。

mp 129 $^{\circ}C$

EI-MS : m/z 608 (M^+)

1H NMR ($CDCl_3$) δ : 8.00 (s, 1 H, H-2), 7.82 (d, 1 H, H-6, $J = 6.0$ Hz), 7.02 (d, 1 H, H-7, $J = 6.0$ Hz), 5.78 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.1$ Hz), 5.16 (br s, 2 H, NH_2), 4.38 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 7.1$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.21 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$, $J_{3',4'} = 3.3$ Hz), 4.13 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 3.3$, $J_{4',5'a} = 2.7$, $J_{4',5'b} = 2.2$ Hz), 3.94 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.7$, $J_{5'a,5'b} = 11.5$ Hz), 3.83 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 2.2$, $J_{5'b,5'a} = 11.5$ Hz), 0.98, 0.95, 0.75 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.18, 0.17, 0.12, 0.11, -0.14, -0.56 (each s, each 3 H, methyl).

Anal. Calcd for $C_{29}H_{56}N_4O_4Si_3$: C, 57.19; H, 9.27; N, 9.20. Found: C, 57.03; H, 9.48; N, 9.03.

4-Amino-1- β -D-ribofuranosylimidazo[4,5-*c*]pyridine (103).

化合物**132** (274 mg, 0.45 mmol) をTHF (10 ml) に溶解し、氷冷下1M TBAFのTHF溶液

(1.8 ml, 1.8 mmol) を加え室温で30分間攪拌した。溶媒を留去し残渣を水 (5 ml) に溶解し Amberlite XAD-4樹脂カラム ($\phi 2.7 \times 34$ cm, 0-60% MeOH in H_2O) で精製し化合物**103** (120 mg, quant) を淡黄色結晶として得た。分析用試料として水より結晶化し白色結晶を得た。

mp 228 - 229° C (lit. 229 - 231° C)

EI-MS : m/z 266 (M^+)

UV : λ_{max} (H_2O) 263 nm (ϵ 10,500); λ_{max} (0.5 N HCl) 262 nm (ϵ 10,900); λ_{max} (0.5 N NaOH) 265 nm (ϵ 12,700)

1H NMR ($DMSO-d_6$) δ : 8.29 (s, 1 H, H-2), 7.66 (d, 1 H, H-6, $J = 5.9$ Hz), 6.91 (d, 1 H, H-7, $J = 5.9$ Hz), 6.15 (br s, 2 H, NH_2), 5.75 (d, 1 H, H-1', $J_{1', 2'} = 6.2$ Hz), 5.45 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH, 2'} = 6.2$ Hz), 5.19 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH, 3'} = 4.4$ Hz), 5.08 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH, 5'a} = 5.1$, $J_{5'-OH, 5'b} = 5.5$ Hz), 4.31 (dt, 1 H, H-2', $J_{2', 1'} = J_{2', 2'-OH} = 6.2$, $J_{2', 3'} = 5.1$ Hz), 4.09 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3', 2'} = 5.1$, $J_{3', 3'-OH} = 4.4$, $J_{3', 4'} = 3.3$ Hz), 3.95 (dt, 1 H, H-4', $J_{4', 3'} = 3.3$, $J_{4', 5'a} = J_{4', 5'b} = 3.6$ Hz), 3.66 (ddd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a, 4'} = 3.6$, $J_{5'a, 5'b} = 12.1$, $J_{5'a, 5'-OH} = 5.1$ Hz), 3.59 (ddd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b, 4'} = 3.6$, $J_{5'b, 5'a} = 12.1$, $J_{5'b, 5'-OH} = 5.5$ Hz).

第4章の実験

1-(2,3,5-Tri-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-c]pyridin-4(5H)-one (138).

化合物**22j** (777 mg, 2.91 mmol) をエタノール (30 ml) に懸濁し50%ジメチルアミン水溶液 (15 ml) を加え、スチール封管中 80 °Cで5時間加熱した。原料消失を確認後、溶媒を留去し残渣にエタノール-50%酢酸水溶液 (10 ml-10 ml) の混合溶媒を加え室温で一晩攪拌した。溶媒を留去し残渣をエタノールおよびベンゼンでそれぞれ3回ずつ共沸した後さらにデシケーター中で一晩乾燥した。得られた固体をピリジン (30 ml) に懸濁し無水酢酸 (1.1 ml, 11.3 mmol) を加え室温で一晩攪拌した。反応液にエタノールを加え反応を停止し溶媒留去後、残渣をクロロホルムに溶解し飽和重曹水で2回、更に飽和食塩水で洗浄し有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し残渣をトルエン共沸した後シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ϕ 3.2x9 cm, 0~12% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**138** (1.02 g, 89%) を淡茶色あわ状物質として得た。分析用試料としてエタノールより結晶化し白色結晶を得た。

mp 200 - 201 °C

EI-MS : m/z 393 (M⁺)

¹H NMR (CDCl₃) δ : 12.69 (br s, 1 H, NH), 8.04 (s, 1 H, H-2), 7.36 (br d, 1 H, H-6, $J_{6,7} = 7.1$ Hz), 6.65 (d, 1 H, H-7, $J_{7,6} = 7.1$ Hz), 5.98 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.0$ Hz), 5.49 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.0$, $J_{2',3'} = 5.5$ Hz), 5.41 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.5$, $J_{3',4'} = 4.4$ Hz), 4.49 (m, 1 H, H-4'), 4.42 (br s, 2 H, H-5'a, b), 2.17, 2.16, 2.11 (each s, each 3 H, acetyl).

Anal. Calcd for C₁₇H₁₉N₃O₈: C, 51.91; H, 4.87; N, 10.68. Found: C, 51.74; H, 4.77; N, 10.85.

7-Chloro-1-(2,3,5-tri-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-c]pyridin-4(5H)-one (139).

化合物**138** (393 mg, 1.00 mmol) を塩化メチレン (10 ml) に溶解しNCS (200 mg, 1.50 mmol) を加え室温で攪拌した。15時間後NCS (266 mg, 2.00 mmol) を加え更に24時間攪拌した。反応液にシクロヘキセン (0.2 ml) を加え1時間攪拌した後、溶媒を留去し残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ϕ 2.7x13 cm, 0~6% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**139** (302 mg, 71%) を淡黄色あわ状物質として得た。

EI-MS : m/z 427, 429 (M⁺)

¹H NMR (CDCl₃) δ : 13.06 (br s, 1 H, NH), 8.27 (s, 1 H, H-2), 7.46 (s, 1 H, H-6), 6.75 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.4$ Hz), 5.58 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 3.9$, $J_{2',3'} = 5.0$ Hz), 5.43 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.0$, $J_{3',4'} = 5.5$ Hz), 4.42 (m, 3 H, H-4',5'a, b), 2.20, 2.14, 2.12 (each s, each 3 H, acetyl).

7-Bromo-1-(2,3,5-tri-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-c]pyridin-4(5H)-one (140).

化合物**138** (393 mg, 1.00 mmol) を塩化メチレン (10 ml) に溶解しNBS (267 mg, 1.50 mmol) を加え室温で3時間攪拌した。反応液にシクロヘキセン (0.1 ml) を加え1時間攪拌した後、溶媒を留去し残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ϕ 2.7x12 cm, 0~6% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**140** (366 mg, 78%) を淡紫色ガラス状物質として得た。

EI-MS : m/z 471, 473 (M^+)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 13.19 (br s, 1 H, NH), 8.26 (s, 1 H, H-2), 7.51 (s, 1 H, H-6), 6.89 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.4$ Hz), 5.59 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 4.4$, $J_{2',3'} = 5.0$ Hz), 5.42 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.0$, $J_{3',4'} = 5.5$ Hz), 4.47 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 5.5$, $J_{4',5'a} = 2.7$, $J_{4',5'b} = 2.2$ Hz), 4.42 (s, 2 H, H-5'a, b), 2.19 2.13, 2.11 (each s, each 3 H, acetyl).

7-Iodo-1-(2,3,5-tri-*O*-acetyl- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (141).

化合物**138** (393 mg, 1.00 mmol) をDMF (10 ml) に溶解しNIS (450 mg, 2.00 mmol) を加え遮光し室温で9.5時間攪拌した。反応液にシクロヘキセン (0.1 ml) を加え1時間攪拌した後、溶媒を留去した。残渣をクロロホルムに溶解し水で2回、更に飽和食塩水で洗浄し有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒留去後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 3.2 \times 10$ cm, 0~12% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**141** (391 mg, 75%) を黄色あわ状物質として得た。

FAB-MS : m/z 520 ($M^+ + 1$), 1039 ($2M^+ + 1$)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 13.01 (br s, 1 H, NH), 8.25 (s, 1 H, H-2), 7.66 (s, 1 H, H-6), 7.05 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.0$ Hz), 5.62 (t, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = J_{2',3'} = 5.0$ Hz), 5.44 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.0$, $J_{3',4'} = 5.5$ Hz), 4.49 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 5.5$, $J_{4',5'a} = 2.7$, $J_{4',5'b} = 2.2$ Hz), 4.41 (br s, 2 H, H-5'a, b), 2.20 2.14, 2.13 (each s, each 3 H, acetyl).

7-Chloro-1- β -D-ribofuranosylimidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (142).

化合物**139** (300 mg, 0.70 mmol) をメタノール性アンモニア (10 ml) に溶解し室温で一晩静置した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 6$ (3) cm, 5~30% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**142** (115 mg, 55%) を白色結晶として得た。分析用試料としてメタノールより再結晶し白色結晶を得た。

mp 171 - 173 °C (dec.)

FAB-MS : m/z 302, 304 ($M^+ + 1$)

UV : λ_{max} (H_2O) 261 nm (ϵ 9,700); λ_{max} (0.5 N HCl) 274 nm (ϵ 8,300); λ_{max} (0.5 N NaOH) 269 nm (ϵ 10,200)

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.58 (br s, 1 H, NH), 8.51 (s, 1 H, H-2), 7.36 (s, 1 H, H-6), 6.34 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.4$ Hz), 5.54 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-\text{OH}, 2'} = 6.0$ Hz), 5.19 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-\text{OH}, 3'} = 4.9$ Hz), 5.13 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-\text{OH}, 5'a} = 5.5$, $J_{5'-\text{OH}, 5'b} = 4.9$ Hz), 4.33 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 4.4$, $J_{2', 2'-\text{OH}} = 6.0$, $J_{2', 3'} = 4.9$ Hz), 4.08 (q, 1 H, H-3', $J_{3', 2'} = J_{3', 3'-\text{OH}} = J_{3', 4'} = 4.9$ Hz) + (q, 1/3 H, MeOH, $J = 5.5$ Hz), 3.93 (dt, 1 H, H-4', $J_{4', 3'} = 4.9$, $J_{4', 5'a} = J_{4', 5'b} = 3.3$ Hz), 3.68 (ddd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a, 4'} = 3.3$ Hz, $J_{5'a, 5'-\text{OH}} = 5.5$, $J_{5'a, b} = 12.1$ Hz), 3.57 (ddd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b, 4'} = 3.3$ Hz, $J_{5'b, 5'-\text{OH}} = 4.9$, $J_{5'b, a} = 12.1$ Hz), 3.15 (d, 1 H, MeOH, $J = 5.5$ Hz).

Anal. Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{O}_5 \cdot 1/3\text{MeOH}$: C, 43.07; H, 4.25; N, 13.30. Found: C, 43.21; H, 4.19; N, 13.24.

7-Bromo-1- β -D-ribofuranosylimidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (143).

上記と同様の方法で化合物**140** (294 mg, 0.62 mmol) をメタノール性アンモニア (10 ml)

で処理した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 5$ (3) cm, 5~30% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**143** (150 mg, 70%) を白色結晶として得た。分析用試料としてメタノールより再結晶し白色結晶を得た。

mp 150 - 152 °C (dec.)

FAB-MS : m/z 346, 348 ($M^+ + 1$)

UV : λ_{max} (H_2O) 264 nm (ϵ 9,800); λ_{max} (0.5 N HCl) 276 nm (ϵ 8,500); λ_{max} (0.5 N NaOH) 269 nm (ϵ 10,200)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.60 (br s, 1 H, NH), 8.50 (s, 1 H, H-2), 7.41 (s, 1 H, H-6), 6.47 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.0$ Hz), 5.52 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-\text{OH},2'} = 6.0$ Hz), 5.19 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-\text{OH},3'} = 4.9$ Hz), 5.12 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-\text{OH},5'a} = 5.5$, $J_{5'-\text{OH},5'b} = 4.9$ Hz), 4.38 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.0$, $J_{2',2'-\text{OH}} = 6.0$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.08 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$, $J_{3',3'-\text{OH}} = 4.9$, $J_{3',4'} = 3.8$ Hz) + (q, 3/4 H, MeOH, $J = 5.5$ Hz), 3.93 (dt, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 3.8$, $J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 3.3$ Hz), 3.65 (ddd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 3.3$, $J_{5'a,5'-\text{OH}} = 5.5$, $J_{5'a,b} = 12.1$ Hz), 3.54 (ddd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 3.3$, $J_{5'b,5'-\text{OH}} = 4.9$, $J_{5'b,a} = 12.1$ Hz), 3.15 (d, 1 H, MeOH, $J = 5.5$ Hz).

Anal. Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{BrN}_3\text{O}_5 \cdot 3/4\text{MeOH}$: C, 38.12; H, 4.08; N, 11.35. Found: C, 37.97; H, 4.16; N, 11.25.

7-Iodo-1- β -D-ribofuranosylimidazo[4,5-c]pyridin-4(5H)-one (144).

上記と同様の方法で化合物**141** (391 mg, 0.66 mmol) をメタノール性アンモニア (10 ml) で処理した。溶媒を留去し、残渣を少量のメタノールに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 6$ (6) cm, 5~30% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**144** (239 mg, 92%) を白色結晶として得た。分析用試料としてメタノール-水より再結晶し白色結晶を得た。

mp 189 - 191 °C (dec.)

FAB-MS : m/z 394 ($M^+ + 1$)

UV : λ_{max} (H_2O) 263 nm (ϵ 10,600); λ_{max} (0.5 N HCl) 280 nm (ϵ 8,400); λ_{max} (0.5 N NaOH) 269 nm (ϵ 11,100)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.49 (br s, 1 H, NH), 8.44 (s, 1 H, H-2), 7.44 (s, 1 H, H-6), 6.61 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.5$ Hz), 5.48 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-\text{OH},2'} = 6.0$ Hz), 5.22 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-\text{OH},3'} = 4.4$ Hz), 5.07 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-\text{OH},5'a} = 5.5$, $J_{5'-\text{OH},5'b} = 5.0$ Hz), 4.44 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.5$, $J_{2',2'-\text{OH}} = 6.0$, $J_{2',3'} = 5.0$ Hz), 4.10 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.0$, $J_{3',3'-\text{OH}} = 4.4$, $J_{3',4'} = 3.3$ Hz) + (q, 3/5 H, MeOH, $J = 5.5$ Hz), 3.92 (dt, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 3.3$, $J_{4',5'} = J_{4',5''} = 3.9$ Hz), 3.59 (ddd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 3.9$, $J_{5'a,5'-\text{OH}} = 5.5$, $J_{5'a,b} = 12.1$ Hz), 3.55 (ddd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 3.9$, $J_{5'b,5'-\text{OH}} = 5.0$, $J_{5'b,a} = 12.1$ Hz), 3.15 (d, 1 H, MeOH, $J = 5.5$ Hz).

Anal. Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{IN}_3\text{O}_5 \cdot 3/5\text{MeOH}$: C, 33.79; H, 3.28; N, 10.19. Found: C, 33.65; H, 3.56; N, 9.95.

4-Amino-7-bromo-1-(2,3,5-tri-*O*-tert-butyltrimethylsilyl)- β -D-ribofuranosyl-imidazo[4,5-c]pyridine (146).

化合物**132** (122 mg, 0.20 mmol) を塩化メチレン (5 ml) に溶解し -15 °C に冷却した後、NBS (53 mg, 0.30 mmol) の塩化メチレン (2 ml) 懸濁液を加え30分間攪拌した。反応液にシクロヘキセン (20 μl) 加え30分間攪拌した後、溶媒を留去し残渣を酢酸エチルに溶解

し水で2回、更に飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した後溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 1.7 \times 9$ (4) cm, ヘキサン:酢酸エチル = 3:1~1:1) で精製し化合物**146** (102 mg, 74%) を黄色結晶として得た。

FAB-MS : m/z 687, 689 ($M^+ + 1$)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 8.26 (s, 1 H, H-2), 7.90 (s, 1 H, H-6), 6.94 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.1$ Hz), 5.16 (br s, 2 H, NH_2), 4.36 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 7.1$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.18 (d, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$ Hz), 4.10 (dd, 1 H, H-4', $J_{4',5'a} = 2.7$, $J_{4',5'b} = 2.2$ Hz), 3.89 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.7$, $J_{5'a,b} = 11.5$ Hz), 3.79 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 2.2$, $J_{5'b,a} = 11.5$ Hz), 0.98, 0.95, 0.73 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.18, 0.17, 0.12, 0.11, -0.13, -0.44 (each s, each 3 H, methyl).

4-Amino-7-iodo-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranosyl)imidazo-[4,5-*c*]pyridine (147).

化合物**132** (608 mg, 1.00 mmol) を DMF (10 ml) に溶解し NIS (450 mg, 2.00 mmol) を加え遮光し室温で11時間攪拌した。反応液にシクロヘキセン (0.1 ml) を加え30分間攪拌した後、溶媒を留去し残渣を酢酸エチルに溶解し水で2回、更に飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した後溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 3.2 \times 12$ (7) cm, ヘキサン:酢酸エチル = 3:1~1:1) で精製し化合物**147** (524 mg, 71%) を黄色結晶として得た。

EI-MS : m/z 734 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 8.23 (s, 1 H, H-2), 8.10 (s, 1 H, H-6), 7.10 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.7$ Hz), 5.14 (br s, 2 H, NH_2), 4.42 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 7.7$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.17 (d, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$ Hz), 4.10 (dd, 1 H, H-4', $J_{4',5'a} = 2.8$, $J_{4',5'b} = 2.2$ Hz), 3.88 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.8$, $J_{5'a,b} = 11.5$ Hz), 3.78 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 2.2$, $J_{5'b,a} = 11.5$ Hz), 0.98, 0.97, 0.72 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.17, 0.16, 0.13, 0.11, -0.13, -0.43 (each s, each 3 H, methyl).

4-Amino-7-bromo-1- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-*c*]pyridine (149).

化合物**146** (540 mg, 0.79 mmol) を THF (10 ml) に溶解し、氷冷下 1M TBAF の THF 溶液 (3.1 ml, 3.1 mmol) を加え室温で1時間攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量の MeOH に溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 3.2 \times 9$ (2) cm, 5~30% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**149** (250 mg, 92%) を黄色結晶として得た。分析用試料としてエタノール-水より再結晶し黄色結晶を得た。

mp 224 - 227 °C (dec.)

FAB-MS : m/z 345, 347 ($M^+ + 1$)

UV : λ_{max} (H_2O) 272 nm (ϵ 11,700); λ_{max} (0.5 N HCl) 270 nm (ϵ 11,900); λ_{max} (0.5 N NaOH) 272 nm (ϵ 12,900)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.54 (s, 1 H, H-2), 7.73 (d, 1 H, H-6), 6.48 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.5$ Hz), 6.46 (br s, 2 H, NH_2), 5.51 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-\text{OH},2'} = 6.0$ Hz), 5.20 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-\text{OH},2'}$

$_{OH, 3'} = 5.0$ Hz), 5.10 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH, 5'a} = 5.5$, $J_{5'-OH, 5'b} = 5.0$ Hz), 4.40 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2', 1'} = 5.5$, $J_{2', 2'-OH} = 6.0$, $J_{2', 3'} = 5.1$ Hz), 4.10 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3', 2'} = 5.1$, $J_{3', 3'-OH} = 5.0$, $J_{3', 4'} = 4.4$ Hz), 3.92 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4', 3'} = 4.4$, $J_{4', 5'} = 3.3$, $J_{4', 5''} = 3.7$ Hz), 3.64 (ddd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a, 4'} = 3.3$, $J_{5'a, b} = 12.1$, $J_{5'a, 5'-OH} = 5.5$ Hz), 3.54 (ddd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b, 4'} = 3.7$, $J_{5'b, a} = 12.1$, $J_{5'b, 5'-OH} = 5.0$ Hz).

Anal. Calcd for $C_{11}H_{13}BrN_4O_4$: C, 38.28; H, 3.80; N, 16.23. Found: C, 38.31; H, 3.76; N, 16.17.

4-Amino-7-iodo-1- β -D-ribofuranosylimidazo[4,5-c]pyridine (150).

上記と同様の方法で化合物147 (524 mg, 0.71 mmol) を THF (10 ml) に溶解し、氷冷下 1M TBAF の THF 溶液 (2.9 ml, 2.9 mmol) を加え室温で1時間攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量の MeOH に溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 3.2 \times 7$ (2) cm, 5~30% EtOH in $CHCl_3$) で精製し化合物150 (228 mg, 82%) を黄色結晶として得た。分析用試料としてエタノール-水より再結晶し黄色結晶を得た。

mp 213 - 215 °C (dec.)

FAB-MS: m/z 393 (M^+)

UV: λ_{max} (H_2O) 273 nm (ϵ 12,600); λ_{max} (0.5 N HCl) 271 nm (ϵ 12,100); λ_{max} (0.5 N NaOH) 273 nm (ϵ 13,200)

1H NMR ($DMSO-d_6$) δ : 8.49 (s, 1 H, H-2), 7.88 (d, 1 H, H-6), 6.62 (d, 1 H, H-1', $J_{1', 2'} = 5.5$ Hz), 6.40 (br s, 2 H, NH_2), 5.46 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH, 2'} = 6.1$ Hz), 5.20 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH, 3'} = 5.0$ Hz), 5.05 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH, 5'a} = 5.5$, $J_{5'-OH, 5'b} = 5.0$ Hz), 4.46 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2', 1'} = 5.5$, $J_{2', 2'-OH} = 6.1$, $J_{2', 3'} = 4.9$ Hz), 4.10 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3', 2'} = 4.9$, $J_{3', 3'-OH} = 5.0$, $J_{3', 4'} = 4.4$ Hz), 3.92 (dt, 1 H, H-4', $J_{4', 3'} = 4.4$, $J_{4', 5'} = J_{4', 5''} = 3.7$ Hz), 3.60 (ddd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a, 4'} = 3.7$, $J_{5'a, b} = 12.1$, $J_{5'a, 5'-OH} = 5.5$ Hz), 3.55 (ddd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b, 4'} = 3.7$, $J_{5'b, a} = 12.1$, $J_{5'b, 5'-OH} = 5.0$ Hz).

Anal. Calcd for $C_{11}H_{13}IN_4O_4$: C, 33.69; H, 3.34; N, 14.29. Found: C, 33.97; H, 3.31; N, 14.24.

4-Acetylamino-1-(2,3,5-tri-*O*-tert-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-c]pyridine (151).

化合物132 (500 mg, 0.82 mmol) をアセトニトリル (10 ml) に溶解し無水酢酸 (0.3 ml, 3.3 mmol)、トリエチルアミン (0.45 ml, 3.3 mmol)、DMAP (10 mg) を加え室温で20時間攪拌した。反応液にエタノールを加え反応を停止し、溶媒を留去した。残渣にメタノール性アンモニア (10 ml) を加え室温で20分間静置した後、溶媒を留去し残渣を少量のクロロホルムに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 3.2 \times 8$ (4) cm, 0~6% EtOH in $CHCl_3$) で精製し化合物151 (501 mg, 94%) を淡黄色あわ状物質として得た。

MS: m/z 650 (M^+), 593 ($M^+ - t-Bu$)

1H NMR ($CDCl_3$) δ : 8.44 (br s, 1 H, $NHAc$), 8.15 (d, 1 H, H-6, $J = 6.0$ Hz), 8.10 (s, 1 H, H-2), 7.42 (d, 1 H, H-7, $J = 6.0$ Hz), 5.83 (d, 1 H, H-1', $J_{1', 2'} = 7.7$ Hz), 4.38 (dd, 1 H, H-2', $J_{2', 1'} = 7.7$, $J_{2', 3'} = 5.0$ Hz), 4.20 (d, 1 H, H-3', $J_{3', 2'} = 5.0$ Hz), 4.15 (t, 1 H, H-4', $J_{4', 5'a} = J_{4', 5'b} = 2.2$ Hz), 3.96 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a, 4'} = 2.2$, $J_{5'a, b} = 11.5$ Hz), 3.84 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b, 4'} =$

2.2, $J_{5'b,a} = 11.5$ Hz), 2.52 (br s, 3 H, acetyl), 0.99, 0.95, 0.73 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.20, 0.17, 0.13, 0.11, -0.14, -0.63 (each s, each 3 H, methyl).

4-Acetylamino-7-chloro-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)-imidazo[4,5-*c*]pyridine (153).

化合物**151** (314 mg, 0.48 mmol) を塩化メチレン (15 ml) に溶解し NCS (321 mg, 2.40 mmol) を加え室温で攪拌した。27時間後 NCS (321 mg, 2.40 mmol) を更に加え18時間攪拌した。反応液にシクロヘキセン (0.5 ml) を加え1時間攪拌後、溶媒を留去し残渣にエーテルを加え不溶物を濾去した。濾液を濃縮し残渣を酢酸エチルに溶解し5% Na_2CO_3 水溶液で2回、更に飽和食塩水で洗浄し有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒を留去し、残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 13$ (5) cm, ヘキサン:酢酸エチル = 3:1 ~ 1:1) で精製し化合物**153** (248 mg, 75%) を白色結晶として得た。

FAB-MS : m/z 685, 687 ($M^+ + 1$)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 8.55 (br s, 1 H, NHAc), 8.43 (s, 1 H, H-2), 8.11 (s, 1 H, H-6), 6.75 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.1$ Hz), 4.34 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 7.1$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.19 (br d, 1 H, H-3'), 4.12 (br s, 1 H, H-4'), 3.93 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.8$, $J_{5'a,b} = 11.5$ Hz), 3.80 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 1.7$, $J_{5'b,a} = 11.5$ Hz), 2.52 (s, 3 H, acetyl), 0.99, 0.95, 0.73 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.18, 0.17, 0.13, 0.11, -0.11, -0.49 (each s, each 3 H, methyl).

4-Amino-7-chloro-1- β -D-ribofuranosylimidazo[4,5-*c*]pyridine (148).

化合物**153** (430 mg, 0.63 mmol) をメタノール性アンモニア (25 ml) に溶解しスチール封管中50 $^\circ\text{C}$ で70時間加熱した。溶媒を留去し残渣を少量の酢酸エチルに溶解しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 3.2 \times 5$ (6) cm, ヘキサン:酢酸エチル = 2:1 ~ 1:1) で精製しアセトアミドを除去した。得られた化合物**145** を THF (10 ml) に溶解し氷冷下1M TBAF (2.3 ml, 2.3 mmol) を加え室温で1時間攪拌した。溶媒を留去し、残渣を少量の MeOH に溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 2.7 \times 11$ (4) cm, 5~30% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**148** (128 mg, 68%) を白色結晶として得た。分析用試料としてエタノール-水より再結晶し白色結晶を得た。

mp 225 - 228 $^\circ\text{C}$ (dec.)

FAB-MS : m/z 301, 303 ($M^+ + 1$)

UV : λ_{max} (H_2O) 270 nm (ϵ 11,400); λ_{max} (0.5 N HCl) 269 nm (ϵ 12,400); λ_{max} (0.5 N NaOH) 270 nm (ϵ 11,900)

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.53 (s, 1 H, H-2), 7.65 (d, 1 H, H-6), 6.43 (br s, 2 H, NH_2), 6.35 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.1$ Hz), 5.52 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-\text{OH},2'} = 5.9$ Hz), 5.20 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-\text{OH},3'} = 5.1$ Hz), 5.11 (t, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-\text{OH},5'a} = J_{5'-\text{OH},5'b} = 5.1$ Hz), 4.37 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 5.1$, $J_{2',2'-\text{OH}} = 5.9$, $J_{2',3'} = 4.8$ Hz), 4.11 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.8$, $J_{3',3'-\text{OH}} = 5.1$, $J_{3',4'} = 4.4$ Hz), 3.93 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 4.4$, $J_{4',5'a} = 3.3$, $J_{4',5'b} = 3.7$ Hz), 3.66 (ddd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 3.3$, $J_{5'a,b} = 12.1$, $J_{5'a,5'-\text{OH}} = 5.1$ Hz), 3.56 (ddd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 3.7$, $J_{5'b,a} = 12.1$, $J_{5'b,5'-\text{OH}} = 5.1$ Hz).

Anal. Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{ClN}_4\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 41.45; H, 4.74; N, 17.58. Found: C, 41.58; H, 4.73; N, 17.32.

6-Acetylamino-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (154).

化合物**127** (842 mg, 1.35 mmol) をピリジン (10 ml) に溶解し無水酢酸 (0.64 ml, 6.75 mmol) を加え室温で一晩攪拌した。反応液にメタノール性アンモニア (10 ml) を加え室温で5分間静置した後、溶媒を留去した。残渣をクロロホルムに溶解し水で2回、更に飽和食塩水で洗浄し有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ϕ 3.2x12 cm, 0~8% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**154** (811 mg, 90%) を淡黄色あわ状物質として得た。

EI-MS : m/z 666 (M^+)

¹H NMR (CDCl₃) δ ; 11.73 (br s, 1 H, NH), 10.63 (br s, 1 H, NHAc), 8.14 (s, 1 H, H-2), 7.58 (s, 1 H, H-7), 5.77 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 5.5$ Hz), 4.27 (m, 2 H, H-2', 3'), 4.14 (br s, 1 H, H-4'), 3.99~3.80 (m, 2 H, H-5'a, b), 2.48 (s, 3 H, acetyl), 0.96, 0.95, 0.94 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.15, 0.14, -0.05, -0.28 (each s, each 3 H, methyl), 0.11 (s, 6 H, methyl x 2).

6-Acetylamino-7-chloro-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (155).

化合物**154** (700 mg, 1.05 mmol) を塩化メチレン (20 ml) に溶解しNCS (280 mg, 2.10 mmol) を加え室温で12時間攪拌した。反応液にシクロヘキセン (0.5 ml) を加え1時間攪拌後、クロロホルムで希釈し水で2回、更に飽和食塩水で洗浄し有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ϕ 3.0x14 cm, 0~8% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**155** (654 mg, 89%) を淡黄色あわ状物質として得た。

FAB-MS : m/z 701, 703 ($M^+ + 1$)

¹H NMR (CDCl₃) δ ; 12.00 (br s, 1 H, NH), 8.21 (s, 1 H, H-2), 8.04 (br s, 1 H, NHAc), 6.61 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.1$ Hz), 4.32 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 7.1$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.16 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$, $J_{3',4'} = 3.8$ Hz), 4.09 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 3.8$, $J_{4',5'a} = 2.7$, $J_{4',5'b} = 2.2$ Hz), 3.89 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.7$, $J_{5'a,b} = 11.5$ Hz), 3.78 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 2.2$, $J_{5'b,a} = 11.5$ Hz), 2.29 (s, 3 H, acetyl), 0.96, 0.93, 0.75 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.16, 0.14, 0.11, 0.10, -0.09, -0.39 (each s, each 3 H, methyl).

6-Acetylamino-7-bromo-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (156).

化合物**154** (623 mg, 0.94 mmol) を塩化メチレン (15 ml) に溶解し-20 °Cに冷却下NBS (183 mg, 1.03 mmol) の塩化メチレン (5 ml) 懸濁液を加え室温で15分間攪拌した。反応液にシクロヘキセン (0.1 ml) を加え1時間攪拌後、クロロホルムで希釈し水で2回、更に飽和食塩水で洗浄し有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ϕ 3.0x14 cm, 0~6% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**156** (548 mg, 79%) を淡茶色あわ状物質として得た。

FAB-MS : m/z 745, 747 ($M^+ + 1$)

¹H NMR (CDCl₃) δ ; 12.11 (br s, 1 H, NH), 8.20 (s, 1 H, H-2), 8.00 (br s, 1 H, NHAc), 6.81 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.1$ Hz), 4.36 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 7.1$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.15 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$, $J_{3',4'} = 3.8$ Hz), 4.08 (br s, 1 H, H-4'), 3.87 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.8$, $J_{5'a,b} = 11.5$ Hz), 3.77 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 1.7$, $J_{5'b,a} = 11.5$ Hz), 2.30 (s, 3 H, acetyl), 0.96,

0.94, 0.74 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.16, 0.14, 0.12, 0.11, -0.10, -0.39 (each s, each 3 H, methyl).

6-Acetylamino-7-iodo-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)-imidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (157).

上記と同様の方法で化合物**154** (646 mg, 0.97 mmol) をNIS (327 mg, 1.46 mmol) と30分間処理し化合物**157** (641 mg, 83%) を黄色あわ状物質として得た。

FAB-MS : m/z 793 ($M^+ + 1$)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 12.28 (br s, 1 H, NH), 8.18 (s, 1 H, H-2), 8.13 (br s, 1 H, NHAc), 7.04 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.7$ Hz), 4.42 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 7.7$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.15 (d, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$ Hz), 4.09 (br s, 1 H, H-4'), 3.85 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.7$, $J_{5'a,b} = 11.5$ Hz), 3.76 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 2.2$, $J_{5'b,a} = 11.5$ Hz), 2.30 (s, 3 H, acetyl), 0.95 (s, 18 H, *tert*-butyl $\times$ 2), 0.73 (s, 9 H, *tert*-butyl), 0.15, 0.14, 0.13, 0.11, -0.11, -0.37 (each s, each 3 H, methyl).

6-Amino-7-chloro-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)-imidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (158).

化合物**155** (646 mg, 0.92 mmol) をメタノール性アンモニア (25 ml) に溶解し室温で2晩静置した。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\phi 3.2 \times 12$ cm, 0~8% EtOH in CHCl_3) で精製し化合物**158** (464 mg, 76%) を白色結晶として得た。

FAB-MS : m/z 659 ($M^+ + 1$)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 13.03 (br s, 1 H, NH), 8.02 (s, 1 H, H-2), 6.68 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.1$ Hz), 5.36 (br s, 2 H, NH_2), 4.30 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 7.1$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.16 (d, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$ Hz), 4.07 (br s, 1 H, H-4'), 3.88 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.7$, $J_{5'a,b} = 11.5$ Hz), 3.78 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 2.2$, $J_{5'b,a} = 11.5$ Hz), 0.96, 0.94, 0.77 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.16, 0.14, 0.12, 0.10, -0.09, -0.36 (each s, each 3 H, methyl).

6-Amino-7-bromo-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-ribofuranosyl)-imidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (159).

上記と同様の方法で化合物**156** (548 mg, 0.74 mmol) をメタノール性アンモニアで処理し化合物**159** (424 mg, 82%) を茶色あわ状物質として得た。

FAB-MS : m/z 703, 705 ($M^+ + 1$)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 13.13 (br s, 1 H, NH), 8.01 (s, 1 H, H-2), 6.88 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 7.1$ Hz), 5.41 (br s, 2 H, NH_2), 4.33 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 7.1$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.16 (d, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$ Hz), 4.07 (br s, 1 H, H-4'), 3.86 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 2.8$, $J_{5'a,b} = 11.5$ Hz), 3.77 (br d, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,a} = 11.5$ Hz), 0.96, 0.95, 0.78 (each s, each 9 H, *tert*-butyl), 0.15, 0.14, 0.12, 0.10, -0.10, -0.35 (each s, each 3 H, methyl).

6-Amino-7-chloro-1- β -D-ribofuranosylimidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (160).

化合物**158** (450 mg, 0.68 mmol) をTHF (10 ml) に溶解し、氷冷下1M TBAFのTHF溶液

(2.7 ml, 2.7 mmol) を加え室温で40分間攪拌した。反応液を酢酸で中和した後溶媒を留去した。得られた白色固体に水-メタノール (10 ml-10 ml) を加え加熱した後濾取し、更にメタノールで洗浄し化合物**160** (182 mg, 84%) を白色の粉体として得た。

FAB-MS : m/z 317 ($M^+ + 1$)

UV : $\lambda_{\max}$ (H_2O) 275 nm (ϵ 10,000), 310 nm (ϵ 8,400); $\lambda_{\max}$ (0.5 N HCl) 293 nm (ϵ 10,500), 320 (sh) nm (ϵ 7,400); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 287 nm (ϵ 11,500)

1H NMR ($DMSO-d_6$) δ ; 10.67 (br s, 1 H, NH), 8.13 (s, 1 H, H-2), 6.28 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.9$ Hz), 5.76 (br s, 2 H, NH_2), 5.45 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH,2'} = 5.5$ Hz), 5.15 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH,3'} = 4.9$ Hz), 5.07 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH,5'a} = 5.5$, $J_{5'-OH,5'b} = 4.9$ Hz), 4.27 (dt, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = J_{2',3'} = 4.9$, $J_{2',2'-OH} = 5.5$ Hz), 4.06 (dt, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = J_{3',3'-OH} = 4.9$, $J_{3',4'} = 4.4$ Hz), 3.88 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 4.4$, $J_{4',5'a} = 3.3$, $J_{4',5'b} = 3.9$ Hz), 3.63 (ddd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 3.3$, $J_{5'a,5'-OH} = 5.5$, $J_{5'a,b} = 12.1$ Hz), 3.53 (ddd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 3.9$ Hz, $J_{5'b,5'-OH} = 4.9$, $J_{5'b,a'} = 12.1$ Hz).

6-Amino-7-bromo-1- β -D-ribofuranosylimidazo[4,5-c]pyridin-4(5H)-one (**161**).

上記と同様の方法で化合物**159** (424 mg, 0.60 mmol) を処理し、化合物**161**を (136 mg, 63%) を淡青色の粉体として得た。

FAB-MS : m/z 361, 363 ($M^+ + 1$)

UV : $\lambda_{\max}$ (H_2O) 275 nm (ϵ 9,900), 311 nm (ϵ 8,400); $\lambda_{\max}$ (0.5 N HCl) 294 nm (ϵ 10,100), 317 (sh) nm (ϵ 7,400); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 285 nm (ϵ 11,200)

1H NMR ($DMSO-d_6$) δ ; 10.72 (br s, 1 H, NH), 8.13 (s, 1 H, H-2), 6.43 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 4.9$ Hz), 5.71 (br s, 2 H, NH_2), 5.43 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH,2'} = 5.5$ Hz), 5.14 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH,3'} = 5.0$ Hz), 5.06 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH,5'a} = 5.5$, $J_{5'-OH,5'b} = 4.9$ Hz), 4.30 (dt, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = J_{2',3'} = 4.9$, $J_{2',2'-OH} = 5.5$ Hz), 4.06 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.9$, $J_{3',3'-OH} = 5.0$, $J_{3',4'} = 4.4$ Hz), 3.88 (dt, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 4.4$, $J_{4',5'a} = J_{4',5'b} = 3.3$ Hz), 3.61 (ddd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 3.3$, $J_{5'a,5'-OH} = 5.5$, $J_{5'a,b} = 12.1$ Hz), 3.55 (ddd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 3.3$ Hz, $J_{5'b,5'-OH} = 4.9$, $J_{5'b,a'} = 12.1$ Hz).

Anal. Calcd for $C_{11}H_{13}BrN_4O_5$: C, 36.58; H, 3.63; N, 15.15. Found: C, 36.58; H, 3.72; N, 15.13.

第5章の実験

6-Acetylamino-1- β -D-ribofuranosylimidazo[4,5-c]pyridin-4(5H)-one (169).

化合物**154** (672 mg, 1.01 mmol) を THF (15 ml) に溶解し、氷冷下 1M TBAF の THF 溶液 (4.0 ml, 4.0 mmol) を加え室温で1時間攪拌した。溶媒を留去し残渣を水 (50 ml) に溶解し活性炭を上清にUV吸収がなくなるまで加え、さらに1時間攪拌した。活性炭をカラム管につめ、化合物**169**を溶出させ (0~90% MeOH in H₂O $\rightarrow$ 75% MeOH in 29% aqueous NH₃)、青白色固体として得た。得られた**169**は引き続き次の反応に用いた。分析用試料としてメタノール-水より結晶化し白色結晶を得た。

mp 185-187 °C

FAB - MS : m/z ($M^+ + 1$)

UV : $\lambda_{\max}$ (H₂O) 269 nm (ϵ 11,900), 301 nm (ϵ 10,500); $\lambda_{\max}$ (0.5 N HCl) 290 nm (ϵ 14,300); $\lambda_{\max}$ (0.5 N NaOH) 282 nm (ϵ 10,700)

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 11.27 (br s, 1 H, NH), 10.48 (br s, 1 H, NH), 8.16 (s, 1 H, H-2), 6.42 (br s, 1 H, H-7), 5.61 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 6.0$ Hz), 5.50 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH,2'} = 6.1$ Hz), 5.23 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH,3'} = 5.0$ Hz), 5.03 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH,5'a} = 5.5$, $J_{5'-OH,5'b} = 5.9$ Hz), 4.23 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 6.0$, $J_{2',2'-OH} = 6.1$, $J_{2',3'} = 5.5$ Hz), 4.03 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.5$, $J_{3',3'-OH} = 5.0$, $J_{3',4'} = 2.8$ Hz), 3.93 (ddd, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = 2.8$, $J_{4',5'a} = 3.9$, $J_{4',5'b} = 4.4$ Hz), 3.61 (ddd, 1H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 3.9$, $J_{5'a,b} = 12.1$, $J_{5'a,5'-OH} = 5.5$ Hz), 3.55 (ddd, 1H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 4.4$, $J_{5'b,a} = 12.1$, $J_{5'b,5'-OH} = 5.9$ Hz).

Anal. Calcd for C₁₄H₁₉N₅O₅: C, 49.84; H, 5.68; N, 20.76. Found: C, 49.89; H, 5.74; N, 20.48.

6-Acetylamino-1-(3,5-O-1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-c]pyridin-4(5H)-one (170).

化合物**169**をピリジン (10 ml) に懸濁し、氷冷下 TIPDSCl₂ (0.33 ml, 1.19 mmol) を加え室温で8時間攪拌した。反応液にメタノールを加え反応を停止し溶媒を留去した。残渣をクロロホルムに溶解し水で2回、更に飽和食塩水で洗浄後、有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し残渣をトルエンで2回共沸した。残渣を少量のクロロホルム-メタノールの混合溶媒に溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、カラムクロマトグラフィー (ϕ 2.7x7 (3) cm, 0~12% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**170** (356 mg, 62% from **154**) を白色固体として得た。

FAB-MS : m/z 567 ($M^+ + 1$)

¹H NMR (CDCl₃) δ : 11.99 (br s, 1 H, NH), 10.89 (br s, 1H, NHAc), 7.95 (s, 1 H, H-2), 7.07 (s, 1 H, H-7), 5.74 (s, 1 H, H-1'), 4.48 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 6.0$ $J_{3',4'} = 6.6$ Hz), 4.30~4.05 (m, 4 H, H-2', 4', 5'a, b), 2.26 (s, 3 H, acetyl), 1.10~1.00 (m, 28 H, isoPr).

6-Acetylamino-7-chloro-1-(3,5-*O*-1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (171).

化合物**170** (380 mg, 0.67 mmol) を塩化メチレン (20 ml) - DMF (5 ml) の混合溶媒に懸濁しNCS (178 mg, 1.34 mmol) を加え室温で4.5時間攪拌した。反応液にシクロヘキセン (0.1 ml) を加え20分間攪拌後、溶媒を留去した。残渣をクロロホルムに溶解し水で2回、さらに飽和食塩水で洗浄し有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し、残渣を少量のクロロホルムに溶解しシリカゲルを加え減圧下乾固しシリカゲルに吸着させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ϕ 2.7x10 (4) cm, 0~10% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**171** (313 mg, 78%) を白色固体として得た。

FAB-MS : m/z 601 ($M^+ + 1$)

¹H NMR (CDCl₃) δ : 12.20 (br s, 1 H, NH), 8.95 (br s, 1 H, NHAc), 8.21 (s, 1 H, H-2), 6.46 (s, 1 H, H-1'), 4.51 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$, $J_{3',4'} = 8.2$ Hz), 4.30~4.01 (m, 4 H, H-2', 4', 5'a, b), 2.29 (s, 3 H, acetyl), 1.10~1.00 (m, 28 H, iso-Pr).

6-Acetylamino-7-chloro-1-[2-*O*-(*N,N*-diisopropylamino)(2-cyanoethoxy)-phosphino-3,5-*O*-1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl- β -D-ribofuranosyl]-imidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (172).

化合物**171** (301 mg, 0.5 mmol) を塩化メチレン (10 ml) に溶解し、氷冷下 *N,N*-diisopropylethylamine (0.17 ml, 1.0 mmol) と 2-cyanoethyl-*N,N*-diisopropylchlorophosphoramidate (0.17 ml, 0.75 mmol) を加え室温で攪拌した。1.5時間後、さらに *N,N*-diisopropylethylamine (0.17 ml, 1.0 mmol) と 2-cyanoethyl-*N,N*-diisopropylchlorophosphoramidate (0.17 ml, 0.75 mmol) を加え、計3時間攪拌した。反応液に飽和重曹水 (15 ml) を加え反応を停止した後、クロロホルム (35 ml) を加え抽出した。有機層を水で2回洗浄後、有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し、残渣を中性シリカゲルでカラムクロマトグラフィー (ϕ 2.7x10 cm, 1~4% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**172** (191 mg, 48%) を白色あわ状物質として得た。

FAB-MS : m/z 801 ($M^+ + 1$)

¹H NMR (CDCl₃) δ : 11.95 (br s, 1 H, NH), 8.25 (s, 1 H, H-2), 8.04 (br s, 1 H, NHAc), 6.49 (s, 1 H, H-1'), 4.54~3.62 (m, 7 H, H-2', 3', 4', 5'a, b, CH₂CH₂CN), 2.61 (m, 2 H, CH₂CH₂CN), 2.29 (s, 3 H, acetyl), 1.23~1.01 (m, 42 H, iso-Pr).

3-Chloro-3-deazaguanosine 2'-phosphate triethylammonium salt (176).

化合物**172** (185 mg, 0.23 mmol) をテトラゾールの飽和アセトニトリル溶液 (3 ml) に溶解し室温で攪拌した。3分後、水 (30 μ l) を加え室温で15分間攪拌した。反応液にDNA固相合成用酸化剤 (I₂, 3%; H₂O, 5%; pyridine, 19%; THF, 76%の混合溶液) を3 ml加え引き続

き室温で10分間攪拌した後、飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液を15 ml加えた。反応液にクロロホルムを加え抽出し、有機層を水で2回洗浄した。有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥後、溶媒を留去し残渣をトルエンで2回共沸した。残渣をメタノール性アンモニア (15 ml) に溶解し室温で48時間静置した。溶媒を留去し、残渣をTHFに懸濁し1M TBAF (0.6 ml, 0.6 mmol) を氷冷下加え室温で一晩攪拌した。溶媒を留去し、残渣を水 (50 ml) に溶解しエーテル (10 ml) で2回洗浄した。水層にさらに水を加え希釈し (500 ml)、DEAE-celluloseカラム (HCO_3^- form, $\phi 2.3 \times 13$ cm) にアプライし水 (200 ml) で洗浄後、0-0.15 N TEAB buffer (pH 8.0) のlinear gradient (H_2O 700 ml - 0.15 N TEAB buffer 700 ml) により溶出し、16 mlずつフラクションを分取した。フラクション52 - 66をあつめ溶媒を留去し化合物**176** (942 ODunits, 41%)を得た。

Migration on paper electrophoresis (0.05 N TEAB buffer, 700V, 1 hr) : **176** +7.9 cm; Guanosine +1.2 cm; GMP +8.5 cm.

3-Chloro-3-deazaguanosine 2',3'-cyclicphosphate triethylammonium salt (**166**).

化合物 **176** (942 ODunits) を水 (10 ml) に溶解し 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (90 mg, 0.47 mmol) を加え室温で攪拌した。12時間後、1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (28 mg, 0.15 mmol) をさらに加え、計36時間攪拌した。反応液に水を加え希釈し (250 ml)、DEAE-celluloseカラム (HCO_3^- form, $\phi 2.3 \times 13$ cm) にアプライし水 (200 ml) で洗浄後、0-0.1 N TEAB buffer (pH 8.0) のlinear gradient (H_2O 500 ml - 0.1 N TEAB buffer 500 ml) により溶出し、12 mlずつフラクションを分取した。フラクション41 - 53をあつめ溶媒を留去し化合物**166** (517 ODunits, 55%)を得た。

Migration on paper electrophoresis (0.05 N TEAB buffer, 700V, 1 hr) : **166** +4.4 cm; **176** +7.9 cm; Guanosine +1.2 cm; GMP +8.5 cm.

6-[(Dimethylamino)methylene]amino-1-(2,3,5-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (**179**).

化合物**127** (983 mg, 1.58 mmol) をDMF (30 ml) に溶解し *N,N*-ジメチルホルムアミドジメチルアセタール (1.0 ml, 7.9 mmol) を加え室温で4時間攪拌した。溶媒を留去し残渣にクロロホルムを加え水で2回洗浄後、有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒を留去し残渣を中性シリカゲルでカラムクロマトグラフィー ($\phi 3.5 \times 12$ cm, 0~8% EtOH in CHCl_3) を行ない化合物**179** (867 mg, 81%) を黄色あわ状物質として得た。

EI-MS : m/z 679 (M^+)

^1H NMR (CDCl_3) δ : 9.25 (br s, 1 H, NH), 7.94 (s, 1 H, H-2), 7.77 (s, 1 H, N=CH), 5.81 (s,

1 H, H-7), 5.66 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 6.6$ Hz), 4.31 (dd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 6.6$, $J_{2',3'} = 4.4$ Hz), 4.20 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 4.4$, $J_{3',4'} = 3.3$ Hz), 4.11 (dt, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = J_{4',5'a} = 3.3$, $J_{4',5'b} = 2.8$ Hz), 3.98 (dd, 1 H, H-5'a, $J_{5'a,4'} = 3.3$, $J_{5'a,5'b} = 11.5$ Hz), 3.89 (dd, 1 H, H-5'b, $J_{5'b,4'} = 2.8$, $J_{5'b,5'a} = 11.5$ Hz), 0.95 (s, 18 H, *tert*-butyl x 2), 0.79 (s, 9 H, *tert*-butyl), 0.14, 0.13, 0.12, 0.11, -0.07, -0.38 (each s, each 3 H, methyl).

Anal. Calcd for $C_{32}H_{61}N_5O_5Si_3$: C, 56.51; H, 9.04; N, 10.30. Found: C, 56.09; H, 9.21; N, 10.07.

6-[(Dimethylamino)methylene]amino-1- β -D-ribofuranosylimidazo[4,5-c]pyridin-4(5H)-one (180).

化合物**179** (822 mg, 1.21 mmol) を THF (20 ml) に溶解し、氷冷下 1M TBAF の THF 溶液 (4.8 ml, 4.8 mmol) を加え室温で1時間攪拌した。溶媒を留去し残渣に水-メタノール (10 ml-10 ml) の混合溶媒を加え、濾取し更に少量のメタノールで洗浄し化合物**180** (246 mg, 60%) を白色粉末として得た。

FAB-MS : m/z 283 ($M^+ + 1$)

1H NMR (DMSO- d_6) δ : 10.57 (br s, 1 H, NH), 8.00 (s, 1 H, H-2), 7.96 (s, 1 H, N=CH), 6.05 (s, 1 H, H-7), 5.60 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 6.0$ Hz), 5.43 (d, 1 H, 2'-OH, $J_{2'-OH,2'} = 6.6$ Hz), 5.17 (d, 1 H, 3'-OH, $J_{3'-OH,3'} = 4.4$ Hz), 5.07 (dd, 1 H, 5'-OH, $J_{5'-OH,5'a} = 5.5$, $J_{5'-OH,5'b} = 4.9$ Hz), 4.25 (ddd, 1 H, H-2', $J_{2',1'} = 6.0$, $J_{2',2'-OH} = 6.6$, $J_{2',3'} = 5.5$ Hz), 4.04 (ddd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.5$, $J_{3',3'-OH} = 4.4$, $J_{3',4'} = 3.3$ Hz), 3.90 (dt, 1 H, H-4', $J_{4',3'} = J_{4',5'a} = 3.3$, $J_{4',5'b} = 3.8$ Hz), 3.60 (m, 2 H, H-5'a, b), 3.03, 2.92 (each s, each 3 H, methyl).

Anal. Calcd for $C_{14}H_{19}N_5O_5$: C, 49.84; H, 5.68; N, 20.76. Found: C, 49.89; H, 5.74; N, 20.48.

6-[(Dimethylamino)methylene]amino-1-(3,5-O-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl- β -D-ribofuranosyl)imidazo[4,5-c]pyridin-4(5H)-one (181).

化合物**180** (220 mg, 0.65 mmol) をピリジン (10 ml) に懸濁し、氷冷下 TIPDSCl₂ (0.22 ml, 0.78 mmol) を加え室温で27時間攪拌した。反応液にメタノールを加え反応を停止し溶媒を留去した。残渣をクロロホルムに溶解し水で2回、更に飽和食塩水で洗浄後、有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し残渣をトルエンで2回共沸した後、中性シリカゲルでカラムクロマトグラフィー (ϕ 2.7x14 cm, 0~12% EtOH in CHCl₃) を行ない化合物**181** (278 mg, 74%) を白色固体として得た。

EI-MS : m/z 579 (M^+)

1H NMR (CDCl₃) δ : 9.08 (br s, 1 H, NH), 7.86 (s, 1 H, H-2), 7.85 (s, 1 H, N=CH), 5.81 (s, 1 H, H-7), 5.75 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 1.1$ Hz), 4.51 (dd, 1 H, H-3', $J_{3',2'} = 5.5$, $J_{3',4'} = 7.1$ Hz),

4.21~4.10 (m, 4 H, H-2', 4', 5'a, b), 3.12, 3.03 (each s, each 3 H, methyl), 1.10~1.00 (m, 28 H, iso-Pr).

6-[(Dimethylamino)methylene]amino-1-[2-O-(*N,N*-diisopropylamino)(2-cyanoethoxy)-phosphino-3,5-O-1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl- β -D-ribofuranosyl]-imidazo[4,5-*c*]pyridin-4(5*H*)-one (182).

化合物**181** (250 mg, 0.43 mmol) を塩化メチレン (10 ml) に溶解し、氷冷下 *N,N*-diisopropylethylamine (0.18 ml, 1.07 mmol) と 2-cyanoethyl-*N,N*-diisopropylchlorophosphoramidate (0.19 ml, 0.86 mmol) を加え室温で4.5時間攪拌した。反応液に飽和重曹水 (15 ml) を加え反応を停止した後、クロロホルム (35 ml) を加え抽出した。有機層を水で2回洗浄後、有機層を無水Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を留去し、残渣を中性シリカゲルでカラムクロマトグラフィー (ϕ 2.7x8 cm, 1~4% EtOH in CHCl₃) で精製し化合物**182** (254 mg, 76%) を無色ガラス状物質として得た。

FAB-MS : m/z 780 ($M^+ + 1$)

¹H NMR (CDCl₃) δ : 9.10 (br s, 1 H, NH), 7.94 (s, 1 H, H-2), 7.81 (s, 1 H, N=CH), 5.75, 5.74 (each s, each 1 H, H-7 and H-1'), 4.55~3.61 (m, 7 H, H-2', 3', 4', 5'a, b, CH₂CH₂CN), 3.11, 3.04 (each s, each 3 H, methyl), 2.62 (m, 2 H, CH₂CH₂CN), 1.23~1.01 (m, 42 H, iso-Pr).

3-Deazaguanosine 2'-phosphate triethylammonium salt (183).

化合物**182** (229 mg, 0.29 mmol) を化合物**165**の場合と同様の方法を用いて反応を行ない化合物**183** (1960 ODunits, 59%) を得た。

Migration on paper electrophoresis (0.05 N TEAB buffer, 700V, 1 hr) : **183** +7.8 cm; Guanosine 2',3'-cyclic P +6.0 cm; GMP +8.5 cm.

3-Deazaguanosine 2',3'-cyclicphosphate triethylammonium salt (167).

化合物**183** (627 ODunits) を化合物**169**の場合と同様の方法を用いて反応を行ない化合物**167** (319 ODunits, 44%) を得た。

Migration on paper electrophoresis (0.05 N TEAB buffer, 700V, 1 hr) : **167** +4.1 cm; **183** +7.8 cm; Guanosine 2',3'-cyclic P +6.0 cm; GMP +8.5 cm.

2',3'-環状リン酸体**166**, **167**, **168**とRNase T₁との反応

2',3'-環状リン酸体 (1 mMの濃度になるように調製した) を50 mM HEPES buffer (pH 7.2) 中、RNase T₁ (1 μ Mの濃度になるように調製した) を加え37 °Cでインキュベートした (全量を1 mlとした)。酵素添加後、一定時間毎に反応液の一部を取りHPLCにインジェクトし、ピークの面積比より水解率を求めた。尚、HPLC条件は以下に示した通りである。

HPLC condition

column : YMC-Pack IES-AX (anion exchange)

elution : 0.3 M Na phosphate buffer (pH 6.8)

flow : 1ml / min

temp : room temperature

retention time : 10.1 min (**166**), 11.6 min (3'-phosphate); 7.6 min (**167**), 8.8 min (3'-phosphate); 6.5 min (**168**), 7.9 min (3'-phosphate)

2',3'-環状リン酸体**167**, **168**のRNase T₁による加水分解反応の速度論的解析

2',3'-環状リン酸体**167** (2.04 mM, 3.23 mM, 5.12 mM, 10.24 mMの4種の濃度になるように調製した) を50 mM HEPES buffer (pH 7.2) 中、RNase T₁ (6 μ Mの濃度になるように調製した) を加え37 °Cでインキュベートした (全量を500 μ lとした)。酵素添加後、12, 24, 36, 48分後にそれぞれ反応液を50 μ lとり2 mM ZnSO₄ (50 μ l) の溶液に加え氷冷し反応を停止させた。その溶液の一部をとりHPLCにインジェクトしピークの面積比より水解率を求めた。それぞれの時間における水解率より初速度を算出し、2',3'-環状リン酸体**167**の濃度と初速度のLineweaver-BurkプロットによりK_m値、V_{max}値を求めた。尚、HPLC条件は以下に示した通りである。

HPLC condition

column : YMC-Pack IES-AX (anion exchange)

elution : 0.3 M Na phosphate buffer (pH 6.8)

flow : 1ml / min

temp : room temperature

2',3'-環状リン酸体**168** (0.94 mM, 1.04 mM, 2.81 mM, 5.62 mMの4種の濃度になるように調製した) を50 mM HEPES buffer (pH 7.2) 中、RNase T₁ (1.2 μ Mの濃度になるように調製した) を加え37 °Cでインキュベートした (全量を500 μ lとした)。酵素添加後、2, 4, 6, 8分後にそれぞれ反応液を50 μ lとり2 mM ZnSO₄ (50 μ l) の溶液に加え氷冷し反応を停止させた。同様にHPLCにより水解率を求め、初速度を算出し、2',3'-環状リン酸体**168**の濃度と初速度のLineweaver-BurkプロットによりK_m値、V_{max}値を求めた。

HPLC condition

column : YMC-Pack IES-AX (anion exchange)

elution : 0.25 M Na phosphate buffer (pH 6.8)

flow : 1ml / min

temp : room temperature

2',3'-環状リン酸体**166**のRNase T₁に対するK_i値の測定

2',3'-環状リン酸体**168** (0.94 mM, 1.04 mM, 2.81 mM, 5.62 mMの4種の濃度になるように調製した) を50 mM HEPES buffer (pH 7.2) に溶解しさらにfig. 29に示した濃度となるように**166**、およびRNase T₁ (1.2 μMの濃度になるように調製した) を加え37℃でインキュベートした(全量を500 μlとした)。酵素添加後、3, 6, 9, 12分後にそれぞれ反応液を50 μlとり2 mM ZnSO₄ (50 μl) の溶液に加え氷冷し反応を停止させた。同様にHPLCにより水解率を求め、初速度を算出し各種阻害剤濃度での見かけ上のK_m値を算出し、その結果からK_i値を求めた。

HPLC condition

column : YMC-Pack IES-AX (anion exchange)

elution : 0.25 M Na phosphate buffer (pH 6.8)

flow : 1ml / min

temp : room temperature

引用文献

- 1) a) ファルマシア レビュー編集委員会：がん制圧への化学. 日本薬学会 (1981).
b) ファルマシア レビュー編集委員会：続がん制圧への化学. 日本薬学会 (1987).
- 2) 小野寺一清、佐々木和也：抗ウイルス剤. 学会出版センター (1991).
- 3) 日高弘義 編：阻害剤研究法. 共立出版 (1985).
- 4) 実吉峯郎：がん化学療法へのアプローチ. 講談社サイエンティフィク (1977).
- 5) a) Malinoski, F. and Stollar, V. : Inhibitor of IMP Dehydrogenase Prevent Sindbis Virus Replication and Reduce GTP Levels in *Aedes albopictus* Cells. *Virology*, **110**, 281-291 (1981).
b) Robins, R. K. : Nucleoside and Nucleotide Inhibitors of Inosine Monophosphate (IMP) Dehydrogenase as Potential Antitumor Inhibitors. *Nucleosides and Nucleotides*, **1**, 35-44 (1982).
- 6) Elion, G. B., Burgi, E. and Hitchings, G. H. : Studies on Condensed Pyrimidine Systems. IX. The Synthesis of 6-Substituted Purines. *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 411-414 (1952).
- 7) Johnson, J. A., Jr. and Thomas, H. J. : Synthesis of Potential Anticancer Agents. II. 6-Mercapto-9- β -D-ribofuranosylpurine. *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 3863 (1956).
- 8) Hampton, A. : Reactions of Ribonucleotide Derivatives of Purine Analogues at the Catalytic Site of Inosine 5'-Phosphate Dehydrogenase. *J. Biol. Chem.*, **238**, 3068-3074 (1963).
- 9) Streeter, D. G. and Koyama, H. H. P. : Inhibition of Purine Nucleoside Biosynthesis by 3-Deazaguanine, Its Nucleoside and 5'-Nucleotide. *Biochem. Pharmac.*, **25**, 2413-2415 (1976).
- 10) Robins, R. K. : Synthetic antiviral agents. *Chem. Eng. News*, **64**, 28-40 (1986).
- 11) a) Cook, P. D., Rousseau, R. J., Mian, A. M., Dea, P., Meyer, R. B., Jr. and Robins, R. K. : Synthesis of 3-Deazaguanine, 3-deazaguanosine, and 3-Deazaguanic Acid by a Novel Ring Closure of Imidazole Precursors. *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 1492-1498 (1976).
b) Cook, P. D., Allen, L. B., Streeter, D. G., Huffman, J. H., Sidwell, R. W. and Robins, R. K. : Synthesis and Antiviral and Enzymatic Studies of Certain 3-Deazaguanines and Their Imidazolecarboxamide Precursors. *J. Med. Chem.*, **21**, 1212-1218 (1978).
- 12) Witkowski, J. T., Robins, R. K., Sidwell, R. W. and Simon, L. N. : Design, Synthesis, and Broad Spectrum Antiviral Activity of 1- β -D-Ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide and Related Nucleosides. *J. Med. Chem.*, **15**, 1150-1154 (1972).
- 13) Srivastava, P. C., Pickering, M. V., Allen, L. B., Streeter, D. G., Campbell, M. T., Witkowski, J. T., Sidwell, R. W. and Robins, R. K. : Synthesis and Antiviral Activity of Certain Thiazole C-Nucleosides. *J. Med. Chem.*, **20**, 256-262 (1977).

- 14) Mizuno, K., Tsujino, M., Takada, M., Hayashi, M., Atsumi, K., Asano, K. and Matsuda, T. : Studies on Bredinin. I. Isolation, Characterization and Biological Properties. *J. Antibiotics*, **27**, 775-782 (1974).
- 15) Prusinger, P. and Sundaralingham, M. : A New Class of Nucleoside Analogues with Broad- Spectrum Antiviral Properties. *Nature New Biol.*, **244**, 166-167 (1973).
- 16) a) Miller, R. L., Adamczyk, D. L., Miller, W. H., Koszalka, G. W., Rideout, J. L., Beacham, L. M., III, Chao, E. Y., Haggerty, J. J., Krenitsky, T. A. and Elion, G. B. : Adenosine Kinase from Rabbit Liver. *J. Biol. Chem.*, **254**, 2346-2352 (1979).
 b) Koyama, H. and Tsuji, M. : Genetic and Biochemical Studies on the Activation and Cytotoxic Mechanism of Bredinin, A Potent Inhibitor of Purine Biosynthesis in Mammalian Cells. *Biochem. Pharmacol.*, **32**, 3547-3553 (1983).
 c) Saunders, P. P., Kuttan, R., Lai, M. M. and Robins, R. K. : Action of 2- β -D-Ribofuranosylthiazole-4-carboxamide (Tiazofurin) in Chinese Hamster Ovary and Variant Cell Lines. *Mol. Pharmacol.*, **23**, 534-539 (1983).
- 17) FDA Report : Rivavirin Aerosol Approved for Severe Cases of RSV in Infants and Young Children. *FDA Drug Bull.*, **16**, 7 (1986).
- 18) Patki, S. A. and Gupta, P. : Evaluation of Rivavirin in the Treatment of Acute Hepatitis. *Chemotherapy*, **28**, 298-303 (1982).
- 19) 横田和彦、内田久則、佐藤光史、刑部恒男、秋山憲義、阿曾弘一、真崎義彦、田中俊夫、奥平雅彦. : 各種臓器移植実験におけるmizoribineの免疫抑制効果. 移植、**17**、615-627 (1982).
- 20) Balis, F. M., Lange, B. J., Packer, R. J., Holcenberg, J. S., Ettinger, L. J., Sallan, S. E., Heideman, R. L., Zimm, S., Smithson, W. A., Cogliano-Shutta, N. A., Reaman, G. H. and Poplack, D. G. : Pediatric Phase I Trial and Pharmacokinetic Study of Tiazofurin (NCS 286193). *Cancer Res.*, **45**, 5169-5172 (1985).
- 21) Fukuyama, T. T. : Formation of an Adenyl Xanthosine Monophosphate Intermediate by Xanthosine 5'-Phosphate Aminase and Its Inhibition by Psicofuranine. *J. Biol. Chem.*, **241**, 4745-4749 (1966).
- 22) Lagerkvist, U. : Biosynthesis of Guanosine 5'-Phosphate. *J. Biol. Chem.*, **233**, 143-149 (1958).
- 23) 蛋白質 核酸 酵素 編集部 : 核酸の化学合成. 共立出版 (1968).
- 24) Greenberg, G. R. : Isolation of 4-Amino-5-imidazolecarboxamide Riboside from the Culture Medium of Sulfonamide-inhibited *Escherichia Coli*. *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 6307-6308 (1952).
- 25) a) Townsend, L. B. : Imidazole Nucleosides and Nucleotides. *Chem. Rev.*, **67**, 553-563 (1967).
 b) Shealy, Y. F. : Syntheses and Biological Activity of 5-Aminoimidazoles and 5-Triazenoimidazoles. *J. Pharm. Sci.*, **59**, 1533-1558 (1970).
- 26) Hoshi, A., Kumagai, K. and Kureitani, K. : Studies on Antitumor Agent. I. Antitumor

- Activity of 5(4)-Amino-4(5)-imidazolecarboxamide Analogs. *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 2080-2083 (1968).
- 27) Suhadolnik, R. J. : Nucleoside Antibiotics. John Wiley & Sons, Inc., 390-392 (1970).
- 28) see Ref. 2, 37-38.
- 29) see Ref. 2, 38-41.
- 30) Ohnuma, T., Roboz, J., Shapiro, M. L. and Holland, J. F. : Pharmacological and Biochemical Effects of Pyrazofurin in Humans. *Cancer Res.*, **37**, 2043-2049 (1977).
- 31) a) Jayaram, H. N., Dion, R. L., Glazer, R. I., Johns, D. G., Robins, R. K., Srivastava, P. C. and Cooney, D. A. : Initial Studies on the Mechanism of Action of A New Oncolytic Thiazole Nucleoside, 2- β -D-Ribofuranosylthiazole-4-carboxamide (NSC 286193). *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 2371-2380 (1982).
- b) Petrie, C. R., III, Revankar, G. R., Dalley, N. K., George, R. D., McKernan, P. A., Hamill, R. L. and Robins, R. K. : Synthesis and Biological Activity of Certain Nucleoside and Nucleotide Derivatives of Pyrazofurin. *J. Med. Chem.*, **29**, 268-278 (1986).
- 32) a) Srivastava, P. C., Streeter, D. G., Matthews, T. R., Allen, L. B., Sidwell, R. W. and Robins, R. K. : Synthesis and Antiviral and Antimicrobial Activity of Certain 1- β -D-Ribofuranosyl-4,5-disubstituted Imidazoles. *J. Med. Chem.*, **19**, 1020-1026 (1976).
- b) Wood, S. G., Upadhyay, K. G., Dalley, N. K., McKernan, P. A., Canonico, P. G., Robins, R. K. and Revankar, G. R. : Synthesis and Biological Activity of 5-Thiobredinin and Certain Related 5-Substituted Imidazole-4-carboxamide Ribonucleosides. *J. Med. Chem.*, **28**, 1198-1203 (1985).
- 33) Yamazaki, A. and Okutsu, M. : Cyclization of 5-Amino-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (AICA-riboside): A Review. *J. Heterocyclic Chem.*, **15**, 353 (1978).
- 34) a) Matsuda, A., Minakawa, N., Sasaki, T. and Ueda, T. : The Design, Synthesis and Antileukemic Activity of 5-Alkynyl-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide. *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2730-2733 (1988).
- b) Minakawa, N., Takeda, T., Sasaki, T., Matsuda, A. and Ueda, T. : Nucleosides and Nucleotides. 96. Synthesis and Antitumor Activity of 5-Ethynyl-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (EICAR) and Its Derivatives. *J. Med. Chem.*, **34**, 778-786 (1991).
- 35) De Clercq, E., Cools, M., Balzarini, J., Snoeck, R., Andrei, G., Hosoya, M., Shigeta, S., Ueda, T., Minakawa, N. and Matsuda, A. : Antiviral Activities of 5-Ethynyl-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide and Related Compounds. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **35**, 679-684 (1991).
- 36) Minakawa, N., Sasaki, T. and Matsuda, A. : Nucleosides and Nucleotides. 117. A Transition-state Analogue in Purine Nucleotide Biosynthesis: The Design and Synthesis of An Imidazo[4,5-*c*]azepine Nucleoside. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **3**, 183-186 (1993).

- 37) Matsuda, A., Minakawa, N. and Ueda, T. : Synthesis of Imidazoazepine Nucleosides via the Palladium-catalysed Cross Coupling Reaction. *Nucleic Acids Res., symposium series*, **20**, 13-14 (1988).
- 38) a) Minakawa, N. and Matsuda, A. : Nucleosides and Nucleotides. 114. A Convenient Method for the Synthesis of 3-Deazapurine Nucleosides from AICA-Riboside. *Tetrahedron Lett.*, **34**, 661-664 (1993).
 b) Minakawa, N. and Matsuda, A. : Nucleosides and Nucleotides. 116. Convenient syntheses of 3-Deazaadenosine, 3-Deazaguanosine, and 3-Deazainosine via Ring Closure of 5-Ethynyl-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide or -carbonitrile. *Tetrahedron*, **49**, 557-570 (1993).
- 39) Minakawa, N., Matsuda, A. and Ueda, T. : Nucleosides and Nucleotides. 98. Synthesis and Antitumor Activity of 5-Ethynylimidazole-4-carboxamide and -carbonitrile Derivatives. *Nucleosides and Nucleotides*, **9**, 1067-1078 (1990).
- 40) Jackson, R. C. and Weber, G. : IMP Dehydrogenase, an Enzyme Linked with Proliferation and Malignancy. *Nature*, **256**, 331-333 (1975).
- 41) Collart, F. R., Chubb, C. B., Mirkin, B. L. and Huberman, E. : Increased Inosine-5'-Phosphate Dehydrogenase Gene Expression in Solid Tumor Tissues and Tumor Cell Lines. *Cancer Res.*, **52**, 5826-5828 (1992).
- 42) Collart, F. R. and Huberman, E. : Expression of IMP Dehydrogenase in Differentiating HL-60 cells. *Blood*, **75**, 570-576 (1990).
- 43) a) Streeter, D. G., Witkowski, J. T., Khare, G. P., Sidwell, R. W., Bauer, R. J., Robins, R. K. and Simon, L. N. : Mechanism of Action of 1- β -D-Ribofuranosyl-1,2,4-Triazole-3-Carboxamide (Virazole), A New Broad-Spectrum Antiviral Agent. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **70**, 1174-1178 (1973).
 b) Jayaram, H. N., Dion, R. L., Glazer, R. I., Johns, D. G., Robins, R. K., Srivastava, P. C. and Cooney, D. A. : Initial Studies on the Mechanism of Action of A New Oncolytic Thiazole Nucleoside, 2- β -D-Ribofuranosylthiazole-4-carboxamide (NSC 286193). *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 2371-2380 (1982).
 c) Sakaguchi, K., Tsujino, M., Yoshizawa, M., Mizuno, K. and Hayano, K. : Action of Bredinin on Mammalian Cells. *Cancer Res.*, **35**, 1643-1647 (1975).
- 44) Cooney, D. A., Jayaram, H. N., Gebeyehu, G., Betts, C. R., Kelley, J. A., Marquez, V. E. and Johns, D. G. : The Conversion of 2- β -D-Ribofuranosylthiazole-4-carboxamide to An Analogue of NAD with Potent IMP Dehydrogenase-inhibitory Properties. *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 2133-2136 (1982).
- 45) a) Srivastava, P. C. and Robins, R. K. : Synthesis and Antitumor Activity of 2- β -D-Ribofuranosylselenazole-4-carboxamide and Related Derivatives. *J. Med. Chem.*, **26**, 445-448 (1983).
 b) Jayaram, H. N., Ahluwalia, G. S., Dion, R. L., Gebeyehu, G., Marquez, V. E., Kelley, J. A., Robins, R. K., Cooney, D. A. and Johns, D. G. : Conversion of 2- β -

- D-Ribofuranosylselenazole-4-carboxamide to An Analogue of NAD with Potent IMP Dehydrogenase-inhibitory Properties. *Biochem. Pharmac.*, **32**, 2633-2636 (1983).
- 46) Nishimura, H., Mayama, M., Komatsu, Y., Kato, H., Shimaoka, N. and Tanaka, Y. : Showdomycin, A New Antibiotic from A *Streptomyces* SP. *J. Antibiotics, Ser. A.*, **17**, 148-155 (1964).
- 47) Hadler, H. I., Claybourn, B. E. and Tschang, T. P. : Mitochondrial Volume Changes Induced by the Antibiotic Showdomycin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **31**, 25-31 (1968).
- 48) Hedstrom, L. and Wang, C. C. : Mycophenolic Acid and Thiazole Adenine Dinucleotide Inhibition of *Tritrichomonas foetus* Inosine 5'-Monophosphate Dehydrogenase: Implications on Enzyme Mechanism. *Biochemistry*, **29**, 849-854 (1990).
- 49) Barr, P. J., Robins, M. J. and Santi, D. V. : Reaction of 5-Ethynyl-2'-deoxyuridylate with Thiols and Thymidylate synthetase. *Biochemistry*, **22**, 1696-1703 (1983).
- 50) a) Matsuda, A., Shinozaki, M., Miyasaka, T., Machida, H. and Abiru, T. : Palladium-catalyzed Cross-Coupling of 2-Iodoadenosine with Terminal Alkynes: Synthesis and Biological Activities of 2-Alkynyladenosines. *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 1766-1769 (1985).
- b) Matsuda, A. and Ueda, T. : The Synthesis, Mutagenic and Pharmacological Activities of 2-Carbon-substituted Adenosines. *Nucleosides and Nucleotides*, **6**, 85-94 (1987).
- 51) Nair, V. and Richardson, S. G. : Modification of Nucleic Acid Bases via Radical Intermediates: Synthesis of Dihalogenated Purine Nucleosides. *Synthesis*, 670-672 (1982).
- 52) Fukukawa, K., Shuto, S., Hirano, T. and Ueda, T. : Synthesis of Bredinin from 1- β -D-Ribofuranosyl-5-aminoimidazole-4-carboxamide by a Photo-reaction. *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 3653-3657 (1986).
- 53) Kawana, M., Ivanovics, G. A., Rousseau, R. J. and Robins, R. K. : Azapurine Nucleosides. 3. Synthesis of 7-(β -D-Ribofuranosyl)imidazo[4,5-*d*]-v-triazin-4-one (2-Azainosine) and Related Derivatives. *J. Med. Chem.*, **15**, 841-843 (1972).
- 54) Sonogashira, K., Tohda, Y. and Hagihara, N. : A Convenient Synthesis of Acetylenes: Catalytic Substitutions of Acetylenic Hydrogen with Bromoalkenes, Iodoarenes, and Bromopyridines. *Tetrahedron Lett.*, **50**, 4467-4470 (1975).
- 55) a) Stille, J. K. : The Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organotin Reagents with Organic Electrophiles. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **25**, 508-524 (1986).
- b) Stille, J. K. and Simpson, J. H. : Stereospecific Palladium-Catalyzed Coupling Reactions of Vinyl Iodides with Acetylenic Tin Reagents. *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 2138-2152 (1987).
- 56) Sakaguchi, K., Tsujino, M., Yoshizawa, M., Mizuno, K. and Hayano, K. : Action of Bredinin on Mammalian Cells. *Cancer Res.*, **35**, 1643-1648 (1975).

- 57) Duschinsky, R., Plevin, E. and Heidelberger, C. : The Synthesis of 5-Fluoropyrimidines. *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 4559-4560 (1957).
- 58) 周東 智、未発表データ.
- 59) Matsuda, A., Ohara, Y., Kakutani, T., Negishi, K., Wataya, Y., Hayatsu, H. and Ueda, T. : 2-(*p*-Nitrophenyl)-2'-deoxyadenosine, A New Type of Mutagenic Nucleoside. *Nucleic Acids Res.*, **18**, 1833-1838 (1990).
- 60) Srivastava, P. C., Newman, A. R., Matthews, T. R. and Robins, R. K. : Synthesis of 5-Amino-1-(5-deoxy- β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide and Related 5'-Deoxyimidazole Ribonucleosides. *J. Med. Chem.*, **18**, 1237-1240 (1975).
- 61) Kosugi, M., Kato, Y., Kikuchi, K. and Migita, T. : Reaction of Iodobenzene with Trimethyltin Cyanide in the Presence of Tetrakis(triphenylphosphine)palladium: New Complex Formation between the Palladium and the Cyanide. *Chem. Lett.*, 69-72 (1981).
- 62) Takagi, K., Okamoto, T., Sakakibara, Y. and Oka, S. : Palladium(II) Catalyzed Synthesis of Aryl Cyanides from Aryl Halides. *Chem. Lett.*, 471-474 (1973).
- 63) Baillargeon, V. P. and Stille, J. K. : Palladium-Catalyzed Formylation of Organic Halides with Carbon Monoxide and Tin Hydride. *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 452-461 (1986).
- 64) Ferris, J. P., Devadas, B., Huang, C. and Ren, W. : Nucleosides from Carbohydrate Adducts of Diaminomaleonitrile. A Novel Synthesis of 5-Amino-1-(β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide and 5-Amino-1-(β -D-ribofuranosyl)imidazole-4-carboxamide. *J. Org. Chem.*, **50**, 747-754 (1985).
- 65) Jones, A. S., Verhelst, G. and Walker, R. T. : The Synthesis of the Potent Anti-Herpes Virus Agent, E-5-(2-Bromovinyl)-2'-deoxyuridine and Related Compounds. *Tetrahedron Lett.*, **45**, 4415-4418 (1979).
- 66) Balzarini, J. and DeClercq, E. : Assay Method for Monitoring the Inhibitory Effects of Antimetabolites on the Activity of Inosinate Dehydrogenase in Intact Human CEM Lymphocytes. *Biochem. J.*, **287**, 785-790 (1992).
- 67) a) Goswami, B. B., Borek, E. and Sharma, O. K. : The Broad Spectrum Antiviral Agent Ribavirin Inhibits Capping of mRNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **89**, 830-836 (1979).
 b) Goswami, B. B., Sharma, O. K. and Borek, E. : An Approach to Inhibition of Viral Replication : Inhibition of mRNA Methylation. *Recent Results Cancer Res.*, **84**, 275-282 (1983).
 c) Wray, S. K., Gilbert, B. E. and Knight, V. : Effect of Ribavirin Triphosphate on Primer Generation and Elongation during Influenza Virus Transcription *in vitro*. *Antiviral Res.*, **5**, 39-48 (1985).
 d) see Ref. 2, 109-119.
- 68) Umezawa, H., Sawa, T., Fukagawa, Y., Homma, I., Ishizaka, M. and Takeuchi, T. : Studies on Formycin and Formycin B in Cells of Ehrlich Carcinoma and *E. coli*. *J.*

- Antibiotics, Ser. A* **20**, 308-316 (1967).
- 69) Woo, P. W. K., Dion, H. W., Lange, S. M., Dahl, L. F. and Durham, L. J. : A Novel Adenosine and Ara-A Deaminase Inhibitor, (*R*)-3-(2-Deoxy- β -D-erythro-pentofuranosyl)-3,6,7,8-tetrahydroimidazo[4,5-*d*][1,3]-diazepin-8-ol. *J. Heterocyclic Chem.*, **11**, 641-643 (1974).
- 70) Agarwal, R. P., Spector, T. and Parks, R. E., Jr. : Tight-Binding Inhibitors. IV. Inhibition of Adenosine Deaminase by Various Inhibitors. *Biochem. Pharmac.* **26**, 359-367 (1977).
- 71) O'dwyer, P. J., Wagner, B., Leyland-Johns, B., Wittes, R. E., Cheson, B. D. and Hoth, D. F. : 2'-Deoxycoformycin (Pentostatin) for Lymphoid Malignancies. *Ann. Intern. Med.*, **108**, 733-743 (1988).
- 72) a) Frick, L., Wolfenden, R., Smal, E. and Baker, D. C. : Transition-State Stabilization by Adenosine Deaminase: Structural Studies of Its Inhibitory Complex with Deoxycoformycin. *Biochemistry*, **25**, 1616-1621 (1986).
b) Wilson, D. K., Rudolph, F. B. and Quioco, F. A. : Atomic Structure of Adenosine Deaminase Complexed with a Transition-State Analog: Understanding Catalysis and Immunodeficiency Mutations. *Science*, **252**, 1278-1284 (1991).
c) Kurz, L. C., Moix, L., Riley, M. C. and Frieden, C. : The Rate of Formation of Transition-State Analogues in the Active Site of Adenosine Deaminase is Encounter-Controlled: Implications for the Mechanism. *Biochemistry*, **31**, 39-48 (1992).
- 73) Tunac, J. B. and Underhill, M. : 2'-Chloropentostatin: Discovery, Fermentation and Biological Activity. *J. Antibiotics*, **38**, 1344-1349 (1985).
- 74) Fujii, T., Saito, T. and Fujisawa, T. : Alternative Syntheses of Azepinomycin. *Heterocycles*, **27**, 1163-1166 (1988).
- 75) Shimazaki, M., Kondo, S., Maeda, K., Ohno, M. and Umezawa, H. : Synthesis of Isocoformycin, An Adenosine Deaminase Inhibitor of Synthetic Origin. *J. Antibiotics*, **32**, 537-538 (1979).
- 76) Marquez, V. E., Liu, P. S., Kelley, J. A., Driscoll, J. S. and McCormack, J. J. : Synthesis of 1,3-Diazepin-2-one Nucleosides as Transition-State Inhibitors of Cytidine deaminase. *J. Med. Chem.*, **23**, 713-715 (1980).
- 77) a) Hosmane, R. S., Bhan, A. and Karpel, R. L. : The Synthesis and Biophysical Investigations of Novel Ring-Expanded Nucleosides, Nucleotides, and Homopolymers Containing the 5:7-Fused Heterocyclic Ring System Imidazo[4,5-*e*][1,4]diazepine. *J. Org. Chem.*, **55**, 5882-5890 (1990).
b) Bhadti, V. S., Bhan, A. and Hosmane, R. S. : The Synthesis of Novel Regioisomeric Ring-Expanded Xanthine Nucleosides Containing the 5:7-Fused Imidazo[4,5-*e*][1,2,4]-triazepine Ring System. *Nucleosides Nucleotides*, **11**, 1137-1149 (1992).
- 78) Jung, M. E. and Light, L. A. : Preparation of Iodoallylic Alcohols via Hydrostannylation:

- Spectroscopic Proof of Structures. *Tetrahedron Lett.*, **38**, 3851-3854 (1982).
- 79) Tsuji, J., Shimizu, I. and Minami, I. : Regioselective Synthesis of 1-Olefins by Palladium-Catalyzed Hydrogenolysis of Terminal Allylic Compounds with Ammonium Formate. *Chem. Lett.*, 1017-1020 (1984).
 - 80) Khwaja, T. A., Kigwana, L., Meyer, R. B. and Robins, R. K. : 3-Deazaguanine, A New Purine Analog Exhibiting Antitumor Activity. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **16**, 162 (1975).
 - 81) Chiang, P. K. and Cantoni, G. L. : Perturbation of Biochemical Transmethylations by 3-deazaadenosine *In Vivo*. *Biochem. Pharmacol.*, **28**, 1897-1902 (1979).
 - 82) Wolfe, M. S. and Borchardt, R. T. : S-Adenosyl-L-homocysteine Hydrolase as a Target for Antiviral Chemotherapy. *J. Med. Chem.*, **34**, 1521-1530 (1991).
 - 83) a) Bader, J. P., Brown, N. R., Chiang, P. K. and Cantoni, G. L. : 3-Deazaadenosine, An Inhibitor of Adenosylhomocysteine Hydrolase, Inhibits Reproduction of Rous Sarcoma Virus and Transformation of Chick Embryo Cells. *Virology*, **89**, 494-505 (1978).
 b) Chiang, P. K., Cantoni, G. L., Bader, J. P., Shannon, W. M., Thomas, H. J. and Montgomery, J. A. : Adenosylhomocysteine Hydrolase Inhibitors: Synthesis of 5'-Deoxy-5'-(isobutylthio)-3-deazaadenosine and its Effect on Rous Sarcoma Virus and Gross Murine Leukemia Virus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **82**, 417-423 (1978).
 - 84) Trager, W., Tershakovec, M., Chiang, P. K. and Cantoni, G. L. : *Plasmodium falciparum*: Antimalarial Activity in Culture of Sinefungin and Other Methylation Inhibitors. *Exp. Parasitol.*, **50**, 83-89 (1980).
 - 85) Flexner, C. W., Hilderth, J. E., Kunkel, R. W. and Drachman, D. B. : 3-Deaza-adenosine and Inhibition of HIV. *Lancet*, **339**, 438 (1992).
 - 86) Jurgensen, C. H., Huber, B. E., Zimmerman, T. P. and Wolberg, G. : 3-deazaadenosine Inhibits Leukocyte Adhesion and ICAM-1 Biosynthesis in Tumor Necrosis Factor-Stimulated Human Endothelial Cells. *J. Immunol.*, **144**, 653-661 (1990).
 - 87) a) Ono, A. and Ueda, T. : Minor-groove-modified Oligonucleotides: Synthesis of Decadeoxynucleotides Containing Hypoxanthine, N²-Methylguanine and 3-Deazaadenine, and Their Interactions with Restriction Endonucleases *Bgl* II, *Sau* 3AI, and *Mbo* I (Nucleosides and Nucleotides Part 75). *Nucleic Acids Res.*, **15**, 3059-3072 (1987).
 b) Cosstick, R., Li, X., Tuli, D. K., Williams, D. M., Connolly, B. A. and Newman, P. C. : Molecular Recognition in The Minor Groove of The DNA Helix. Studies on The Synthesis of Oligonucleotides and Polynucleotides Containing 3-Deaza-2'-deoxyadenosine. Interaction of The Oligonucleotides with The Restriction Endonuclease *EcoRV*. *Nucleic Acids Res.*, **18**, 4771-4778 (1990).
 - 88) Rousseau, R. J., Townsend, L. B. and Robins, R. K. : The Synthesis of 4-Amino- β -D-ribofuranosylimidazo[4,5-c]pyridine (3-Deazaadenosine) and Related Nucleosides.

- Biochemistry*, **5**, 756-760 (1966).
- 89) Mizuno, Y., Tazawa, S. and Kageura, K. : Synthetic Studies of Potential Antimetabolites. XII. Synthesis of 4-Substituted 1-(β -D-ribofuranosyl)-1H-imidazo[4,5-*c*]pyridines. *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 2011-2017 (1968).
 - 90) a) May, J. A., Townsend, L. B. : A General Synthesis of 4-Substituted 1-(β -D-Ribofuranosyl)-1H-imidazo[4,5-*c*]pyridines. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 125-129 (1975).
 b) Montgomery, J. A., Shortnacy, A. T. and Clayton, S. D. : A Comparison of Two Methods for the Preparation of 3-deazapurine Ribonucleosides. *J. Heterocyclic Chem.*, **14**, 195-197 (1977).
 - 91) Tanaka, H., Hirayama, M., Suzuki, M. and Miyasaka, T. : A Lithiation Route to C-5 Substitution of An Imidazole Nucleoside and Its Application to The Synthesis of 3-Deazaguanosine. *Tetrahedron*, **42**, 1971-1980 (1986).
 - 92) a) Krenitsky, T. A., Rideout, J. L., Chao, E. Y., Koszalka, G. W., Gurney, F., Crouch, R. C., Cohn, K. N., Wolberg, G. and Vinegar, R. : Imidazo[4,5-*c*]pyridines (3-Deazapurines) and Their Nucleosides as Immunosuppressive and Antiinflammatory Agents. *J. Med. Chem.* **29**, 138-143 (1986).
 b) Mikhailopulo, I. A., Zinchenko, A. I., Bokut, S. B., Dudchik, N. V., Baraj, V. N., Kalinichenko, E. N., Rosemeyer, H. and Seela, F. : 1-Deaza and 3-Deazapurines in The Reaction of Microbiological Transglycosylation. *Biotechnol. Lett.*, **14**, 885-890 (1992).
 - 93) Kosugi, M., Ishiguro, M., Negishi, Y., Sano, H. and Migita, T. : Palladium Catalyzed Reaction of Aryl Bromides with Cyanomethyltributyltin. Aromatic Cyanomethylation. *Chem. Lett.*, 1511-1512 (1984).
 - 94) Sakamoto, T., Kondo, Y., Suginome, T., Ohba, S. and Yamanaka, H. : Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reaction of Haloazoles with Phenylsulfonylacetonitrile. *Synthesis*, 552-554 (1992).
 - 95) a) Sakamoto, T., Katoh, E., Kondo, Y. and Yamanaka, H. : Palladium(0)-Catalyzed Condensation of Bromopyridines with α -Substituted Acetonitriles. *Heterocycles*, **27**, 1353-1356 (1988).
 b) Sakamoto, T., Satoh, C., Kondo, Y. and Yamanaka, H. : Condensed Heteroaromatic Ring Systems. XXI. Synthesis of Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines and Pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidines. *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 81-86 (1993).
 - 96) a) 坂本尚夫、村田尚子、内山大史、山中 宏. : 含窒素芳香ヘテロ環エチニル基の官能基変換. 日本薬学会第111年会 講演要旨集2、P63 (1991).
 b) Brakta, M. and Daves, G. D., Jr. : Efficient Synthesis of 3*H*, 5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-one. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1883-1884 (1992).
 - 97) 南川典昭、笹渕祥匡、松田 彰. : AICA-デオキシリボシドの合成と3-デアザプリンヌクレオシド類への変換. 日本薬学会第113年会 講演要旨集2、p77 (1993).

- 98) a)青柳光敏.: イノシンより3-置換-3-デアザプリンヌクレオシド及びイミダゾジアゼピンヌクレオシドへの変換. 修士論文 北海道大学 (1992).
b)Aoyagi, M., Minakawa, N. and Matsuda, A. : Nucleosides and Nucleotides. 115.
Synthesis of 3-Alkyl-3-Deazainosine via Palladium-Catalyzed Intramolecular Cyclization: A New Conformational Lock with the Alkyl Group at the 3-Position of the 3-Deazainosine in *Anti*-Conformation. *Tetrahedron Lett.*, **34**, 103-106 (1993).
- 99) Itoh, T., Ishikura, T. and Mizuno, Y. : Studies on the Chemical Synthesis of Potential Antimetabolites. XXXIV. Apparent Discrepancy among Reported Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectra of 3-deazaadenosine Is Actually a Reflection of a Difference in Molecular Species. *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 4130-4134 (1983).
- 100) a)Revankar, G. R., Gupta, P. K., Adams, A. D., Dalley, N. K., McKernan, P. A., Cook, P. D., Canonics, P. G. and Robins, R. K. : Synthesis and Antiviral / Antitumor Activities of Certain 3-Deazaguanine Nucleosides and Nucleotides. *J. Med. Chem.*, **27**, 1389-1396 (1984).
b)Poonian, M. S. and McComas, W. W. : Synthesis of Arabinofuranosyl Derivatives of 3-Deazaguanine. *J. Med. Chem.*, **22**, 958-962 (1979).
- 101) Montgomery, J. A., Clayton, S. J., Thomas, H. J., Shannon, W. M., Arnett, G., Bodner, A. J., Kion, I., Cantoni, G. L. and Chiang, P. K. : Carbocyclic Analogue of 3-Deazaadenosine: A Novel Antiviral Agent Using *S*-Adenosylhomocysteine Hydrolase as a Pharmacological Target. *J. Med. Chem.*, **25**, 626-629 (1982).
- 102) Prus, K. L., Wolberg, G., Keller, P. M., Fyfe, J. A., Stopford, C. R. and Zimmerman, T. P. : 3-Deazaadenosine 5'-Triphosphate: A Novel Metabolite of 3-Deazaadenosine in Mouse Leukocytes. *Biochem. Pharmacol.*, **38**, 509-517 (1989).
- 103) a)Serafinowski, P. : Synthesis of 2',3'-Dideoxy-3-deazaadenosine and Some of its Analogues. *Synthesis*, 757-760 (1990).
b)Seela, F., Rosemeyer, H. and Fischer, S. : 143. Synthesis of 3-Deaza-2'-deoxyadenosine and 3-Deaza-2',3'-dideoxyadenosine: Glycosylation of the 4-Chloroimidazo[4,5-*c*]pyridinyl Anion. *Helv. Chim. Acta.*, **73**, 1602-1611 (1990).
c)Franchetti, P., Cappellacci, L., Cristalli, G., Grifantini, M., Pani, A., Colla, P. L. and Nocentini, G. : Synthesis and Evaluation of Anti-HIV-1 and Antitumor Activity of 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxy-3-deazaadenosine, 2',3'-Dideoxy-3-deazaadenosine and Some 2',3'-Dideoxy-3-deazaadenosine 5'-Dialkyl Phosphates. *Nucleosides Nucleotides*, **10**, 1551-1562 (1991).
- 104) Prusoff, W. H. : Synthesis and Biological Activities of Iododeoxyuridine, An Analog of Thymidine. *Biochim. Biophys. Acta*, **32**, 295-296 (1959).
- 105) 池原森男、上田 亨.: シクロヌクレオシドの化学. 有機合成化学, **32**, 402-418 (1974).
- 106) Abbreviation and Symbols for the Description of Conformations of Polynucleotide Chains. *Eur. J. Biochem.*, **131**, 9-15 (1983).

- 107) a)Yoshimura, Y., Matsuda, A. and Ueda, T. : Alternative Synthesis of 2'-Deoxy-6,2'-methano-pyrimidine Nucleosides. *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 389-392 (1990).
- b)Yoshimura, Y., Ueda, T. and Matsuda, A. : Synthesis of 6,1'-Propanouridine, Fixed in *Syn*-Conformation by a Spiro-carbon Bridge. *Tetrahedron Lett.*, **35**, 4549-4552 (1991).
- c)Yoshimura, Y., Otter, B. A., Ueda, T. and Matsuda, A. : Nucleosides and Nucleotides. 108. Synthesis and Optical Properties of *Syn*-Fixed Carbon-Bridged Pyrimidine Cyclonucleosides. *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 1761-1769 (1992).
- 108) Tavale, S. S. and Henry, M. S. : Crystal and Molecular Structure of 8-Bromoguanosine and 8-Bromoadenosine, Two Purine Nucleosides in the *syn* conformation. *J. Mol. Biol.*, **48**, 109-123 (1970).
- 109) Abdallah, M. A., Biellmann, J., Nordstrom, B. and Branden, C. : The Conformation of Adenosine Diphosphoribose and 8-Bromoadenosine Diphosphoribose when Bound to Liver Alcohol Dehydrogenase. *Eur. J. Biochem.*, **50**, 475-481 (1975).
- 110) Iimori, T., Murai, Y., Ohuchi, S., Kodama, Y., Ohtsuka, Y. and Oishi, T. : 2'-C-, 3'-C- and 5'-C-Methylsangivamycins: Conformational Lock with the Methyl Group. *Tetrahedron Lett.*, **49**, 7273-7276 (1991).
- 111) ラーマン著、通 元夫・廣田 洋 訳 : 最新NMR. シュプリンガー・フェアラーク東京 (1990).
- 112) 岩村秀、野依良治、中井武、北川勲 : 大学院有機化学 上. 講談社サイエンティフィック (1988).
- 113) Schirmer, R. E., Noggle, J. H., Davis, J. P. and Hart, P. A. : Determination of Molecular Geometry by Quantitative Application of the Nuclear Overhauser Effect. *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 3266-3273 (1970).
- 114) a)Altona, C. and Sundaralingam, M. : Conformational Analysis of the Sugar Ring in Nucleosides and Nucleotides. Improved Method for the Interpretation of Proton Magnetic Resonance Coupling Constants. *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 2333-2344 (1973).
- b)Davies, D. B. and Danyluk, S. S. : Nuclear Magnetic Resonance Studies of 5'-Ribo- and Deoxyribonucleotides Structures in Solution. *Biochemistry*, **13**, 4417-4434 (1974).
- 115) a)Andre, F., Demassier, V., Bloch, G. and Neumann, J. : New Data on the Conformation of Nucleoside 5'-Di- and 5'-Triphosphates Obtained by Roesy Experiments. *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 6784-6798 (1990).
- b)Cho, B. P. and Evans, F. E. : Correlation between NMR Spectral Parameters and Its Implication to the Conformation about the Glycosyl Bond. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **180**, 273-278 (1991).
- c)Landis, C. and Allured, V. S. : Elucidation of Solution Structures by Conformer Population Analysis of NOE Data. *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 9493-9499 (1991).
- 116) Rosemeyer, H., Toth, G., Golankiewicz, B., Kazimierzuk, Z., Bourgeois, W.,

- Kretschmer, U. Muth, H. and Seela, F. : Syn-Anti Conformational Analysis of Regular and Modified Nucleosides by 1D ^1H NOE Difference Spectroscopy: A Simple Graphical Method Based on Conformationally Rigid Molecules. *J. Org. Chem.*, **55**, 5784-5790 (1990).
- 117) Sato, K. and Egami, F. : Studies on Ribonuclease in Takadiastase. I. *J. Biochem.*, **44**, 753-767 (1957).
- 118) a) Oshima, T. and Imahori, K. : Difference Spectral Studies on the Interactions between Ribonuclease T_1 and Its Substrate Analogues. *J. Biochem.*, **69**, 987-990 (1971).
b) Oshima, T. and Imahori, K. : A Change in Circular Dichroism Due to the Binding of Guanosine-3'-phosphate to Ribonuclease T_1 . *J. Biochem.*, **70**, 197-199 (1971).
- 119) 松田 彰、上田 亨 : 5'-デオキシ-8,5'-シクログアノシン 2',3'-環状リン酸エステルおよび3'-リン酸エステルの合成とリボヌクレアーゼ T_1 との相互作用. 日本化学会誌. **5**, 845-850 (1981).
- 120) Sugio, S., Amisaki, T., Ohishi, H. and Tomita, K. : Refined X-Ray Structure of the Low pH Form of Ribonuclease T_1 -2'-Guanylic Acid Complex at 1.9 Å Resolution. *J. Biochem.*, **103**, 354-366 (1988).
- 121) 内田庸子 : リボヌクレアーゼは基質のどこをよみとるか. 蛋白質核酸酵素, **16**, 1053-1059 (1971).
- 122) Ueda, T. and Kawai, I. : A Convenient Synthesis of Ribonucleoside 2',3'-Cyclic Phosphate from Ribonucleosides and Ribonucleotides. *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 2303-2308 (1970).
- 123) a) Yoshida, N. and Otsuka, H. : Kinetic Studies of Ribonuclease St-Catalysed Hydrolysis of Guanosine and Inosine 2',3'-Cyclic Phosphates, and Comparison with Ribonuclease T_1 . *Biochim. Biophys. Acta*, **228**, 648-653 (1971).
b) Yuki, R. and Yoshida, H. : Enzymatic Synthesis and Properties of 8-Bromoguanylic Acid Oligomers. *Biochim. Biophys. Acta*, **246**, 206-215 (1971).
- 124) Irie, S., Itoh, T., Ueda, T. and Egami, F. : pH Dependence of the RNase T_1 Action on Nucleoside 2',3'-Cyclic Phosphates. *J. Biochem.*, **68**, 163-170 (1970).
- 125) Irie, M. : pH-Profile of the Kinetic Parameters of Ribonuclease T_1 . *J. Biochem.*, **61**, 550-5540 (1967).

発表論文目録

- 1) Matsuda, A., Minakawa, N. and Ueda, T. : Synthesis of Imidazoazepine Nucleosides via the Palladium-catalyzed Cross Coupling Reaction. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, **20**, 13-14 (1988).
- 2) Matsuda, A., Minakawa, N., Sasaki, T. and Ueda, T. : The Design, Synthesis and Antileukemic Activity of 5-Alkynyl-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide. *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2730-2733 (1988).
- 3) Minakawa, N., Matsuda, A. and Ueda, T. : Nucleosides and Nucleotides. 98. Synthesis and Antitumor Activity of 5-Ethynylimidazole-4-carboxamide and -carbonitrile Derivatives. *Nucleosides and Nucleotides*, **9**, 1067-1078 (1990).
- 4) Minakawa, N., Takeda, T., Sasaki, T., Matsuda, A. and Ueda, T. : Nucleosides and Nucleotides. 96. Synthesis and Antitumor Activity of 5-Ethynyl-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide (EICAR) and Its Derivatives. *J. Med. Chem.*, **34**, 778-786 (1991).
- 5) De Clercq, E., Cools, M., Balzarini, J., Snoeck, R., Andrei, G., Hosoya, M., Shigeta, S., Ueda, T., Minakawa, N. and Matsuda, A. : Antiviral Activities of 5-Ethynyl-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide and Related Compounds. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **35**, 679-684 (1991).
- 6) Minakawa, N. and Matsuda, A. : Nucleosides and Nucleotides. 116. Convenient syntheses of 3-Dezaadenosine, 3-Deazaguanosine, and 3-Deazainosine via Ring Closure of 5-Ethynyl-1- β -D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide or -carbonitrile. *Tetrahedron*, **49**, 557-570 (1993).
- 7) Minakawa, N., Sasaki, T. and Matsuda, A. : Nucleosides and Nucleotides. 117. A Transition-state Analogue in Purine Nucleotide Biosynthesis: The Design and Synthesis of An Imidazo[4,5-*c*]azepine Nucleoside. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **3**, 183-186 (1993).
- 8) Minakawa, N. and Matsuda, A. : Nucleosides and Nucleotides. 114. A Convenient Method for the Synthesis of 3-Deazapurine Nucleosides from AICA-Riboside. *Tetrahedron Lett.*, **34**, 661-664 (1993).

