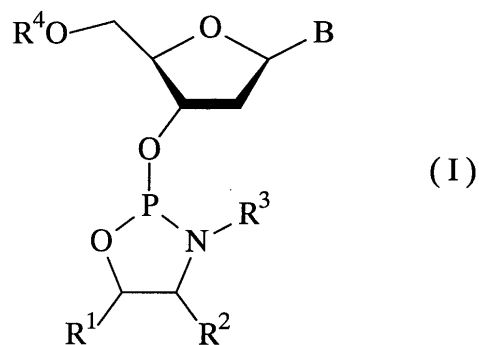


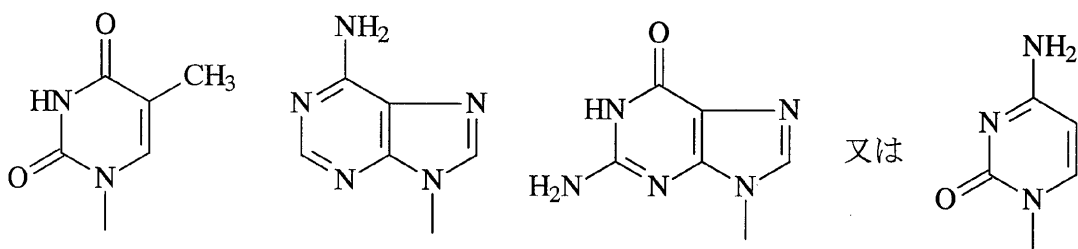
【化 2】



10

[式中、 R^1 及び R^2 は、同一又は異なって、水素原子、炭素数 1 ~ 3 のアルキル基又は炭素数 6 ~ 14 のアリール基、 R^3 は炭素数 1 ~ 3 のアルキル基、 R^4 は水酸基の保護基、B は式

【化 3】

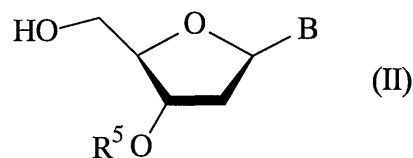


20

で表されるチミン、アデニン、シトシン、グアニンあるいはアデニン、シトシン、グアニンのアミノ基を保護基で保護した誘導体を示す。]

で表される光学活性なヌクレオシド 3' - ホスホロアミダイトと、式(II)

【化 4】

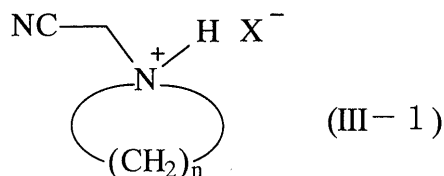


30

[式中、 R^5 は水酸基の保護基、B は前記と同じ意味を示す。]

で表されるヌクレオシドとを、式(III-1)

【化 5】

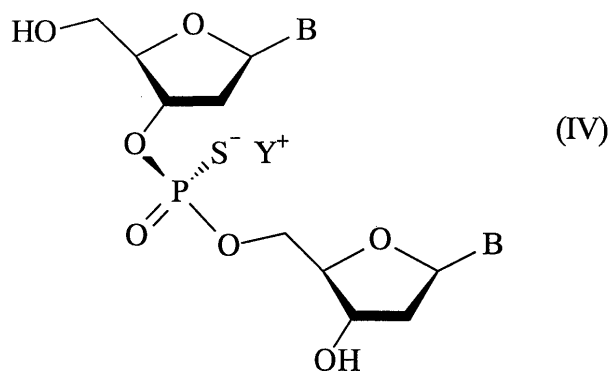


40

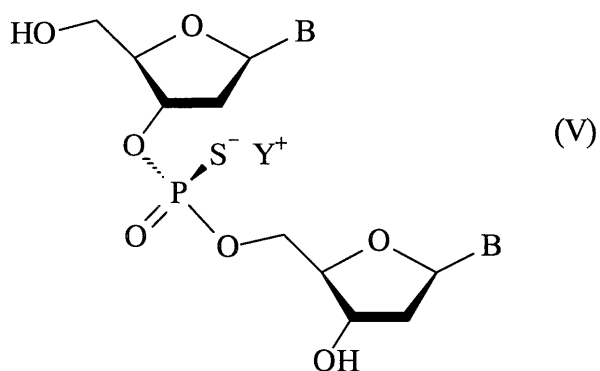
[式中、 X^- は BF_4^- 、 PF_6^- 、 TfO^- (Tf は CF_3SO_2- を示す。以下同じ)、 Tf_2N^- 、 AsF_6^- 又は SbF_6^- を示す。 n は 4 又は 5 を示す。]

で表される活性化剤を用いて縮合した後、硫化及び脱保護を行うことを特徴とする、式(I V)又は(V)で表される立体規則性の高いジヌクレオシドホスホロチオエートの製造法。

【化 6】



10



20

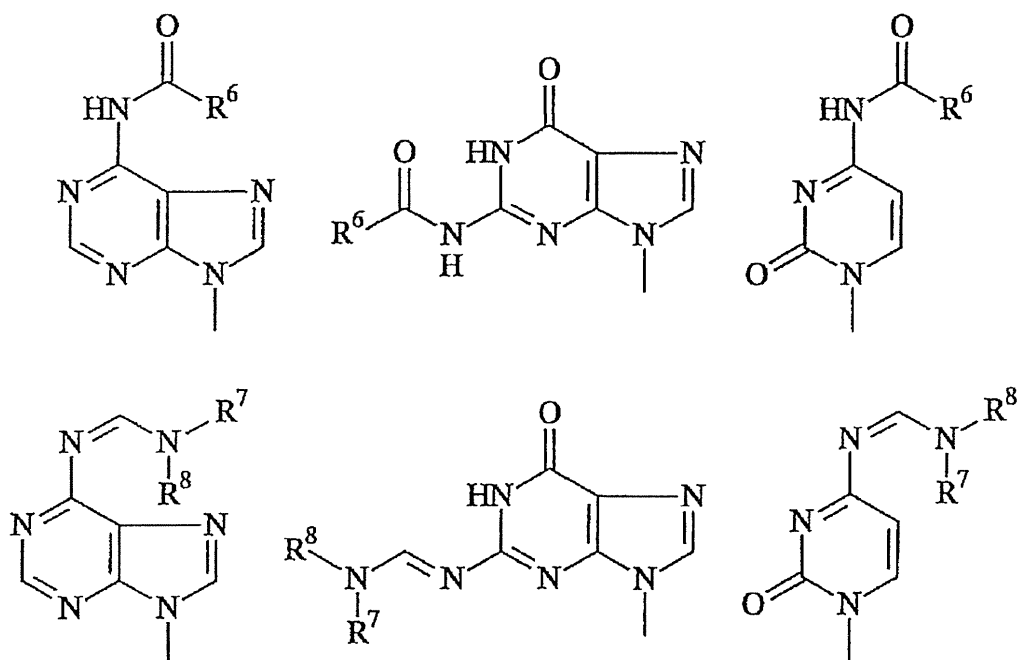
[各式中、 Y^+ はアンモニウムイオン、Bは前記と同じ意味を示し、各式中の2個のBは同一でも異なっても良い。]

【請求項 3】

式(I)中のBのアデニン、シトシン、グアニンのアミノ基を保護基で保護した誘導体が、下記式で表される化合物群から選ばれるいずれか1つの化合物である請求項2記載の立体規則性の高いジヌクレオシドホスホロチオエートの製造法。

30

【化 7】



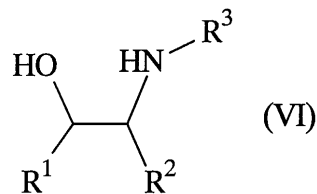
40

50

[式中、 R^6 は炭素数 1 ～ 15 のアルキル基、アリール基、アラルキル基、又はアリールオキシアルキル基を示し、 R^7 及び R^8 は、それぞれ炭素数 1 ～ 4 のアルキル基を示す。]

【請求項 4】

式 (I) で表される光学活性なヌクレオシド 3' - ホスホロアミダイトが、式 (VI) 【化 8】

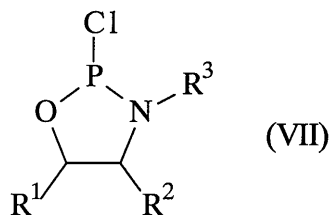


10

[式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 は前記と同じ意味を示す。]

で表される光学活性な 1, 2 - アミノアルコールを三塩化リンと反応させて得られる、式 (VII)

【化 9】

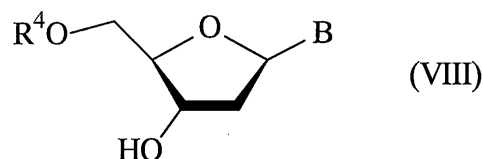


20

[式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 は前記と同じ意味を示す。]

で表される光学活性なホスフィチル化剤を、式 (VIII)

【化 10】



30

[式中、 R^4 及びBは前記と同じ意味を示す。]

で表されるヌクレオシドと反応させることにより得られるものである請求項 2 又は 3 記載の製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

この発明は、ジヌクレオシドホスホロチオエートの製造法に関し、更に詳しくは、立体制御された光学純度の高いジヌクレオシドホスホロチオエートの製造法に関するものである。

40

【0002】

【従来の技術及び発明が解決しようとする課題】

ジヌクレオシドホスホロチオエートは、近年、重要なアンチセンス薬として注目されており、更に多くの病気についても臨床試験が行われている。ジヌクレオシドホスホロチオエートは、リン原子上に不斉中心を有しており、その絶対立体配置の相違によりアンチセンス効果が異なる。また、近年の *in vitro* 研究では、ジヌクレオシドホスホロチオエートの性質として、例えば RNA との雑種形成能やヌクレアーゼ耐性、RNase H 能などはリン原子上のキラリティーに影響されることが報告されており (Med. Chem. Lett. 2000, 8, 275-284)、リン原子上の立体を制御したジヌクレオシドホスホロチオエートの効率的な

50

合成法が求められている。

【 0 0 0 3 】

しかし、従来、ジヌクレオシドホスホロチオエートは、ホスホロアミダイト法等により合成されており(Beaucage, S.L. ; Iyer, R. P. Tetrahedron, 1992, 48, 2223-2311)、これらの合成法では、リン原子上の立体制御を行うことは困難であったため、合成されたジヌクレオシドホスホロチオエートは、R体とS体のジアステレオマーの混合物であった。

【 0 0 0 4 】

本発明の課題は、リン原子上の立体を制御した、立体規則性の高いジヌクレオシドホスホロチオエートの効率的な合成法を提供することにある。

【 0 0 0 5 】

【課題を解決するための手段】

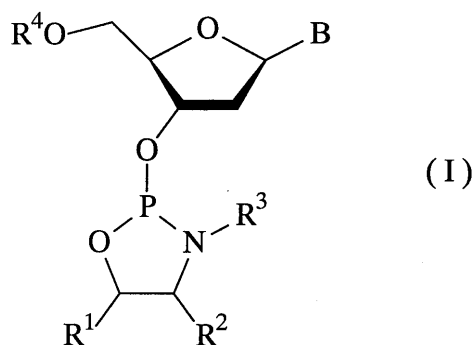
本発明者らは、上記の課題を解決するために、求核性のないアニオン種を有する新規活性化剤を用いた反応の開発を検討し、本発明を完成した。

【 0 0 0 6 】

即ち、本発明は、式 (I)

【 0 0 0 7 】

【化 9 】

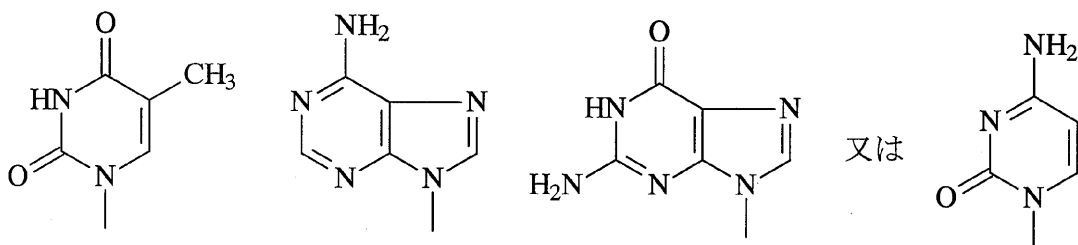


【 0 0 0 8 】

[式中、 R^1 及び R^2 は、同一又は異なって、水素原子、炭素数 1 ~ 3 のアルキル基又は炭素数 6 ~ 14 のアリール基、 R^3 は炭素数 1 ~ 3 のアルキル基、 R^4 は水酸基の保護基、B は式

【 0 0 0 9 】

【化 10 】



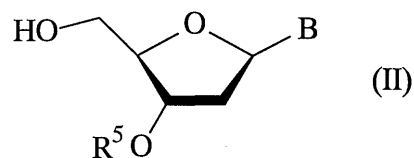
【 0 0 1 0 】

で表されるチミン、アデニン、シトシン、グアニンあるいはそれらの誘導体から誘導される基を示す。]

で表される光学活性なヌクレオシド 3' - ホスホロアミダイト (以下ホスホロアミダイト (I) という) と、式 (II)

【 0 0 1 1 】

【化 11 】



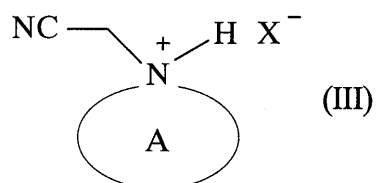
【 0 0 1 2 】

[式中、 R^5 は水酸基の保護基、 B は前記と同じ意味を示す。]
 で表されるヌクレオシド (以下ヌクレオシド(II)という) とを、式(III)

【 0 0 1 3 】

【 化 1 2 】

10



【 0 0 1 4 】

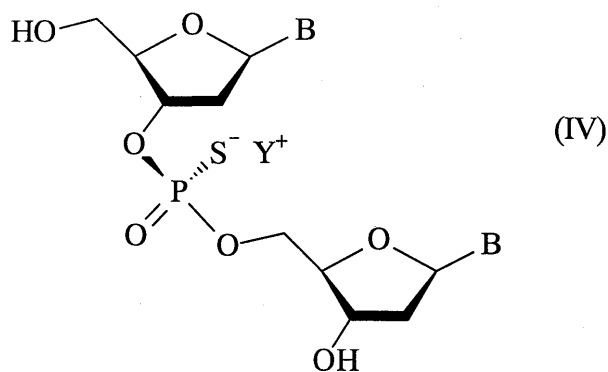
[式中、 X^- は BF_4^- 、 PF_6^- 、 TfO^- (Tf は CF_3SO_2- を示す。以下同じ)、 Tf_2N^- 、 AsF_6^- 又は SbF_6^- を示す。また、環状構造 A は窒素原子と共に形成する炭素数3～16のモノシクロ又はビシクロ構造を示す。]

20

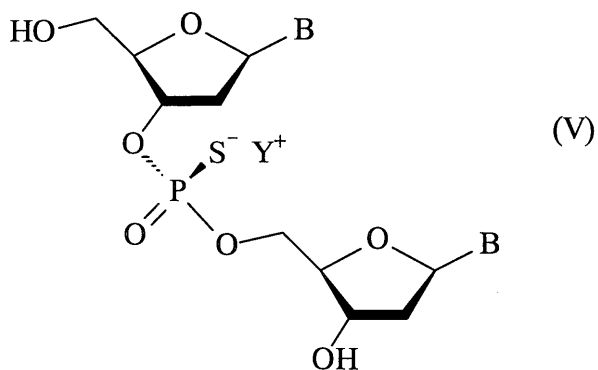
で表される活性化剤 (以下活性化剤(III)という) を用いて縮合した後、硫化及び脱保護を行うことを特徴とする、式(IV)又は(V)で表される立体規則性の高いジヌクレオシドホスホロチオエートの製造法を提供するものである。

【 0 0 1 5 】

【 化 1 3 】



30



40

50

【 0 0 1 6 】

[各式中、 Y^+ はアンモニウムイオン、 B は前記と同じ意味を示し、各式中の2個の B は同一でも異なっても良い。]

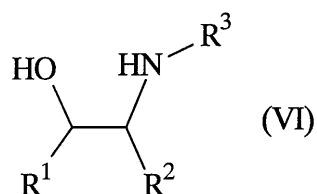
【 0 0 1 7 】

【発明の実施の形態】

ホスホロアミダイト(Ⅰ)は、適当な1, 2-アミノアルコールから公知の方法で合成することができる(Tetrahedron:Asymmetry, 1995, 6, 1051-1054)。例えば、式(VI)

【 0 0 1 8 】

【化14】



10

【 0 0 1 9 】

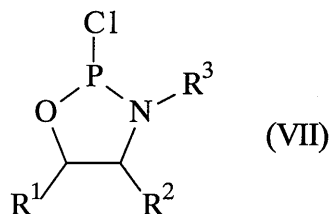
[式中、 R^1 及び R^2 は、同一又は異なって、水素原子、炭素数1～3のアルキル基又はアリール基、 R^3 は炭素数1～3のアルキル基を示す。]

で表される光学活性な1, 2-アミノアルコール(以下アミノアルコール(VI)という)を三塩化リンと反応させて得られる、式(VII)

20

【 0 0 2 0 】

【化15】



30

【 0 0 2 1 】

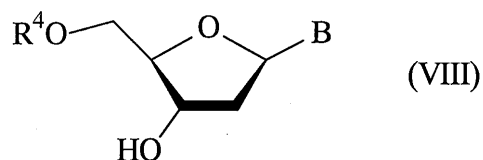
[式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 は前記と同じ意味を示す。]

で表される光学活性なホスフィチル化剤(以下ホスフィチル化剤(VII)という)を、式(VI)

II)

【 0 0 2 2 】

【化16】



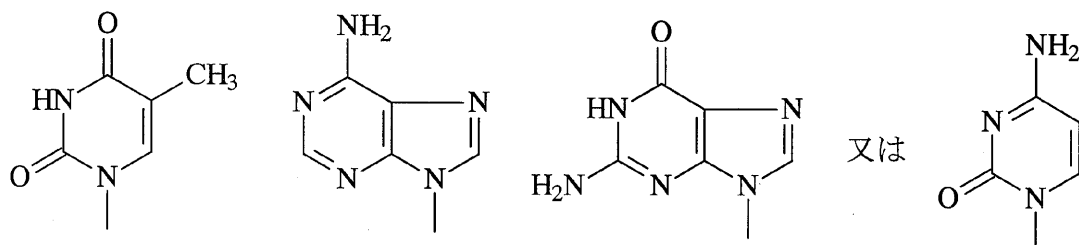
40

【 0 0 2 3 】

[式中、 R^4 は水酸基の保護基、 B は式

【 0 0 2 4 】

【化17】



【 0 0 2 5 】

で表されるチミン、アデニン、シトシン、グアニンあるいはそれらの誘導体から誘導される基を示す。]

10

で表されるヌクレオシド(以下ヌクレオシド(VIII)という)と反応させることにより得られる。

【 0 0 2 6 】

アミノアルコール(VI)としては、(S)-及び(R)-2-メチルアミノ-1-フェニルエタノール、(1R, 2S)-エフェドリン、(1R, 2S)-2-メチルアミノ-1, 2-ジフェニルエタノール等が挙げられる。

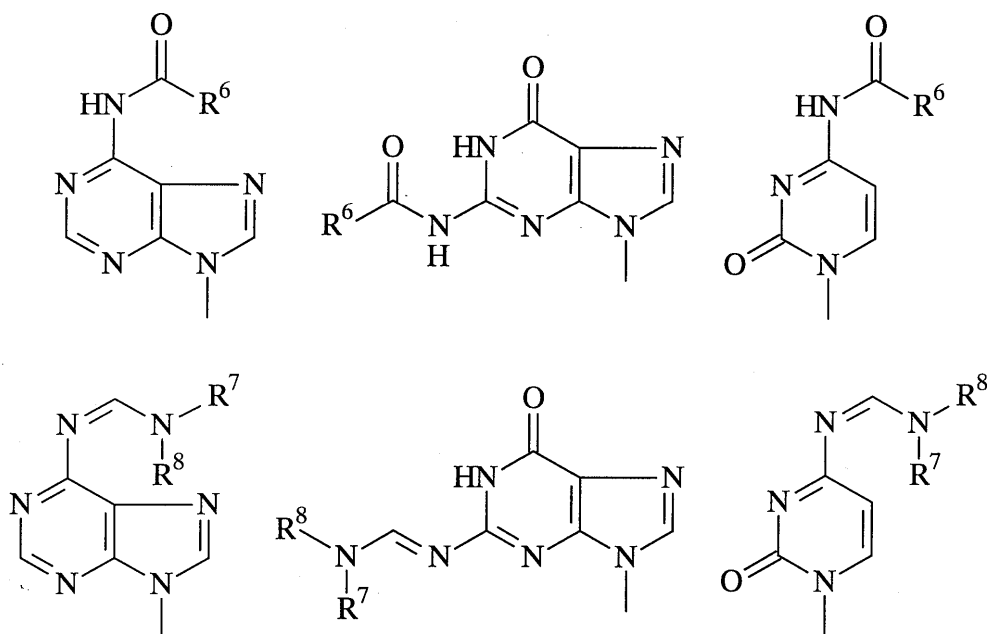
【 0 0 2 7 】

ヌクレオシド(VIII)において、Bはチミン、アデニン、シトシン又はグアニンあるいはそれらの誘導体から誘導される基を示すが、誘導体としては、アデニン、シトシン及びグアニンのアミノ基を保護基で保護したもの等が挙げられ、具体的には、下記式で表される化合物が挙げられる。

20

【 0 0 2 8 】

【 化 1 8 】



30

40

【 0 0 2 9 】

(式中、R⁶は炭素数1~15のアルキル基、アリール基、アラルキル基、アリールオキシアルキル基を示し、中でもメチル基、イソプロピル基、フェニル基、ベンジル基、フェノキシメチル基が好ましく、特にフェニル基が好ましい。また、R⁷及びR⁸は、それぞれ炭素数1~4のアルキル基を示し、特にメチル基が好ましい。)

ヌクレオシド(VIII)は、チミジン、アデノシン、シチジン、グアノシン又はそれらの誘導体の5'位の水酸基を、tert-ブチルジフェニルシリル基(TBDPS)、tert-ブチルジ

50

メチルシリル基 (TBDMS)、4,4'-ジメトキシトリチル基 (DMTr)、4-メトキシトリチル基 (MMTr) 等の保護基で保護したものである。

【0030】

上記のような方法で得られる、ホスホロアミダイト (I) において、 R^1 及び R^2 としては、 R^1 及び R^2 のいずれか一方が水素原子で他方がフェニル基、 R^1 及び R^2 のいずれか一方がメチル基で他方がフェニル基、あるいは R^1 及び R^2 が共にフェニル基の組み合わせが好ましく、 R^1 がフェニル基、 R^2 が水素原子の組み合わせが更に好ましい。 R^3 はメチル基が好ましい。 R^4 は TBDPS、TBDMS が好ましく、TBDPS が更に好ましい。

【0031】

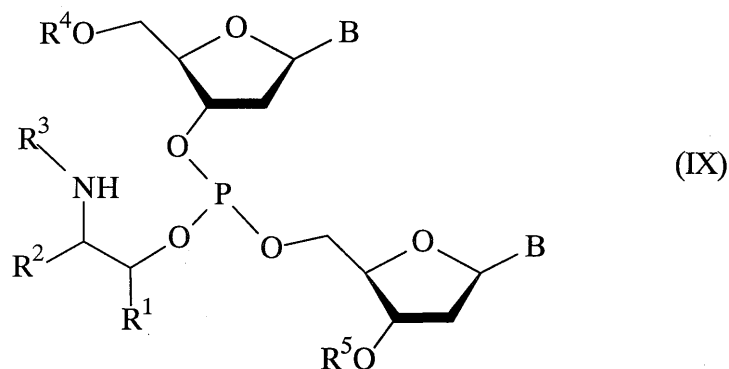
ヌクレオシド (II) は、チミジン、アデノシン、シチジン、グアノシン又はそれらの誘導体の3'位の水酸基を保護したものであり、Bで示されるチミン、アデニン、シトシン、グアニン又はそれらの誘導体から誘導される基は、ヌクレオシド (VIII) で例示したものが挙げられる。ヌクレオシド (II) とヌクレオシド (VIII) の B は、同一でも異なっても良い。 R^5 で示される水酸基の保護基としては、TBDPS、TBDMS、アセチル基 (Ac)、ベンジル基 (Bz)、DMTr、MMTr 等が挙げられ、TBDMS が好ましい。

【0032】

本発明の方法では、まず、ホスホロアミダイト (I) とヌクレオシド (II) とを、活性化剤 (III) の存在下で反応させて、式 (IX)

【0033】

【化19】



【0034】

[式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 及び B は前記と同じ意味を示す。]

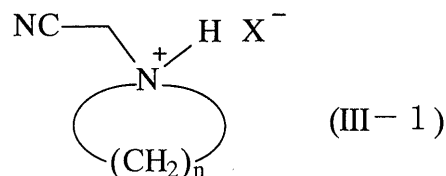
で表されるホスファイト (以下ホスファイト (IX) という) を得る。

【0035】

ここで用いる活性化剤 (III) は、ホスホロアミダイト (I) のチッソ原子に対するプロトン供給能力を有し、求核試薬としては働かないものである。活性化剤 (III) 中、 X^- としては、 BF_4^- 、 PF_6^- 、 TfO^- 、 Tf_2N^- が好ましい。また、環状構造 A は窒素原子と共に形成する炭素数 3 ~ 16 のモノシクロ又はビシクロ構造を示し、特に式 (III-1) で表されるモノシクロ構造を有するものが好ましい。

【0036】

【化20】

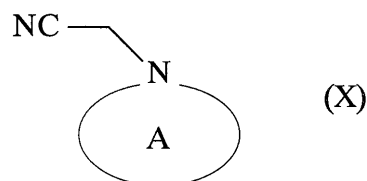


【0037】

(式中、X⁺は前記と同じ意味を示す。nは3～7の数を示し、4又は5が好ましい。) 活性化剤(III)は、式(X)

【0038】

【化21】



10

【0039】

(式中、環状構造Aは前記と同じ意味を示す。)

で表されるアミンと、式(XI)

H X (XI)

(式中、Xは前記の意味を示す。)

で表される化合物とを反応させることにより容易に得ることができる。活性化剤(III)は特にアセトニトリルに良い溶解性を示すので、ホスホロアミダイト(I)とヌクレオシド(II)の反応は、アセトニトリル等の溶媒中で行うのが好ましい。

【0040】

20

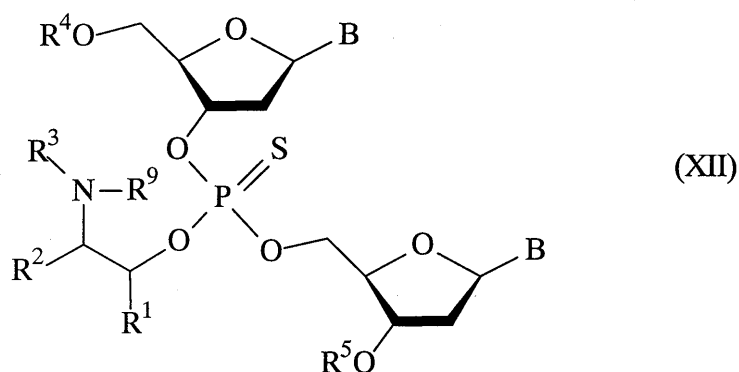
ホスホロアミダイト(I)とヌクレオシド(II)とは、ホスホロアミダイト(I)に対し、ヌクレオシド(II)を、0.5～1.0当量倍の割合で反応させることが好ましい。活性化剤(III)は、ホスホロアミダイト(I)に対し、1～5当量倍の割合で用いるのが好ましい。反応温度は0～40℃が好ましく、反応圧力は1気圧が好ましい。

【0041】

次に、得られたホスファイト(IX)を、無水酢酸等でN-アセチル化した後、硫化剤により硫化し、式(XII)

【0042】

【化22】



30

40

【0043】

[式中、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵及びBは前記と同じ意味を示し、R⁹はアセチル基を示す。]

で表される化合物(以下化合物(XII)という)を得る。硫化剤としては、硫黄、N, N, N', N'-テトラエチルチウラムジスルフィド、1, 2-ベンゾジチオール-3-オン-1, 1-ジオキシド(Beaucage試薬)等が挙げられ、Beaucage試薬が好ましい。

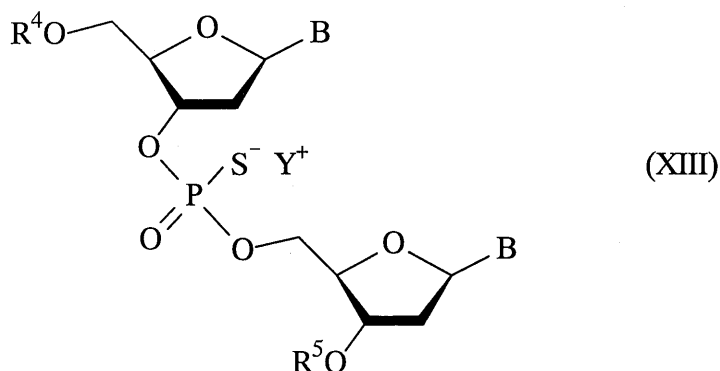
【0044】

硫化後、化合物(XII)のキラル補助物質を1, 8-ジアザビスクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン(DBU)等で処理して除き、式(XIII)

50

【 0 0 4 5 】

【 化 2 3 】



10

【 0 0 4 6 】

[式中、 R^4 、 R^5 、 B 及び Y^+ は前記と同じ意味を示す。]

で表される保護されたジヌクレオシドホスホロチオエートを得る。最後に、水酸基の保護基を、 $(CH_3CH_2)_3N \cdot 3HF$ 等で除き、式(IV)又は(V)で表される立体規則性の高いジヌクレオシドホスホロチオエートを得ることができる。

【 0 0 4 7 】

20

式(IV)、(V)又は(XIII)において、 Y^+ で表されるアンモニウムイオンとしては、 R_4N^+ (R は、水素原子又は炭素数1~3のアルキル基を示し、4個の R は、同一でも異なっても良い)で表されるアンモニウムイオン、又は1, 8 - ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エニウムイオン($HDBU^+$)等が挙げられる。

【 0 0 4 8 】

本発明の方法によると、立体制御された光学純度の高いジヌクレオシドホスホロチオエートを効率的に得ることができる。

【 0 0 4 9 】

【 実施例 】

例中の%は特記しない限り重量%である。

30

【 0 0 5 0 】

< 活性化剤(III-1)の合成例 >

合成例1-1: N - シアノメチルピロリジニウムテトラフルオロボレイトの合成

アルゴン雰囲気下、N - シアノメチルピロリジン 0.551 g (5.00 mmol) のエチルエーテル (5.00 ml) 溶液を -78 に冷却し、攪拌しつつ54%四フッ化硼素酸エチルエーテル溶液 0.689 ml (5.00 mmol) を滴下した。溶液を室温に戻した後、減圧下濃縮、乾燥し、残渣にエチルエーテル (5 ml) を加えて激しく攪拌し、シリンジを用いて溶媒を除去した。この洗浄操作を5回繰り返した後、真空乾燥し、目的物(式(III-1))において、 $n = 4$ 、 $X^- = BF_4^-$ の活性化剤) 0.990 g (5.00 mmol) を得た。収率定量的。白色粉末。潮解性大。

40

・融点: 113.0 ~ 114.0

・IR (KBr) $_{max}$: 2988, 2950, 2825, 2527, 2445, 1451, 1407, 1374, 1298, 1119, 929 cm^{-1}

・ 1H - NMR (300 MHz, CD_3CN) : 7.17(br, 1H), 4.30(s, 2H), 3.51(br, 4H), 2.13 ~ 2.08(m, 4H)

・ ^{13}C - NMR (75 MHz, CD_3CN) : 112.0, 55.9, 41.8, 23.2。

【 0 0 5 1 】

合成例1-2: N - シアノメチルピロリジニウムヘキサフルオロホスフェートの合成

61%ヘキサフルオロリン酸水溶液 1.20 g (5.00 mmol) に水 5.00 ml を加え、攪拌しつつN - シアノメチルピロリジン 0.551 g (5.00 mmol) を滴下した後、

50

溶液を凍結乾燥した。残渣にエチルエーテル (10 ml) を加え、激しく攪拌し、シリンジを用いて溶媒を除去した。この洗浄操作を3回繰り返した後、真空乾燥し、目的物 (式(I II-1)) において、 $n = 4$ 、 $X^- = PF_6^-$ の活性化剤) 1.28 g (5.00 mmol) を得た。収率定量的。白色粉末。潮解性大。

・融点: 56.0 ~ 57.0

・IR (KBr) \max : 2988, 2828, 2532, 2448, 1626, 1457, 1296, 1082, 987, 834 cm^{-1}

・ 1H -NMR (300 MHz, CD_3CN): 8.27(br, 1H), 4.24(s, 2H), 3.48(br, 4H), 2.12 ~ 2.08(m, 4H)

・ ^{13}C -NMR (75 MHz, CD_3CN): 112.1, 56.0, 42.1, 23.5

・ ^{31}P -NMR (121 MHz, CD_3CN): -146.0(septet, $^1J_{PF}=707Hz$)。 10

【0052】

合成例1-3: N - シアノメチルピロリジニウムトリフルオロメタンスルホネートの合成
N - シアノメチルピロリジン 0.551 g (5.00 mmol) のジクロロメタン (5.00 ml) 溶液を0 に冷却し、攪拌しつつトリフルオロメタンスルホン酸 0.442 ml (5.00 mmol) を滴下した後、エチルエーテル (10 ml) を加えた。生じた固体を吸引ろ過によって集め、エチルエーテル (1 ml \times 3) で洗浄した後、減圧下乾燥して、目的物 (式(I II-1)) において、 $n = 4$ 、 $X^- = TfO^-$ の活性化剤) 1.11 g (4.27 mmol) を得た。収率85%。白色粉末。潮解性小。

・融点: 67.0 ~ 67.5 20

・IR (KBr) \max : 2996, 2841, 2651, 2477, 2347, 2282, 1637, 1462, 1437, 1269, 1228, 1168, 1033, 985, 911, 849, 761, 641 cm^{-1}

・ 1H -NMR (300 MHz, CD_3CN): 8.16(br, 1H), 4.30(s, 2H), 3.50(br, 4H), 2.14 ~ 2.09(m, 4H)

・ ^{13}C -NMR (75 MHz, CD_3CN): 121.2(q, $^1J_{CF}=320Hz$), 55.9, 42.0, 23.5。

【0053】

合成例1-4: N - シアノメチルピペリジニウムテトラフルオロボレーートの合成
N - シアノメチルピペリジン 1.24 g (10.0 mmol) のジクロロメタン (10.0 ml) 溶液に対し、攪拌しつつ54%四フッ化硼素酸エチルエーテル溶液 1.38 ml (10.0 mmol) を滴下した。溶液をエチルエーテル (20 ml) で希釈し、生じた固体を吸引ろ過によって集め、エチルエーテル (10 ml \times 2) で洗浄した後、減圧下乾燥して、目的物 (式(I II-1)) において、 $n = 5$ 、 $X^- = BF_4^-$ の活性化剤) 2.01 g (9.48 mmol) を得た。収率95%。白色粉末。潮解性なし。

・融点: 103.0 ~ 103.5

・IR (KBr) \max : 3149, 2997, 2952, 2876, 2591, 2570, 2491, 2372, 1457, 1422, 1296, 1074, 980, 935, 850, 641 cm^{-1}

・ 1H -NMR (300 MHz, CD_3CN): 6.74(br, 1H), 4.22(s, 2H), 3.58(br, 2H), 3.15(br, 2H), 1.97 ~ 1.51(m, 6H)

・ ^{13}C -NMR (75 MHz, CD_3CN): 111.2, 54.6, 44.0, 23.0, 20.5。

【0054】

合成例1-5: N - シアノメチルピペリジニウムヘキサフルオロホスフェートの合成
61%ヘキサフルオロリン酸水溶液 1.20 g (5.00 mmol) に水 5.00 ml を加え、攪拌しつつN - シアノメチルピペリジン 0.621 g (5.00 mmol) を滴下した後、溶液を凍結乾燥した。残渣にジクロロメタン (5 ml)、エチルエーテル (10 ml) を加え、-78 に冷却し、激しく攪拌すると固体が生じたので、室温に昇温した後、シリンジを用いて溶媒を除去した。残渣にエチルエーテル (5 ml) を加え、激しく攪拌した後、シリンジを用いて溶媒を除去した。この洗浄操作を3回繰り返した後、真空乾燥し、目的物 (式(I II-1)) において、 $n = 5$ 、 $X^- = PF_6^-$ の活性化剤) 1.31 g (4.85 mmol) を得た。収率97%。白色粉末。潮解性大。

・融点: 54.0 ~ 55.0 50

- ・ I R (K B r) $_{\max}$: 2997, 2953, 2876, 2589, 2570, 2490, 2372, 1655, 1455, 1422, 1297, 1192, 1142, 1084, 1037, 981, 953, 837, 746 cm^{-1}
- ・ ^1H - N M R (300 MHz, CD_3CN) : 7.94(br,1H), 4.15(s,2H), 3.31(br,4H), 1.92~1.83(m,4H), 1.63(br,2H)
- ・ ^{13}C - N M R (75 MHz, CD_3CN) : 111.5, 54.5, 44.2, 23.1, 20.8
- ・ ^{31}P - N M R (121 MHz, CD_3CN) : -145.9(septet, $^1J_{\text{PF}}=707\text{Hz}$).

【 0 0 5 5 】

合成例1-6: N - シアノメチルピペリジニウムトリフルオロメタンスルホネートの合成
N - シアノメチルピペリジン 0.621 g (5.00 mmol) のジクロロメタン (5.00 ml) 溶液を 0 に冷却し、攪拌しつつトリフルオロメタンスルホン酸 0.442 ml (5.00 mmol) を滴下した。溶液を室温に昇温し、エチルエーテル (10 ml) を加えた後、固体を吸引ろ過によって集め、エチルエーテル (1 ml \times 3) で洗浄した後、減圧下乾燥して、目的物 (式(III-1)において、 $n = 5$ 、 $\text{X}^- = \text{TfO}^-$ の活性化剤) 1.37 g (5.00 mmol) を得た。収率定量的。白色粉末。潮解性小。

- ・ 融点 : 110.0 ~ 110.5
- ・ I R (K B r) $_{\max}$: 2999, 2723, 1460, 1289, 1226, 1168, 1083, 1027, 978, 936, 762, 641 cm^{-1}
- ・ ^1H - N M R (300 MHz, CD_3CN) : 8.12(br,1H), 4.19(s,2H), 3.58(br,2H), 3.09(br,2H), 2.21(br,4H), 1.50(br,1H)
- ・ ^{13}C - N M R (75 MHz, CD_3CN) : 120.9(q, $^1J_{\text{CF}}=319\text{Hz}$), 111.4, 54.5, 44.2, 23.0, 20.7.

【 0 0 5 6 】

< ホスフィチル化剤(VII)の合成 >

合成例2-1: (5 S) - 2 - クロロ - 3 - メチル - 5 - フェニル - 1, 3, 2 - オキサザホスホリジンの合成

(S) - 2 - メチルアミノ - 1 - フェニルエタノール 3.02 g (15.0 mmol)、トリエチルアミン 5.58 ml (40.0 mmol) のテトラヒドロフラン (T H F) (20.0 ml) 溶液を 0 に冷却した三塩化リン 1.75 ml (20.0 mmol) の T H F (20.0 ml) 溶液に対して、攪拌しつつ滴下し、温度を室温にして 30 分間攪拌した。生じた塩を、ガラスフィルターでアルゴン雰囲気下ろ過し、塩を T H F (10 ml \times 3) で洗浄した。ろ液を濃縮し、残渣を減圧下蒸留することにより、目的物 (式(VII)において、 $\text{R}^1 = \text{フェニル基}$ 、 $\text{R}^2 = \text{H}$ 、 $\text{R}^3 = \text{メチル基}$ である化合物の 5 S 体) 2.59 g (12.0 mmol) を得た。収率 60%。89 ~ 90 / 0.2 mmHg。無色透明液体。

- ・ ^1H - N M R (300 MHz, CDCl_3) : 7.54~7.34(m,5H), 5.83, 5.44(br,br,1H), 3.60~3.42(m,1H), 3.22~3.12(m,1H), 2.77(d, $^3J_{\text{HP}}=15.6\text{Hz}$, 3H)
- ・ ^{31}P - N M R (121 MHz, CDCl_3) : 172.4(br), 171.3(br).

【 0 0 5 7 】

合成例2-2: (5 R) - 2 - クロロ - 3 - メチル - 5 - フェニル - 1, 3, 2 - オキサザホスホリジンの合成

(R) - 2 - メチルアミノ - 1 - フェニルエタノール 2.27 g (15.0 mmol) を用い、合成例2-1と同様の手法により目的物 (式(VII)において、 $\text{R}^1 = \text{フェニル基}$ 、 $\text{R}^2 = \text{H}$ 、 $\text{R}^3 = \text{メチル基}$ である化合物の 5 R 体) を合成した。収率 65%。81 ~ 82 / 0.2 mmHg。無色透明液体。

- ・ ^1H - N M R (300 MHz, CDCl_3) : 7.55~7.35(m,5H), 5.84, 5.46(br,br,1H), 3.58~3.43(m,1H), 3.22~3.13(m,1H), 2.78(d, $^3J_{\text{HP}}=16.5\text{Hz}$, 3H)
- ・ ^{31}P - N M R (121 MHz, CDCl_3) : 172.4(br), 171.4(br)

合成例2-3: (2 R, 4 S, 5 R) - 2 - クロロ - 3 - メチル - 4, 5 - ジフェニル - 1, 3, 2 - オキサザホスホリジンの合成

(1 R, 2 S) - 2 - メチルアミノ - 1, 2 - ジフェニルエタノール 2.27 g (10.0 mmol)、トリエチルアミン 2.79 ml (20.0 mmol) の T H F (10.0 ml) 溶液を

、 0 に冷却した三塩化リン 0.872 ml (10.0 mmol) の THF (10.0 ml) 溶液に対して、攪拌しつつ滴下した後、1 時間加熱環流した。溶液を室温まで放冷し、生じた塩を、ガラスフィルターでアルゴン雰囲気下ろ過し、塩を THF (10 ml × 2) で洗浄した後、ろ液を減圧下濃縮して、目的物 (式 (VII) において、 R^1 = フェニル基、 R^2 = フェニル基、 R^3 = メチル基である化合物の 2 R, 4 S, 5 R 体) 3.17 g (10.0 mmol) を得た。収率定量的 (純度 92%)。乳白色固体。

・ ^1H - NMR (300 MHz, CDCl_3) : 7.08 ~ 7.05 (m, 6H), 6.91 ~ 6.81 (m, 4H), 6.15 (d, $^3J = 8.3\text{Hz}$, 1H), 4.64 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.3\text{Hz}$, $^3J_{\text{HP}} = 4.2\text{Hz}$, 1H), 2.64 (d, $^3J_{\text{HP}} = 15.3\text{Hz}$, 3H)

・ ^{31}P - NMR (121 MHz, CDCl_3) : 171.7。

【0058】

< ホスホロアミダイト (I) の合成 >

合成例 3-1: (2 S, 5 S) - 2 - (5' - O - tert - ブチルジフェニルシリルチミジン - 3' - イル) - 3 - メチル - 5 - フェニル - 1, 3, 2 - オキサアザホスホリジンの合成

5' - O - tert - ブチルジフェニルシリルチミジン 0.240 g (0.500 mmol) をピリジン (1 ml × 3)、トルエン (1 ml × 3) で共沸乾燥し、THF (2.50 ml) に溶かした後、ジイソプロピルエチルアミン 0.425 ml (2.50 mmol) を加え、-78 に冷却した。これに対し、合成例 2-1 で得られたホスフィチル化剤 0.119 g (0.552 mmol) の THF (0.500 ml) 溶液を滴下し、室温で 30 分間攪拌した。溶液をクロロホルム (15 ml) で希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (15 ml × 3) で洗浄した後、水相をクロロホルム (15 ml) で逆抽出した。集めた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥した後、減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン - 酢酸エチル - トリエチルアミン、50 : 50 : 3、v/v/v) によって精製することにより、目的物 (式 (I) において、 R^1 = フェニル基、 R^2 = H、 R^3 = メチル基、 R^4 = TBDPS である化合物の 2 S, 5 S 体) 0.257 g (0.390 mmol) を得た。収率 78%、白色粉末。

・ ^1H - NMR (300 MHz, CDCl_3) : 8.96 (br, 1H), 7.71 ~ 7.65 (m, 4H), 7.46 ~ 7.33 (m, 12H), 6.42 (dd, $^3J = 8.2, 5.6\text{Hz}$, 1H), 5.60 (dd, $^3J = 7.2, 7.2\text{Hz}$, 1H), 4.91 ~ 4.85 (m, 1H), 4.06 ~ 4.05 (m, 1H), 4.01 (dd, $^2J = 11.4\text{Hz}$, $^3J = 2.7\text{Hz}$, 1H), 3.86 (dd, $^2J = 11.4\text{Hz}$, $^3J = 2.7\text{Hz}$, 1H), 3.53 (ddd, $^2J = 9.0\text{Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 7.2\text{Hz}$, $^3J_{\text{HP}} = 3.3\text{Hz}$, 1H), 2.91 (dd, $^2J = 9.0\text{Hz}$, $^3J = 7.2\text{Hz}$, 1H), 2.71 (d, $^3J_{\text{HP}} = 12.0\text{Hz}$, 3H), 2.42 (ddd, $^2J = 13.5\text{Hz}$, $^3J = 5.6, 2.3\text{Hz}$, 1H), 2.20 (ddd, $^2J = 13.5\text{Hz}$, $^3J = 8.2, 6.3\text{Hz}$, 1H), 1.61 (s, 3H), 1.11 (s, 9H)

・ ^{13}C - NMR (75 MHz, CDCl_3) : 163.7, 150.4, 140.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 3.4\text{Hz}$), 135.5, 135.3, 135.1, 132.8, 132.3, 130.2, 130.0, 128.5, 128.1, 128.0, 128.0, 125.9, 111.3, 86.5 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.5\text{Hz}$), 84.3, 81.9 (d, $^2J_{\text{CP}} = 9.8\text{Hz}$), 72.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 14.9\text{Hz}$), 63.6, 57.0 (d, $^2J_{\text{CP}} = 4.9\text{Hz}$), 40.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 1.4\text{Hz}$), 31.8 (d, $^2J_{\text{CP}} = 22.7\text{Hz}$), 27.0, 19.4, 12.0

・ ^{31}P - NMR (121 MHz, CDCl_3) : 143.9。

【0059】

合成例 3-2: (2 R, 5 R) - 2 - (5' - O - tert - ブチルジフェニルシリルチミジン - 3' - イル) - 3 - メチル - 5 - フェニル - 1, 3, 2 - オキサアザホスホリジンの合成

5' - O - tert - ブチルジフェニルシリルチミジン 0.721 g (1.50 mmol) をピリジン (2 ml × 3)、トルエン (2 ml × 3) で共沸乾燥し、THF (5.00 ml) に溶かした後、ジイソプロピルエチルアミン 1.28 ml (7.53 mmol) を加え、-78 に冷却した。これに対し、合成例 2-2 で得られたホスフィチル化剤 0.356 g (1.65 mmol) の THF (3.00 ml) 溶液を滴下し、室温で 30 分間攪拌した。溶液をクロロホルム (30 ml) で希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (30 ml × 3) で洗浄した後、水相をクロロホルム (30 ml) で逆抽出した。集めた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥した後、減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン - 酢酸エチル - トリエチルアミン、50 : 50 : 3、v/v/v) によって精製することにより、目的物 (式 (

10

20

30

40

50

I)において、 R^1 = フェニル基、 R^2 = H、 R^3 = メチル基、 R^4 = T B D P Sである化合物の2 R, 5 R体) 0.735 g (1.11 mmol)を得た。収率74%。白色粉末。

・ ^1H - NMR (300 MHz, CDCl_3) : 9.00(br, 1H), 7.68~7.65(m, 4H), 7.49~7.32(m, 12H), 6.43(dd, $^3J=8.1, 5.8\text{Hz}$, 1H), 5.58(dd, $^3J=7.4, 7.4\text{Hz}$, 1H), 4.95~4.90(m, 1H), 4.05~4.04(m, 1H), 3.98(dd, $^2J=11.7\text{Hz}$, $^3J=2.3\text{Hz}$, 1H), 3.88(dd, $^2J=11.7\text{Hz}$, $^3J=2.3\text{Hz}$, 1H), 3.51(ddd, $^2J=8.6\text{Hz}$, $^3J_{\text{HH}}=7.4\text{Hz}$, $^3J_{\text{HP}}=3.5\text{Hz}$, 1H), 2.90(dd, $^2J=8.6\text{Hz}$, $^3J=7.4\text{Hz}$, 1H), 2.74(d, $^3J_{\text{HP}}=12.0\text{Hz}$, 3H), 2.44(ddd, $^2J=13.5\text{Hz}$, $^3J=5.8, 2.1\text{Hz}$, 1H), 2.24(ddd, $^2J=13.5\text{Hz}$, $^3J=8.1, 6.6\text{Hz}$, 1H), 1.59(s, 3H), 1.11(s, 9H)

・ ^{13}C - NMR (75 MHz, CDCl_3) : 163.8, 150.4, 140.3(d, $^3J_{\text{CP}}=3.2\text{Hz}$), 135.5, 135.2, 135.2, 132.9, 132.2, 130.1, 130.0, 128.5, 128.1, 128.0, 128.0, 125.8, 111.3, 86.4(d, $^2J_{\text{CP}}=2.0\text{Hz}$), 84.4, 81.8(d, $^2J_{\text{CP}}=9.8\text{Hz}$), 72.5(d, $^3J_{\text{CP}}=15.8\text{Hz}$), 63.5, 57.1(d, $^2J_{\text{CP}}=4.9\text{Hz}$), 40.4(d, $^3J_{\text{CP}}=4.9\text{Hz}$), 31.8(d, $^2J_{\text{P}}=23.0\text{Hz}$), 27.0, 19.4, 12.0

・ ^{31}P - NMR (121 MHz, CDCl_3) : 144.6。

【0060】

合成例3-3: (2 R, 4 S, 5 R) - 2 - (5' - O - tert - ブチルジフェニルシリルチミジン - 3' - イル) - 3 - メチル - 4, 5 - ジフェニル - 1, 3, 2 - オキサザホスホリジンの合成

5' - O - tert - ブチルジフェニルシリルチミジン 0.961 g (2.00 mmol) をピリジン (5 ml \times 3)、トルエン (5 ml \times 3) で共沸乾燥し、THF (5.00 ml) に溶かした後、ジイソプロピルエチルアミン 1.70 ml (10.0 mmol) を加え、-78 に冷却した。これに対し、合成例2-3で得られたホスフィチル化剤 0.875 g (3.00 mmol) のTHF (3.00 ml) 溶液を滴下し、室温で30分間攪拌した。溶液をクロロホルム (60 ml) で希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (60 ml \times 3) で洗浄した後、水相をクロロホルム (60 ml) で逆抽出した。集めた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥した後、減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン - 酢酸エチル - トリエチルアミン、67:33:2~0:100:2、v/v/v) によって精製することにより、目的物 (式 (I) において、 R^1 = フェニル基、 R^2 = フェニル基、 R^3 = メチル基、 R^4 = T B D P Sである化合物の2 R, 4 S, 5 R体) 1.41 g (1.92 mmol) を得た。収率96%。白色粉末。

・ ^1H - NMR (300 MHz, CDCl_3) : 7.99(br, 1H), 7.69~7.65(m, 4H), 7.50(d, $^4J=1.1\text{Hz}$, 1H), 7.44~7.32(m, 6H), 7.08~7.03(m, 6H), 6.91~6.88(m, 2H), 6.82~6.79(m, 2H), 6.45(dd, $^3J=8.5, 5.7\text{Hz}$, 1H), 5.88(d, $^3J=7.0\text{Hz}$, 1H), 5.06~5.01(m, 1H), 4.52(dd, $^3J=7.0, 2.3\text{Hz}$, 1H), 4.10~4.07(m, 1H), 3.98(dd, $^2J=11.8\text{Hz}$, $^3J=2.3\text{Hz}$, 1H), 3.91(dd, $^2J=11.8\text{Hz}$, $^3J=2.3\text{Hz}$, 1H), 2.60(d, $^3J_{\text{HP}}=11.1\text{Hz}$, 3H), 2.49(ddd, $^2J=13.4\text{Hz}$, $^3J=5.7, 2.1\text{Hz}$, 1H), 2.30(ddd, $^2J=13.4\text{Hz}$, $^3J=8.5, 6.3\text{Hz}$, 1H), 1.59(d, $^4J=1.1\text{Hz}$, 3H), 1.12(s, 9H)

・ ^{13}C - NMR (75 MHz, CDCl_3) : 163.7, 150.5, 137.0(d, $^3J_{\text{CP}}=3.7\text{Hz}$), 136.0(d, $^3J_{\text{CP}}=3.8\text{Hz}$), 135.5, 135.2, 135.2, 132.9, 132.2, 130.1, 130.0, 128.2, 128.0, 127.9, 127.7, 127.5, 127.3, 126.6, 111.3, 86.5(d, $^4J=1.7\text{Hz}$), 85.2(d, $^2J_{\text{CP}}=8.9\text{Hz}$), 84.4, 72.7(d, $^2J_{\text{CP}}=18.2\text{Hz}$), 68.8(d, $^3J_{\text{CP}}=4.9\text{Hz}$), 63.5, 40.5(d, $^3J_{\text{CP}}=4.8\text{Hz}$), 29.5(d, $^2J_{\text{CP}}=19.3\text{Hz}$), 27.0, 19.4, 12.0

・ ^{31}P - NMR (121 MHz, CDCl_3) : 142.3

<ジヌクレオシドホスホロチオエートの合成>

実施例1-1: トリエチルアンモニウム 5' - O - tert - ブチルジフェニルシリルチミジン - 3' - イル 3' - O - tert - ブチルジメチルシリルチミジン - 5' - イル ホスホロチオエートの合成

NMR サンプルチューブ中に、合成例3-3で得られた化合物 44.2 mg (60.1 μmol)、3' - O - tert - ブチルジメチルシリルチミジン 17.8 mg (49.9 μmol)、合成例1-4で得られた活性化剤 21.2 mg (100 μmol) を入れ、減圧下、五酸化ニリン上で12時間乾燥した。これに対し、アルゴン雰囲気下、アセトニトリル (0.400 ml) と、アセトニトリル - 3 d (0.100 ml) を加え、5時間後より、 ^{31}P - NMR (外部標

10

20

30

40

50

準、85%リン酸)による測定を開始した。その後、得られたホスファイト(式(IX)において、 R^1 =フェニル基、 R^2 =フェニル基、 R^3 =メチル基、 R^4 =TBDP S、 R^5 =TBDM Sである化合物)に対し、3H-1,2-ベンゾジチオール-3-オン 1,1-ジオキサイド 12.0mg (60.0 μ mol)を加え、3分後、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン 74.6 μ l (500 μ mol)を加え、50 で4時間放置した。室温に放冷後、クロロホルム(3ml)で希釈し、pH 7.0リン酸緩衝液(3ml)で洗浄し、水相をクロロホルム(3ml \times 2)で逆抽出した。集めた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、減圧下濃縮し、残渣を薄層クロマトグラフィー(ジクロロメタン中、メタノール1~4%、トリエチルアミン0.5%)で精製し、目的物(式(XIII)において、 R^4 =TBDP S、 R^5 =TBDM S、 Y^+ =トリエチルアンモニウムイオンである化合物のSp体)40.3mg (39.7 μ mol)を得た。収率80%。白色粉末。

10

1H -NMR (300MHz, CDCl₃) : 11.7(br, 1H), 9.12(br, 1H), 8.94(br, 1H), 7.80, 7.78(s, s, 1H), 7.72~7.66(m, 4H), 7.54, 7.50(s, s, 1H), 7.44~7.37(m, 6H), 6.43~6.33(m, 2H), 5.36~5.31(m, 1H), 4.54~4.51, 4.43~4.42(m, m, 1H), 4.36~4.34, 4.28~4.25(m, m, 1H), 4.17~3.91(m, 4H), 3.10(q, 3J =7.2Hz, 6H), 2.63, 2.50(dd, 2J =13.5Hz, 3J =4.8Hz, dd, 2J =12.5Hz, 3J =4.7Hz, 1H), 2.26~2.03(m, 3H), 1.99(s, 3H), 2.03~1.95(m, 2H), 1.56, 1.51(s, s, 3H), 1.33(t, 3J =7.2Hz, 9H), 1.09(s, 9H), 0.89, 0.87(s, s, 9H), 0.08, 0.06(s, s, 6H)

^{31}P -NMR (121MHz, CDCl₃) : 58.0(Rp, Sp)。

【0061】

20

実施例1-2: アンモニウム チミジン-3'-イル チミジン-5'-イル ホスホロチオエートの合成

実施例1-1で得られた化合物40.3mg (39.7 μ mol)をトリエチルアミントリヒドロフルオライド(0.400ml)に溶かし、室温で15時間放置した。これに対し、0.1M酢酸アンモニウム緩衝液(3ml)を加え、エチルエーテル(3ml \times 3)で洗浄し、有機相を0.1M酢酸アンモニウム緩衝液(3ml)で逆抽出した。集めた水相を減圧下濃縮し、残渣を逆相カラムクロマトグラフィー(0.1M酢酸アンモニウム緩衝液中アセトニトリル0~10%)で精製することにより目的物(式(IV)において、 $Y^+ = H_4N^+$ である化合物)を得た。収率70%。白色粉末。

1H -NMR (300MHz, D₂O) : 7.75(d, 4J =1.1Hz, 1H), 7.68(d, 4J =1.1Hz, 1H), 6.33(dd, 3J =6.9, 6.9Hz, 1H), 6.22(dd, 3J =6.5, 6.5Hz, 1H), 5.00~4.92(m, 1H), 4.63~4.59(m, 1H), 4.24~4.17(m, 4H), 3.89~3.77(m, 2H), 2.57(ddd, 2J =14.0Hz, 3J =6.5, 3.6Hz, 1H), 2.45~2.35(m, 3H), 1.93(d, 4J =1.1Hz, 3H), 1.89(d, 4J =1.1Hz, 3H)

30

^{31}P -NMR (121MHz, D₂O) : 55.6(Rp, 13%), 55.3(Sp, 87%)。

【0062】

実施例2: ^{31}P -NMRによる縮合反応の追跡

NMRサンプルチューブ中に、合成例3-2で得られた化合物33.0mg (50.0 μ mol)、3'-O-tert-ブチルジメチルシリルチミジン17.8mg (49.9 μ mol)を入れ、減圧下、五酸化ニリン上で12時間乾燥した。これに対し、モレキュラーシーブ3Aで8時間乾燥した、合成例1-1~1-6で得られた活性化剤(III)(100 μ mol)のアセトニトリル(0.400ml)溶液と、アセトニトリル-3d(0.100ml)を加え、縮合反応させ、ホスファイト(式(IX)において、 R^1 =フェニル基、 R^2 =H、 R^3 =メチル基、 R^4 =TBDP Sである化合物)を得た。反応物の化学シフトを ^{31}P -NMR(外部標準: 85%リン酸)により測定した。その結果を表1に示す。

40

【0063】

【表1】

合成例No.	活性化剤(III)		化学シフト d. r.
	$(\text{CH}_2)_n$	X^-	
1-1	$(\text{CH}_2)_4$	BF_4^-	96 : 4
1-2		PF_6^-	>99 : 1
1-3		TfO^-	>99 : 1
1-4	$(\text{CH}_2)_5$	BF_4^-	96 : 4
1-5		PF_6^-	97 : 3
1-6		TfO^-	99 : 1

10

【0064】

実施例3：(S)-1, 8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エニウム
5'-O-tert-ブチルジフェニルシリルチミジン-3'-イル 3'-O-tert-ブ
チルジメチルシリルチミジン-5'-イル ホスホロチオエートの合成

20

合成例3-2で得られた化合物39.6mg(60.0 μmol)、3'-O-tert-ブチルジメ
チルシリルチミジン17.8mg(49.9 μmol)を減圧下、五酸化ニリン上で12時間
乾燥し、モレキュラーシーブ3Aで8時間乾燥した、合成例1-3で得られた活性化剤(III)
26.0mg(100 μmol)のアセトニトリル(0.50ml)溶液を加え、室温で5分間
放置した。これに対し、ピリジン43.0 μl(500 μmol)、無水酢酸14.9 μl
(100 μmol)を加え、30秒放置した後、3H-1, 2-ベンゾジチオール-3-オン
1, 1-ジオキサイド12.0mg(60.0 μmol)を加え、更に3分後、1, 8-
ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン(DBU)74.6 μl(500 μmo
l)を加え、50 で30分間放置した。室温に放冷後、クロロホルム(3ml)で希釈し
、pH7.0リン酸緩衝液(3ml)で洗浄し、水相をクロロホルム(3ml×2)で逆抽出
した。集めた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、減圧下濃縮し、残渣を薄層クロ
マトグラフィー(ジクロロメタン中メタノール1~4%、トリエチルアミン0.5%)で
精製した。得られたトリエチルアミン塩を0.2M 1, 8-ジアザビシクロ[5.4.
0]ウンデカ-7-エニウム ビカーボネート緩衝液(3ml)で洗浄することにより、目
的物(式(XIII))において、 $\text{R}^4 = \text{TBDPS}$ 、 $\text{R}^5 = \text{TBDMS}$ 、 $\text{Y}^+ = \text{HDBU}^+$ である化
合物のSp体)50.4mg(47.2 μmol)を得た。収率95%。白色粉末。

30

・ ^1H -NMR(300MHz, CDCl_3) : 7.85(s, 1H), 7.73~7.67(m, 4H), 7.53(s, 1H
) , 7.44~7.36(m, 6H), 6.41~6.37(m, 2H), 5.36(dd, $^3\text{J}=9.0, 5.7\text{Hz}$, 1H), 4.52~4.47(m, 1H
) , 4.28~4.24(m, 1H), 4.16~4.10(m, 1H), 4.01~3.94(m, 4H), 2.84~2.77(m, 2H), 2.56
~2.10(m, 4H), 1.99(s, 3H), 2.02~1.93(m, 2H), 1.76~1.62(m, 6H), 1.55(s, 3H), 1.09(s
, 9H), 0.87(s, 9H), 0.06(s, 6H)

40

・ ^{31}P -NMR(121MHz, CDCl_3) : 57.4。

【0065】

実施例4：(R)-1, 8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エニウム
5'-O-tert-ブチルジフェニルシリルチミジン-3'-イル 3'-O-tert-ブ
チルジメチルシリルチミジン-5'-イル ホスホロチオエートの合成

合成例3-1で得られた化合物39.6mg(60.0 μmol)を用い、実施例3と同様の方法
により、目的物(式(XIII))において、 $\text{R}^4 = \text{TBDPS}$ 、 $\text{R}^5 = \text{TBDMS}$ 、 $\text{Y}^+ = \text{HDBU}^+$
である化合物のRp体)52.1mg(48.8 μmol)を得た。収率98%。

・ ^1H -NMR(300MHz, CDCl_3) : 7.95(s, 1H), 7.73~7.66(m, 4H), 7.52(s, 1H)

50

, 7.43~7.38(m,6H), 6.47~6.39(m,2H), 5.35(dd, $^3J=9.9, 5.4\text{Hz}$, 1H), 4.60~4.57(m,1H), 4.43~4.40(m,1H), 4.19~4.13(m,2H), 4.09(d, $^2J=11.1\text{Hz}$, 1H), 3.99(d, $^2J=11.1\text{Hz}$, 1H), 3.49~3.39(m,6H), 2.84~2.82(m,2H), 2.55~2.17(m,4H), 2.00(s,3H), 2.02~1.95(m,2H), 1.76~1.63(m,6H), 1.49(s,3H), 1.09(s,9H), 0.89(s,9H), 0.09(s,6H)
 • ^{31}P - NMR (121 MHz, CDCl_3) : 57.6.

【0066】

実施例5 : (S) - アンモニウム チミジン - 3' - イル チミジン - 5' - イル ホスホロチオエートの合成

実施例3で得られた化合物50.4 mg (47.2 μmol) をピリジン (1 ml \times 3)、トルエン (1 ml \times 3) で減圧下共沸乾燥し、トリエチルアミントリヒドロフルオリド0.500 mlを加えて室温で15時間放置した。これに対し、0.1 M 酢酸アンモニウム緩衝液 (3 ml) を加え、エチルエーテル (3 ml \times 3) で洗浄し、有機相を0.1 M 酢酸アンモニウム緩衝液 (3 ml) で逆抽出した。集めた水相を減圧下濃縮し、残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (0.1 M 酢酸アンモニウム緩衝液中アセトニトリル0~10%) で精製することにより、目的物 (式(IV)において、 $\text{Y}^+ = \text{H}_4\text{N}^+$ である化合物) 20.5 mg (35.4 mmol) を得た。収率75%。白色粉末。Rp : Sp = 0.5以下 : 99.5以上。逆相HPLCの結果を図1に示す。

• ^1H - NMR (300 MHz, D_2O) : 7.69(s,1H), 7.63(s,1H), 6.28(dd, $^3J=6.9, 6.9\text{Hz}$, 1H), 6.18(dd, $^3J=6.9, 6.9\text{Hz}$, 1H), 4.95~4.88(m,1H), 4.58~4.53(m,1H), 4.19~4.10(m,4H), 3.79(ddd, $^2J_{\text{HH}}=19.0\text{Hz}$, $^3J_{\text{HP}}=12.7\text{Hz}$, $^3J_{\text{HH}}=4.0\text{Hz}$, 2H), 2.52(ddd, $^2J=14.1\text{Hz}$, $^3J=6.0, 3.6\text{Hz}$, 1H), 2.40~2.31(m,3H), 1.88(s,3H), 1.84(s,3H)

• ^{31}P - NMR (121 MHz, D_2O) : 55.2.

【0067】

実施例6 : (R) - アンモニウムチミジン - 3' - イル チミジン - 5' - イル ホスホロチオエートの合成

実施例4で得られた化合物52.1 mg (48.8 μmol) を原料として用い、実施例5と同様の方法により目的物 (式(V)において、 $\text{Y}^+ = \text{H}_4\text{N}^+$ である化合物) 20.6 mg (35.5 μmol) を得た。収率73%。白色粉末。Rp : Sp = 99.5以上 : 0.5以下。逆相HPLCの結果を図2に示す。

• ^1H - NMR (300 MHz, D_2O) : 7.74(d, $^4J=1.4\text{Hz}$, 1H), 7.66(d, $^4J=1.4\text{Hz}$, 1H), 6.33(dd, $^3J=6.8, 6.8\text{Hz}$, 1H), 6.22(dd, $^3J=6.9, 6.9\text{Hz}$, 1H), 5.01~4.94(m,1H), 4.62~4.57(m,1H), 4.24~4.12(m,4H), 3.85(ddd, $^2J_{\text{HH}}=20.0\text{Hz}$, $^3J_{\text{HP}}=12.6\text{Hz}$, $^3J_{\text{HH}}=4.0\text{Hz}$, 2H), 2.57(dd, $^2J=12.0\text{Hz}$, $^3J=6.3, 3.9\text{Hz}$, 1H), 2.41~2.32(m,3H), 1.94(d, $^4J=1.4\text{Hz}$, 3H), 1.89(d, $^4J=1.4\text{Hz}$, 3H)

• ^{31}P - NMR (121 MHz, D_2O) : 55.6.

【0068】

< H - ホスホネート法を用いたチミジル酸二量体の合成 >

比較例1 : 1, 8 - ジアザピシクロ [5 . 4 . 0] ウンデカ - 7 - エニウム 5' - O - tert - ブチルジフェニルシリルチミジン - 3' - イル 3' - O - tert - ブチルジメチルシリルチミジン - 5' - イル ホスホロチオエートの合成

5' - O - tert - ブチルジフェニルシリルチミジン - 3' - イル H - ホスホネート 0.690 g (0.990 mmol)、3' - O - tert - ブチルジメチルシリルチミジン 0.321 g (0.990 mmol) をピリジン (2 ml \times 3) で減圧下共沸乾燥した後、ピリジン (10.0 ml) 溶液とした。これに対し、N, N' - ビス (2 - オキソ - 3 - オキサゾリジニル) ホスホニッククロライド (Bop - Cl) 0.458 g (1.80 mmol) を加え、室温で20分間攪拌した。ピリジンを減圧留去した後、クロロホルム (30 ml) で希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (30 ml \times 3) で洗浄し、クロロホルム (30 ml) で逆抽出した。集めた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去した。残渣をピリジン (2 ml \times 3) で減圧下共沸乾燥し、ピリジン (9.00 ml) に溶かした。これに対し、粉末状の硫黄 0.144 g (4.49 mmol) を加え、室温で2時間攪拌した。溶媒

を減圧留去し、残渣をクロロホルム (50 ml) に溶かして 1 M トリエチルアンモニウム
 ピカーボネート緩衝液 (50 ml) で洗浄し、水相をクロロホルム (50 ml × 2) で逆抽出
 した。集めた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧下濃縮した後、シリカゲルカラ
 ムクロマトグラフィー (ジクロロメタン中メタノール 0 ~ 3 %、トリエチルアミン 0 . 5
 %) で精製した。得られたトリエチルアンモニウム 5' - O - tert - ブチルジフェニル
 シリルチミジン - 3' - イル 3' - O - tert - ブチルジメチルシリルチミジン - 5'
 - イル ホスホロチオエートをクロロホルム (50 ml) に溶かし、0 . 2 M 1, 8 - ジ
 アザピシクロ [5 . 4 . 0] ウンデカ - 7 - エニウム ピカーボネート緩衝液 (50 ml)
 で洗浄し、水相をクロロホルム (50 ml × 2) で逆抽出した。有機相を無水硫酸ナトリウ
 ムで乾燥し、減圧下溶媒を留去することにより、目的物 (式 (XIII) において、 $R^4 = TB$
 $DP S$ 、 $R^5 = TB D M S$ 、 $Y^+ = H D B U^+$ である化合物) 0 . 9 0 1 g (0 . 8 4 4 mmol)
 l) を得た。収率 8 4 %。白色粉末。

10

・ 1H - NMR (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.94, 7.89(s, s, 1H), 7.73 ~ 7.66(m, 4H), 7
 .55, 7.52(s, s, 1H), 7.44 ~ 7.36(m, 6H), 6.47 ~ 6.36(m, 2H), 5.40 ~ 5.32(m, 1H), 4.59 ~ 4
 .56, 4.51 ~ 4.48(m, m, 1H), 4.42 ~ 4.40, 4.29 ~ 4.26(m, m, 1H), 4.19 ~ 3.95(m, 5H), 3.49
 ~ 3.39(m, 6H), 2.86 ~ 2.80(m, 2H), 2.63, 2.48(dd, $^2J=13.2$ Hz, $^3J=5.7$ Hz, dd, $^2J=13.4$ Hz, 3J
 $=5.3$ Hz, 1H), 2.27 ~ 2.10(m, 3H), 2.00(s, 3H), 2.03 ~ 1.95(m, 2H), 1.76 ~ 1.64(m, 6H), 1.
 55, 1.49(s, s, 3H), 1.09(s, 9H), 0.89, 0.87(s, s, 9H), 0.08, 0.06(s, s, 6H)
 ・ ^{31}P - NMR (121 MHz, $CDCl_3$) : 57.5(Rp, 46%), 57.3(Sp, 54%)。

【0069】

20

比較例 2 : アンモニウム チミジン - 3' - イル チミジン - 5' - イル ホスホロチオ
 エートの合成

比較例 1 で得られた化合物 40 . 2 mg (39 . 6 μ mol) をトリエチルアミントリヒドロ
 フルオライド 0 . 3 9 6 ml に溶かし、室温で 3 時間攪拌した後、水 1 ml を加え、逆相カラ
 ムクロマトグラフィー (0 . 1 M リン酸アンモニウム緩衝液中アセトニトリル 0 ~ 10 %
) で精製することにより、目的物 (式 (IV) 及び (V) において、 $Y^+ = H_4N^+$ である化合
 物の混合物) 15 . 7 mg (27 . 1 mmol) を得た。収率 6 8 %。白色粉末。Rp : Sp =
 4 1 : 5 9。逆相 HPLC の結果を図 3 に示す。

・ 1H - NMR (300 MHz, D_2O) : 6.73(s, 1H), 6.66(s, 1H), 6.31(dd, $^3J=6.6, 6.6$ H
 z, 1H), 6.21(dd, $^3J=6.6, 6.6$ Hz, 1H), 4.99 ~ 4.91(m, 1H), 4.63 ~ 4.56(m, 1H), 4.22 ~ 4.15(
 m, 4H), 3.89 ~ 3.76(m, 2H), 2.59 ~ 2.51(m, 1H), 2.43 ~ 2.34(m, 3H), 1.93, 1.91(s, s, 3H),
 1.87(s, 3H)

30

・ ^{31}P - NMR (121 MHz, D_2O) : 55.6(Rp, 42%), 55.2(Sp, 58%)

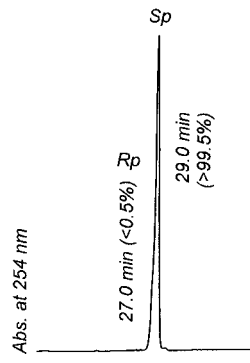
【図面の簡単な説明】

【図 1】 実施例 5 の逆相 HPLC の結果を示す図である。

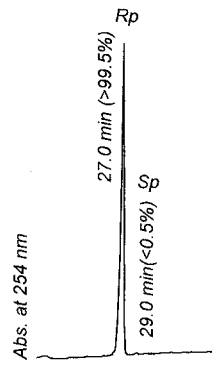
【図 2】 実施例 6 の逆相 HPLC の結果を示す図である。

【図 3】 比較例 2 の逆相 HPLC の結果を示す図である。

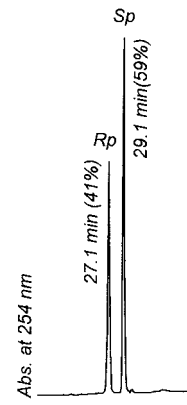
【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】



フロントページの続き

(72)発明者 和田 猛

千葉県柏市旭町4 - 1 1 - 4 2 - 3 0 1

(72)発明者 岡 夏央

千葉県流山市東初石2 - 9 2 - 2 3 - 1 0 2

審査官 三木 寛

(56)参考文献 米国特許第0 3 6 4 1 0 7 9 (U S , A)

特開平0 9 - 3 1 6 0 6 3 (J P , A)

Tetrahedron Asymmetry , 1 9 9 5 年 , Vol.6(5) , p.1051-1054

Journal of Organic Chemistry , 1 9 9 5 年 , Vol.60(17) , p.5388-5389

Journal of the American Chemical Society , 2 0 0 0 年 , Vol.122 , p.2149-2156

Tetrahedron , 1 9 9 2 年 , Vol.48 , p.2223-2311

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C07D 207/06

C07D 211/14

C07H 21/04

CA/REGISTRY(STN)