

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7115669号

(P7115669)

(45)発行日 令和4年8月9日(2022.8.9)

(24)登録日 令和4年8月1日(2022.8.1)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 H 19/11 (2006.01)

C 0 7 H 19/11

C S P

C 0 7 H 19/20 (2006.01)

C 0 7 H 19/20

C 0 7 H 21/04 (2006.01)

C 0 7 H 21/04

A

請求項の数 4 (全45頁)

(21)出願番号 特願2018-550265(P2018-550265)

(86)(22)出願日 平成29年11月9日(2017.11.9)

(86)国際出願番号 PCT/JP2017/040469

(87)国際公開番号 WO2018/088491

(87)国際公開日 平成30年5月17日(2018.5.17)

審査請求日 令和2年10月21日(2020.10.21)

(31)優先権主張番号 特願2016-221656(P2016-221656)

(32)優先日 平成28年11月14日(2016.11.14)

(33)優先権主張国・地域又は機関

日本国(JP)

(73)特許権者 000125370

学校法人東京理科大学

東京都新宿区神楽坂一丁目3番地

(74)代理人 100079049

弁理士 中島 淳

(74)代理人 100084995

弁理士 加藤 和詳

(74)代理人 100099025

弁理士 福田 浩志

(72)発明者 和田 猛

東京都新宿区神楽坂一丁目3番地 学校

法人東京理科大学内

(72)発明者 齋藤 竜也

東京都新宿区神楽坂一丁目3番地 学校

法人東京理科大学内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 重合性化合物、化合物、及び、ボラノホスフェートオリゴマーの製造方法

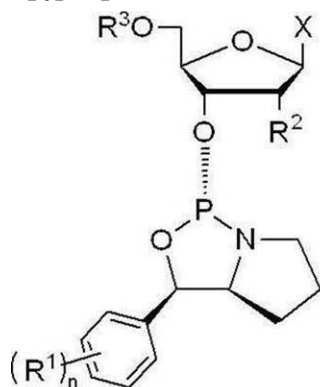
(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

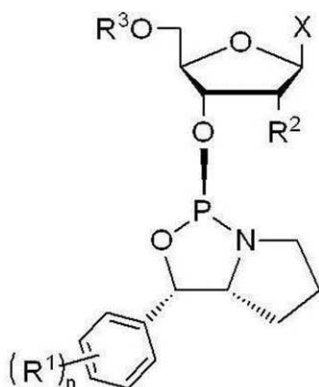
下記式A-1又は式A-2により表される

重合性核酸化合物。

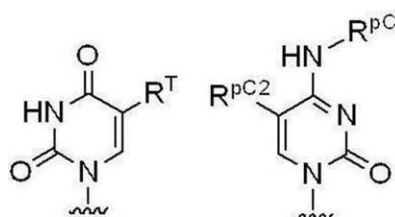
【化 1】



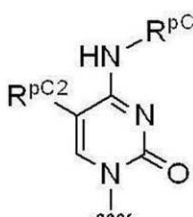
式A-1



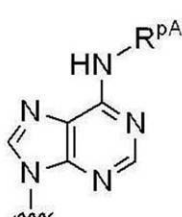
式A-2



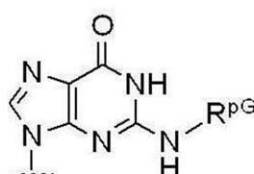
式B-1



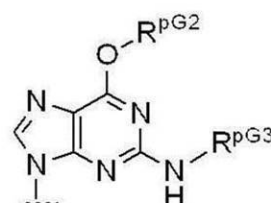
式B-2



式B-3



式B-4



式B-5

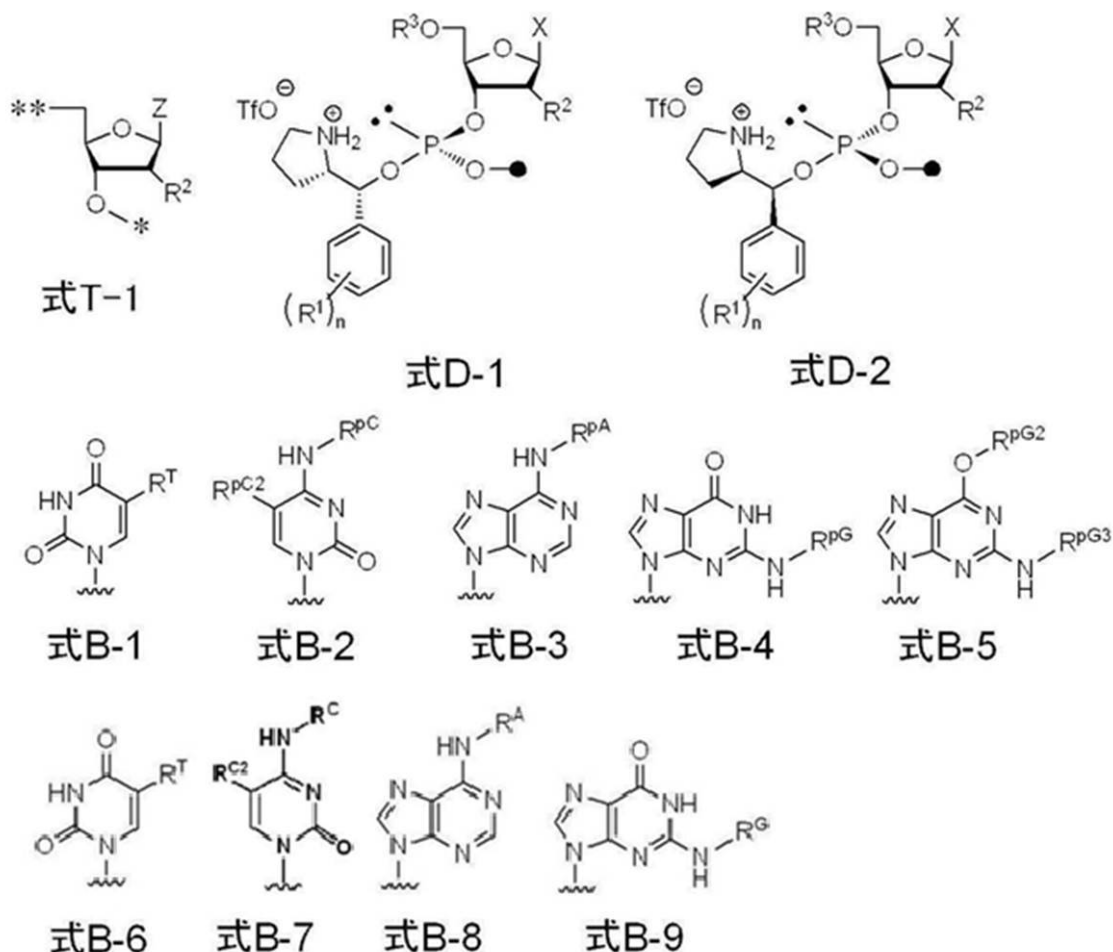
式A-1又は式A-2中、 R^1 はアルコキシ基、 $-N(R)^2$ 、ヒドロキシ基、アリール基、及びアルキル基からなる群から選択されるいずれかの電子供与性基を表し、 R^N はそれぞれ独立に、水素原子又は炭素数1～10のアルキル基を表し、 n は1～5の整数を表し、 R^2 は水素原子、フッ素原子、塩素原子、臭素原子及びヨウ素原子からなる群から選択されるいずれかのハロゲン原子又は $-OR^O$ を表し、 R^O は水素原子、アルキル基又はヒドロキシ基の保護基を表し、 R^3 は水素原子又はヒドロキシ基の保護基を表し、 X は式B-1～式B-5のいずれかにより表される構造を表し、式A-1又は式A-2中の R^O 及び R^3 がヒドロキシ基の保護基である場合には、ヒドロキシ基の保護基は、それぞれ独立にアセチル基、フェノキシアセチル基、ピバロイル基、ベンジル基、4-メトキシベンジル基、ベンゾイル基、トリフェニルメチル基、4,4'-ジメトキシトリチル(DMT r)基、4-メトキシトリチル(MMT r)基、9-フェニルキサントニル基、トリメチルシリル基、シアノメトキシメチル基、2-(シアノエトキシ)エチル基、及びシアノエトキシメチル基からなる群から選択されるいずれかである。

式B-1～式B-5中、 R^T は水素原子、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基を表し、 R^{pC} 、 R^{pA} 及び R^{pG} は、酸性条件下において除去される保護基を表し、 R^{pC2} は水素原子又はアルキル基を表し、 R^{pG2} は、アセチル基、フェノキシアセチル基、ピバロイル基、ベンジル基、4-メトキシベンジル基、ベンゾイル基、トリフェニルメチル基、4,4'-ジメトキシトリチル(DMT r)基、4-メトキシトリチル(MMT r)基、9-フェニルキサントニル基、トリメチルシリル基、トリメチルシリルエチル基、シアノメトキシメチル基、2-(シアノエトキシ)エチル基、及びシアノエトキシメチル基からなる群から選択されるいずれかの保護基を表し、 R^{pG3} は酸性条件下において除去される保護基又は水素原子を表し、波線部は他の構造との結合部位を表し、 R^{pC} 、 R^{pA} 、 R^{pG} 及び R^{pG3} が酸性条件下において除去される保護基である場合には、酸性条件下において除去される保護基は、それぞれ独立にtert-ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、4,4'-トリメトキシトリチル(TMT r)基、4,4'-ジメトキシトリチル(DMT r)基、4-メトキシトリチル(MMT r)基、又は、4-メトキシベンジルオキシカルボニル(MCBz)基からなる群から選択されるいずれかである。

【請求項 2】

下記式 T-1 により表される構成単位、及び、
下記式 D-1 又は D-2 により表される構成単位を含む
核酸重合物。

【化 2】



式 T-1 中、R² は水素原子、フッ素原子、塩素原子、臭素原子及びヨウ素原子からなる群から選択されるいずれかのハロゲン原子、又は -OR^o を表し、R^o は水素原子、アルキル基又はヒドロキシ基の保護基を表し、Z は式 B-6～式 B-9 のいずれかにより表される構造を表し、* は他の構成単位又は固相担体との結合部位を表し、** は他の構成単位との結合部位を表す。

式 D-1 又は D-2 中、R¹ はアルコキシ基、-NR^N₂、ヒドロキシ基、アリール基、及びアルキル基から選択される電子供与性基を表し、R^N はそれぞれ独立に、水素原子又は炭素数 1～10 のアルキル基を表し、n は 1～5 の整数を表し、R² は水素原子、フッ素原子、塩素原子、臭素原子及びヨウ素原子からなる群から選択されるいずれかのハロゲン原子、又は -OR^o を表し、R^o は水素原子、アルキル基又はヒドロキシ基の保護基を表し、R³ は水素原子又はヒドロキシ基の保護基を表し、X は式 B-1～式 B-5 のいずれかにより表される構造を表し、TfO⁻ はトリフラートアニオンを表し、● は他の構成単位との結合部位を表し、式 T-1 中の R^o、式 D-1 又は D-2 中の R^o 及び R³ がヒドロキシ基の保護基である場合には、ヒドロキシ基の保護基は、それぞれ独立にアセチル基、フェノキシアセチル基、ピバロイル基、ベンジル基、4-メトキシベンジル基、ベンゾイル基、トリフェニルメチル基、4,4'-ジメトキシトリチル (DMTr) 基、4-メトキシトリチル (MMTr) 基、9-フェニルキサンテンニル基、トリメチルシリル基、シアノメトキシメチル基、2-(シアノエトキシ)エチル基、及びシアノエトキシメチル基が

らなる群から選択されるいずれかである。

式B-1～式B-5中、 R^T は水素原子、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基を表し、 $R^P C$ 、 $R^P A$ 及び $R^P G$ は、酸性条件下において除去される保護基を表し、 $R^P C 2$ は水素原子又はアルキル基を表し、 $R^P G 2$ は、アセチル基、フェノキシアセチル基、ピバロイル基、ベンジル基、4-メトキシベンジル基、ベンゾイル基、トリフェニルメチル基、4,4'-ジメトキシトリチル(DMT r)基、4-メトキシトリチル(MMT r)基、9-フェニルキサンテニル基、トリメチルシリル基、トリメチルシリルエチル基、シアノメトキシメチル基、2-(シアノエトキシ)エチル基、及びシアノエトキシメチル基からなる群から選択されるいずれかの保護基を表し、 $R^P G 3$ は酸性条件下において除去される保護基又は水素原子を表し、波線部は他の構造との結合部位を表し、 $R^P C$ 、 $R^P A$ 、 $R^P G$ 及び $R^P G 3$ の酸性条件下において除去される保護基である場合には、酸性条件下において除去される保護基は、*tert*-ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、4,4'-トリメトキシトリチル(TMT r)基、4,4'-ジメトキシトリチル(DMT r)基、4-メトキシトリチル(MMT r)基、又は、4-メトキシベンジルオキシカルボニル(MCBz)基からなる群から選択されるいずれかである。

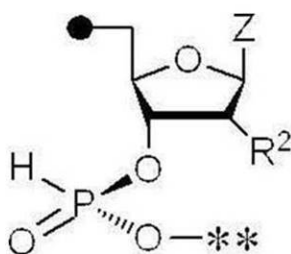
式B-6～式B-9中、 R^T は水素原子、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基を表し、 R^C 、 R^A 及び R^G は、水素原子を表し、 $R^C 2$ は水素原子又はアルキル基を表し、波線部は他の構造との結合部位を表す。

【請求項3】

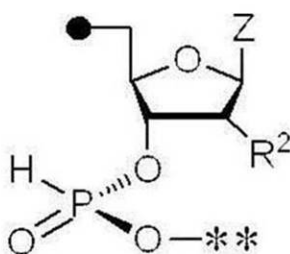
下記式C-1又は式C-2により表される構成単位のいずれか又は両方を更に含む、

請求項2に記載の核酸重合体

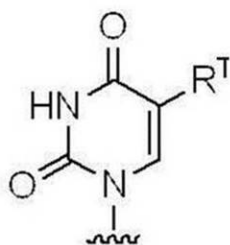
【化3】



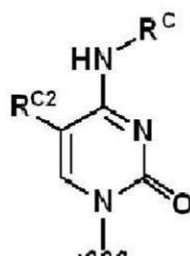
C-1



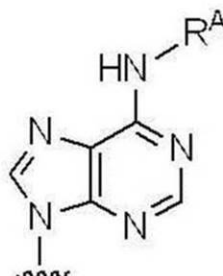
C-2



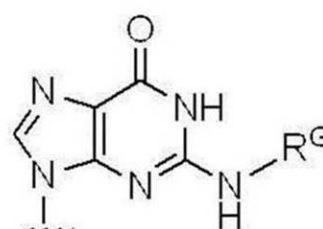
B-6



B-7



B-8



B-9

式C-1又は式C-2中、 R^2 は水素原子、フッ素原子、塩素原子、臭素原子及びヨウ素原子からなる群から選択されるいずれかのハロゲン原子又は-OR Oを表し、 R^O は水素原子、アルキル基又はヒドロキシ基の保護基を表し、前記ヒドロキシ基の保護基は、アセチル基、フェノキシアセチル基、ピバロイル基、ベンジル基、4-メトキシベンジル基、ベンゾイル基、トリフェニルメチル基、4,4'-ジメトキシトリチル(DMT r)基、4-メトキシトリチル(MMT r)基、9-フェニルキサンテニル基、トリメチルシリル

基、シアノメトキシメチル基、2-（シアノエトキシ）エチル基、及びシアノエトキシメチル基からなる群から選択されるいずれかであり、Zは式B-6～式B-9のいずれかにより表される構造を表し、**及び●は他の構成単位との結合部位を表す。

式B-6～式B-9中、RTは水素原子、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基を表し、RC、RA及びRGは水素原子を表し、RC2は水素原子又はアルキル基を表し、波線部は他の構造との結合部位を表す。

【請求項4】

請求項1に記載の重合性核酸化合物を縮合する工程を含む、ボラノホスフェートオリゴマーの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、重合性化合物、化合物、及び、ボラノホスフェートオリゴマーの製造方法に関する。

【背景技術】

【0002】

標的核酸と相補的な塩基配列を有するアンチセンス分子は、標的核酸と相補的な二重鎖を形成し、標的核酸からのタンパク質生成を阻害することができる。標的核酸として疾病関連遺伝子を選択した場合には、アンチセンス分子は、疾病関連遺伝子に直接働きかけるため、遺伝子治療に有効な医薬として注目されている。

【0003】

アンチセンス分子（核酸オリゴマー）は、標的となるタンパク質の生成を効率よく阻害する観点から主として、細胞膜透過性、ヌクレアーゼ耐性、体内（例えば、pH7.4の環境下）での化学的安定性、及び特定の塩基配列とのみ安定な二重鎖を形成する性質を有することが求められる。

アンチセンス分子としては、例えば、核酸オリゴマーのリン酸ジエステル構造のうち、少なくとも一部をホスホロチオエート結合に置換した構造を有するオリゴマー、核酸オリゴマーのリン酸ジエステル構造のうち、少なくとも一部をボラノホスフェート構造に置換した構造を有するオリゴマー（以下、「ボラノホスフェートオリゴマー」と称する）等が知られており、これまでに多くの広汎な研究例があり、医薬品としても実用化されている。

ボラノホスフェート構造とは、リン酸ジエステル構造における、非架橋酸素原子の一つをボラノ基（-BH₃）により置換した結合をいう。

ボラノホスフェートオリゴマーは、ヌクレアーゼ耐性が高く、高いRNAi（RNA interference）活性を有し、DNAよりもRNAに対する親和性が高く、タンパク質に対する非特異的相互作用が低く、ホウ素中性子捕捉療法（BNCT）への応用も可能であるという利点を有している。

【0004】

従来のボラノホスフェートオリゴマーの製造方法としては、J. AM. Chem. Soc. 1990, 112, 9000.、Tetrahedron Lett. 1997, 38, 4957.、J. AM. Chem. Soc. 1998, 120, 9417.、Tetrahedron Lett. 1998, 39, 3899.、T. Angew. Chem. Int. Ed. 2009, 48, 496-499、T. RSC Adv. 2015, 5, 2392-2395、及び、Tetrahedron Lett. 2012, 53, 4361-4364. に記載の方法が挙げられる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

ボラノホスフェートオリゴマーは、リン原子が不斉中心であるため、互いに性質の異なる二種類の立体異性体（Rp体、Sp体）であるモノマー単位を含有する。

そのため、これらの異性体を立体選択的に合成する手法の開発が求められている。

10

20

30

40

50

【0006】

J. AM. Chem. Soc. 1990, 112, 9000.、Tetrahedron Lett. 1997, 38, 4957.、J. AM. Chem. Soc. 1998, 120, 9417.、又は、Tetrahedron Lett. 1998, 39, 3899.に記載のボラノホスフェートオリゴマーの合成法においては、リン原子の立体制御ができないという問題点があった。

【0007】

T. Angew. Chem. INT. Ed. 2009, 48, 496-499、又は、T. RSC Adv. 2015, 5, 2392-2395に記載のボラノホスフェートオリゴマーの合成法は、リン原子の立体制御が可能となる点で有用であるが、リン原子のボラノ化の際に、保護基により保護された塩基部に副反応が起こるという問題点があった。

上述の副反応により、塩基としてチミン（T）構造又はウラシル（U）構造のみを有するヌクレオシドを含むボラノホスフェートオリゴマーの合成は可能であるが、アデニン（A）構造、シトシン（C）構造、又は、グアニン（G）構造のような、アミノ基（-NH₂）を有する塩基を有するヌクレオシドを含むボラノホスフェートオリゴマーの合成は困難であった。

【0008】

Tetrahedron Lett. 2012, 53, 4361-4364.に記載のボラノホスフェートオリゴマーの合成法においては、酸性条件下において、リン原子の不斉補助基と共に塩基部の保護基が除去される。

そのため、上述のボラノ化の際の塩基部の副反応が起こらず、チミン構造又はウラシル構造のみではなく、アデニン構造、シトシン構造、又は、グアニン構造といったアミノ基を有する塩基を有するヌクレオシドを含むボラノホスフェートオリゴマーを、立体選択的に合成することが可能である。

本開示において、ボラノホスフェートオリゴマーを立体選択的に合成するとは、上述の、リン原子を不斉中心とした二種類の立体異性体（R_p体又はS_p体）のいずれを含むかを、モノマー単位（リン酸ジエステル構造の非架橋酸素原子のうちの一つがボラノ基（-BH₃）に置換されたヌクレオチド単位）ごとに制御して合成することをいう。

ここで、Tetrahedron Lett. 2012, 53, 4361-4364.に記載のボラノホスフェートオリゴマーの合成法においては、酸性条件下における脱保護を可能とするため、前記不斉補助基が第三級炭素原子を有しており、不斉補助基による立体障害が大きい。

そのため、重合性化合物の反応性が低く、縮合反応の立体選択性も、例えば1～2%の程度で低下するという問題点があった。

上述の問題点により、Tetrahedron Lett. 2012, 53, 4361-4364.に係るボラノホスフェートオリゴマーの合成法によれば、例えば10量体以上といった長鎖オリゴマーの合成は困難であった。

【0009】

本発明者らは、鋭意検討した結果、本開示に係る重合性化合物は、反応性が高く、ヌクレオシドにおける塩基がアミノ基を有するか否かに関わらず、オリゴマー（例えば、ボラノホスフェートオリゴマー）の立体選択的な合成を可能とすることを見出した

本開示に係るモノマーは、上述の第三級炭素原子を有さず、立体障害が小さいため反応性が高く、例えば10量体以上の長鎖オリゴマーが合成可能であり、かつ、酸性条件下において、リン原子の不斉補助基と共に塩基部の保護基が除去されるため、ヌクレオシドにおける塩基がアミノ基を有するか否かにかかわらず、例えばDNAの合成であれば、A、T、C、Gの4種の各塩基種を自由に組み合わせたボラノホスフェートオリゴマーを、立体選択的に合成可能であると考えられる。

また、本開示に係る化合物は、ボラノホスフェートオリゴマーの合成中間体であり、新規な化合物である。

更に、本開示に係るボラノホスフェートオリゴマーの製造方法によれば、例えば10量

10

20

30

40

50

体以上の長鎖オリゴマーが合成可能であり、かつ、塩基がアミノ基を有するヌクレオシドを含む重合性化合物と、塩基がアミノ基を有しないヌクレオシドを含む重合性化合物とを自由に組み合わせたボラノホスフェートオリゴマーを、立体選択的に合成可能であることを見出した。

【0010】

本発明の一実施形態が解決しようとする課題は、反応性が高く、ヌクレオシドにおける塩基がアミノ基を有するか否かに関わらず、ボラノホスフェートオリゴマーの立体選択的な合成を可能とする重合性化合物を提供することである。

また、本発明の別の一実施形態が解決しようとする課題は、新規な化合物を提供することである。

更に、本発明の別の一実施形態が解決しようとする課題は、収率及び立体選択性が高く、ヌクレオシドにおける塩基がアミノ基を有するか否かに関わらず、ボラノホスフェートオリゴマーの立体選択的な合成を可能とするボラノホスフェートオリゴマーの製造方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0011】

上記課題を解決するための手段には、以下の態様が含まれる。

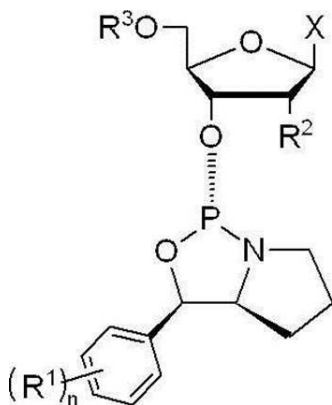
<1>

下記式A-1又は式A-2により表される

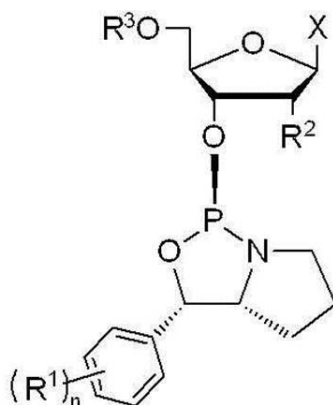
重合性化合物。

【0012】

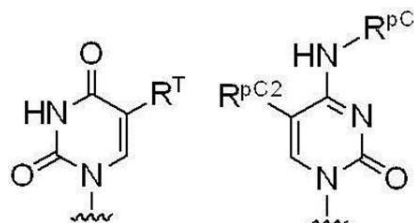
【化1】



式A-1



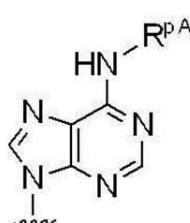
式A-2



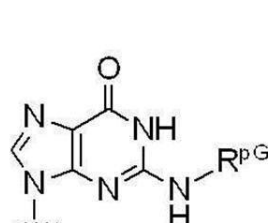
式B-1



式B-2



式B-3



式B-4



式B-5

【0013】

式A-1又は式A-2中、R¹は電子供与性基を表し、nは1～5の整数を表し、R²は水素原子、ハロゲン原子又は－OROを表し、R⁰は水素原子、アルキル基又はヒドロキシ基の保護基を表し、R³は水素原子又はヒドロキシ基の保護基を表し、Xは式B-1～式B-5のいずれかにより表される構造を表す。

式B-1～式B-5中、R^Tは水素原子、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル

基を表し、 R^{pC} 、 R^{pA} 及び R^{pG} は、酸性条件下において除去される保護基を表し、 R^{pC2} はアルキル基を表し、 R^{pG2} は保護基を表し、 R^{pG3} は酸性条件下において除去される保護基又は水素原子を表し、波線部は他の構造との結合部位を表す。

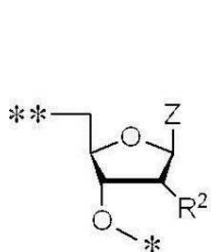
< 2 >

下記式 T-1 により表される構成単位、及び、

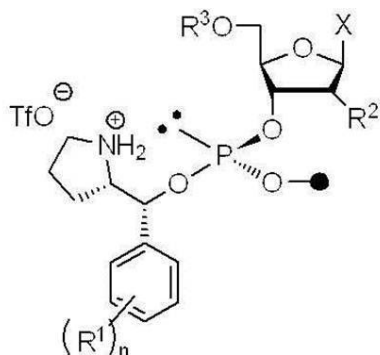
下記式 D-1 又は D-2 により表される構成単位を含む化合物。

【0014】

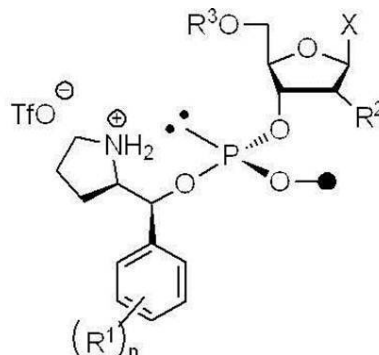
【化2】



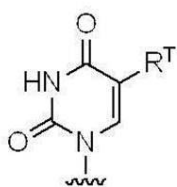
式T-1



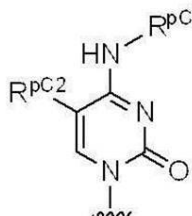
式D-1



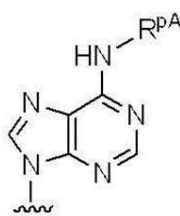
式D-2



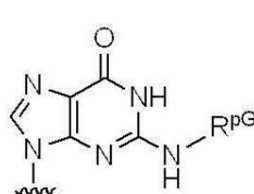
式B-1



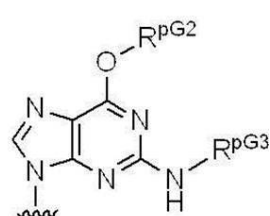
式B-2



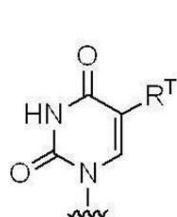
式B-3



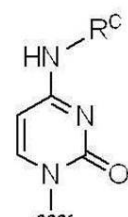
式B-4



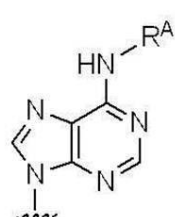
式B-5



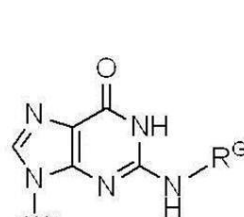
式B-6



式B-7



式B-8



式B-9

【0015】

式 T-1 中、 R^2 は水素原子、ハロゲン原子、又は $-OR^3$ を表し、 R^3 は水素原子、アルキル基又はヒドロキシ基の保護基を表し、 Z は式 B-6～式 B-9 のいずれかにより表される構造を表し、 $*$ 及び $**$ は他の構造との結合部位を表す。

式 D-1 又は D-2 中、 R^1 は電子供与性基を表し、 n は 1～5 の整数を表し、 R^2 は水素原子、ハロゲン原子、又は $-OR^3$ を表し、 R^3 は水素原子、アルキル基又はヒドロキシ基の保護基を表し、 R^3 は水素原子又はヒドロキシ基の保護基を表し、 X は式 B-1～式 B-5 のいずれかにより表される構造を表し、 TfO^- はトリフレートアニオンを表し、 $\bullet$ は他の構造との結合部位を表す。

式 B-1～式 B-5 中、 R^T は水素原子、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基を表し、 R^{pC} 、 R^{pA} 及び R^{pG} は、酸性条件下において除去される保護基を表し、 R^{pC2} はアルキル基を表し、 R^{pG2} は保護基を表し、 R^{pG3} は酸性条件下において除去される保護基又は水素原子を表し、波線部は他の構造との結合部位を表す。

式B-6～式B-9中、 R^T は水素原子、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基を表し、 R^C 、 R^A 及び R^G は、水素原子を表し、波線部は他の構造との結合部位を表す。

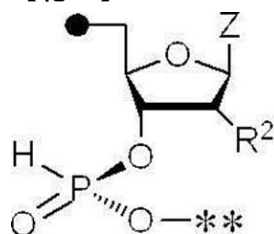
< 3 >

下記式C-1又は式C-2により表される構成単位のいずれか又は両方を更に含む、

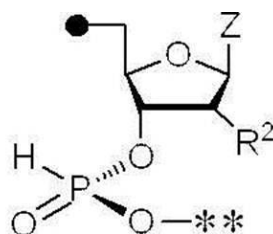
< 2 >に記載の化合物

【0016】

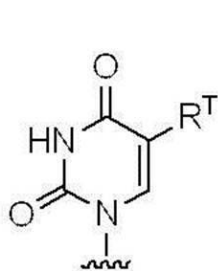
【化3】



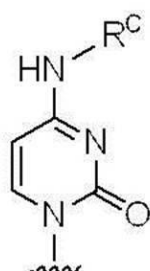
式C-1



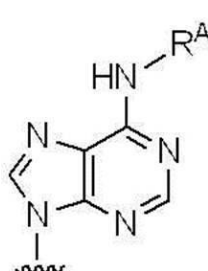
式C-2



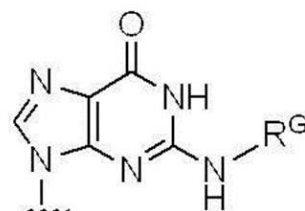
式B-6



式B-7



式B-8



式B-9

【0017】

式C-1又は式C-2中、 R^2 は水素原子、ハロゲン原子又は $-OR^O$ を表し、 R^O は水素原子、アルキル基又はヒドロキシ基の保護基を表し、Zは式B-6～式B-9のいずれかにより表される構造を表し、**及び●は他の構造との結合部位を表す。

式B-6～式B-9中、 R^T は水素原子、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基を表し、 R^C 、 R^A 及び R^G は、水素原子を表し、波線部は他の構造との結合部位を表す。

< 4 >

< 1 >に記載の重合性化合物を縮合する工程を含む、ボラノホスフェートオリゴマーの製造方法。

【発明の効果】

【0018】

本発明の一実施形態によれば、反応性が高く、ヌクレオシドにおける塩基がアミノ基を有するか否かに関わらず、オリゴマーの立体選択的な合成を可能とする重合性化合物を提供することができる。

また、本発明の別の一実施形態によれば、新規な化合物を提供することである。

更に、本発明の別の一実施形態によれば、立体選択性及び収率が高く、ヌクレオシドにおける塩基がアミノ基を有するか否かに関わらず、ボラノホスフェートオリゴマーの立体選択的な合成を可能とするボラノホスフェートオリゴマーの製造方法を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図1】 (A) $(Rp)-TBT$ [(Rp)-24a] の合成反応液 (クルード) 及び

(B) (Sp) - T_BT [(Sp) - 24a] の合成反応液 (クルード) の逆相 HPLC の結果を示す HPLC チャートである。

【図2】 (C) (Rp) - d C_BT [(Rp) - 24b] の合成反応液 (クルード) 及び (D) (Sp) - d C_BT [(Sp) - 24b] の合成反応液 (クルード) の逆相 HPLC の結果を示す HPLC チャートである。

【図3】 (E) (Rp) - d A_BT [(Rp) - 24c] の合成反応液 (クルード) 及び (D) (Sp) - d A_BT [(Sp) - 24c] の合成反応液 (クルード) の逆相 HPLC の結果を示す HPLC チャートである。

【図4】 (G) (Rp) - d A_BT [(Rp) - 24c] の合成反応液 (クルード) 及び (H) (Sp) - d A_BT [(Sp) - 24c] の合成反応液 (クルード) の逆相 HPLC の結果を示す HPLC チャートである。

10

【図5】 (I) (Rp) - d G_BT [(Rp) - 24d] の合成反応液 (クルード) 及び (J) (Sp) - d G_BT [(Sp) - 24d] の合成反応液 (クルード) の逆相 HPLC の結果を示す HPLC チャートである。

【図6】 (K) a l l - (Rp) - d (C_BA_BG_BT) [25] の合成反応液 (クルード) 及び (L) a l l - (Sp) - d (C_BA_BG_BT) [26] の合成反応液 (クルード) の逆相 HPLC の結果を示す HPLC チャートである。

【図7】 (M) a l l - (Rp) - d (C_BA_BG_BT) [25] の精製物及び (N) a l l - (Sp) - d (C_BA_BG_BT) [26] の精製物の逆相 HPLC の結果を示す HPLC チャートである。

20

【図8】 (O) a l l - (Sp) - d (G_BT_B (A_BC_BT_B)₃T) [27] の合成反応液 (クルード) 及び (P) a l l - (Sp) - d (G_BT_B (A_BC_BT_B)₃T) [27] の精製物の逆相 HPLC の結果を示す HPLC チャートである。

【図9】 (Q) a l l - (Sp) - d (C_BA_BG_BT_B)₂ (C_BA_BG_B) T [28] の合成反応液 (クルード) 及び (R) a l l - (Rp) - d (C_BA_BG_BT_B)₂ (C_BA_BG_B) T [29] の合成反応液 (クルード) の逆相 HPLC の結果を示す HPLC チャートである。

【発明を実施するための形態】

【0020】

以下、本開示について詳細に説明する。

30

なお、本明細書中、「x x ~ y y」の記載は、x x 及び y y を含む数値範囲を表す。

また、本開示において、「質量%」と「重量%」とは同義であり、「質量部」と「重量部」とは同義である。

また、本開示において、2 以上の好ましい態様の組み合わせは、より好ましい態様である。

本明細書において、式で表される化合物における基の表記に関して、置換あるいは無置換を記していない場合、上記基が更に置換基を有することが可能な場合には、他に特に規定がない限り、無置換の基のみならず置換基を有する基も包含する。例えば、式において、「R はアルキル基を表す」との記載があれば、「R は無置換アルキル基又は置換基を有するアルキル基を表す」ことを意味する。

40

本明細書において「工程」との語は、独立した工程だけでなく、他の工程と明確に区別できない場合であっても工程の所期の目的が達成されれば、本用語に含まれる。

以下、本開示を詳細に説明する。

【0021】

(重合性化合物)

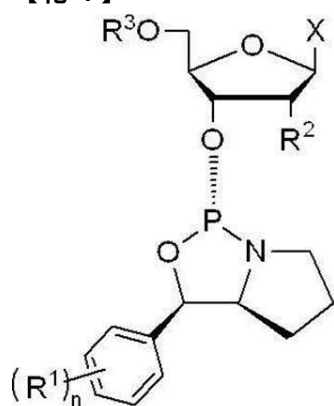
本開示に係る重合性化合物は、下記式 A - 1 又は式 A - 2 により表される化合物である。

本開示に係る重合性化合物は、ボラノホスフェートオリゴマー形成用重合性化合物であることが好ましい。

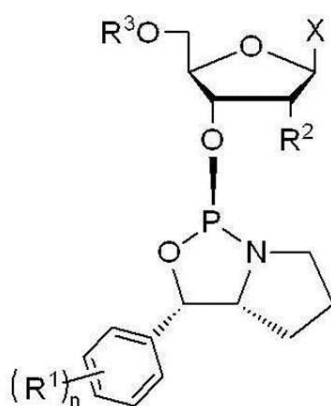
【0022】

50

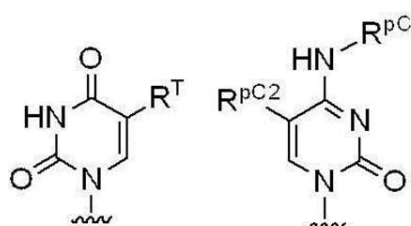
【化 4】



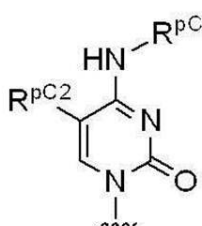
式A-1



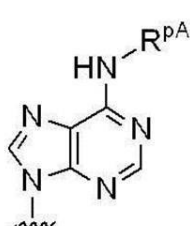
式A-2



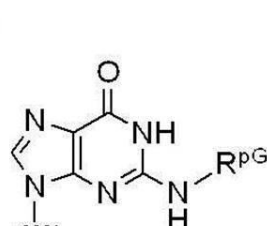
式B-1



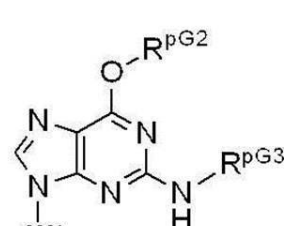
式B-2



式B-3



式B-4



式B-5

【0023】

式A-1又は式A-2中、R¹は電子供与性基を表し、nは1～5の整数を表し、R²は水素原子、ハロゲン原子又は－OR⁰を表し、R⁰は水素原子、アルキル基又はヒドロキシ基の保護基を表し、R³は水素原子又はヒドロキシ基の保護基を表し、Xは式B-1～式B-5のいずれかにより表される構造を表す。

式B-1～式B-5中、R^Tは水素原子、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基を表し、R^{pC}、R^{pA}及びR^{pG}は、酸性条件下において除去される保護基を表し、R^{pC2}はアルキル基を表し、R^{pG2}は保護基を表し、R^{pG3}は酸性条件下において除去される保護基又は水素原子を表し、波線部は他の構造との結合部位を表す。

【0024】

式A-1又は式A-2中、R¹は電子供与性基を表し、アルコキシ基、－NR^N₂、ヒドロキシ基、アリール基、又は、アルキル基が好ましく、アルコキシ基がより好ましく、炭素数1～4のアルコキシ基が更に好ましく、メトキシ基が特に好ましい。

R^Nはそれぞれ独立に、水素原子又は炭素数1～10のアルキル基を表す。

式A-1又は式A-2中、nは1～5の整数を表し、1～3の整数であることが好ましく、1であることがより好ましい。

nが2以上である場合、複数のR¹は同一であってもよいし、互いに異なっていてもよい。

式A-1又は式A-2中、R²は水素原子、ハロゲン原子又は－OR⁰を表す。

R²におけるハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子及びヨウ素原子が挙げられ、フッ素原子が好ましい。

R⁰は水素原子、アルキル基、又は、ヒドロキシ基の保護基を表し、ヒドロキシ基の保護基としては、例えば、RNA又はその誘導体の合成において通常用いられるリボース構造の2位のヒドロキシ基の保護に用いられる保護基として従来公知の保護基を使用することが可能であり、Greenら、Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Edition, 1999, John Wiley & Sons, Inc.等の成書に記載の保護基を参照することもでき、例えば、アセチル基

10

20

30

40

50

、フェノキシアセチル基、ピバロイル基、ベンジル基、4-メトキシベンジル基、ベンゾイル基、トリフェニルメチル基、4, 4'-ジメトキシトリチル (DMTr) 基、4-メトキシトリチル (MMTr) 基、9-フェニルキサンテニル基、トリメチルシリル基、シアノメトキシメチル基、2-(シアノエトキシ) エチル基、シアノエトキシメチル基が挙げられ、好ましくは4, 4'-ジメトキシトリチル (DMTr) 基が挙げられる。

R³は水素原子又はヒドロキシ基の保護基を表し、ヒドロキシ基の保護基としては、Greenら、Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Edition, 1999, John Wiley & Sons, Inc. 等の成書に記載の保護基を参照することができ、例えば、アセチル基、フェノキシアセチル基、ピバロイル基、ベンジル基、4-メトキシベンジル基、ベンゾイル基、トリフェニルメチル基、4, 4'-ジメトキシトリチル (DMTr) 基、4-メトキシトリチル (MMTr) 基、9-フェニルキサンテニル基、トリメチルシリル基、シアノメトキシメチル基、2-(シアノエトキシ) エチル基、シアノエトキシメチル基が挙げられ、好ましくは4, 4'-ジメトキシトリチル (DMTr) 基が挙げられる。

【0025】

式A-1又は式A-2中、Xは式B-1～式B-5のいずれかにより表される構造を表し、式B-1がチミン構造又はウラシル構造に、式B-2がシトシン構造に、式B-3がアデニン構造に、式B-4及び式B-5がグアニン構造に、それぞれ該当する。

なお、上記チミン構造、ウラシル構造、シトシン構造、アデニン構造及びグアニン構造には、置換基を有するそれぞれの構造が含まれる。

式B-1～式B-5中、R^Tは水素原子、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基を表し、水素原子、炭素数1～4のアルキル基、炭素数2～4のアルケニル基、又は、炭素数2～4のアルキニル基であることが好ましい。

R^{PC}、R^{PA}及びR^{PG}は、酸性条件下において除去される保護基を表し、Greenら、Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Edition, 1999, John Wiley & Sons, Inc. 等の成書に記載の保護基を参照することができ、例えば、tert-ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、4, 4'-トリメトキシトリチル (TMTr) 基、4, 4'-ジメトキシトリチル (DMTr) 基、4-メトキシトリチル (MMTr) 基、又は、4-メトキシベンジルオキシカルボニル (MCBz) 基が好ましく、立体障害が小さく、モノマーの反応性を向上させる観点から、4-メトキシベンジルオキシカルボニル (MCBz) 基がより好ましい。

R^{PC2}はアルキル基を表し、炭素数1～4のアルキル基が好ましく、メチル基がより好ましい。

R^{PG2}は保護基を表し、保護基としては、例えば、公知のヒドロキシ基の保護基を制限なく使用することが可能であるが、Greenら、Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Edition, 1999, John Wiley & Sons, Inc. 等の成書に記載の保護基を参照することもでき、例えば、アセチル基、フェノキシアセチル基、ピバロイル基、ベンジル基、4-メトキシベンジル基、ベンゾイル基、トリフェニルメチル基、4, 4'-ジメトキシトリチル (DMTr) 基、4-メトキシトリチル (MMTr) 基、9-フェニルキサンテニル基、トリメチルシリル基、トリメチルシリルエチル基、シアノメトキシメチル基、2-(シアノエトキシ) エチル基、シアノエトキシメチル基が挙げられ、好ましくはトリメチルシリルエチル基が挙げられる。

また、R^{PG2}としては、酸性条件下で除去される保護基が好ましい。

R^{PG3}は酸性条件下において除去される保護基又は水素原子を表し、保護基としては、上述のR^{PG}における酸性条件下において除去される保護基と同様の保護基が挙げられ、好ましい態様も同様である。

【0026】

<重合性化合物の製造方法>

以下、本開示に係る重合性化合物の製造方法の一例について説明する。ただし、本開示はこれに限定されるものではない。

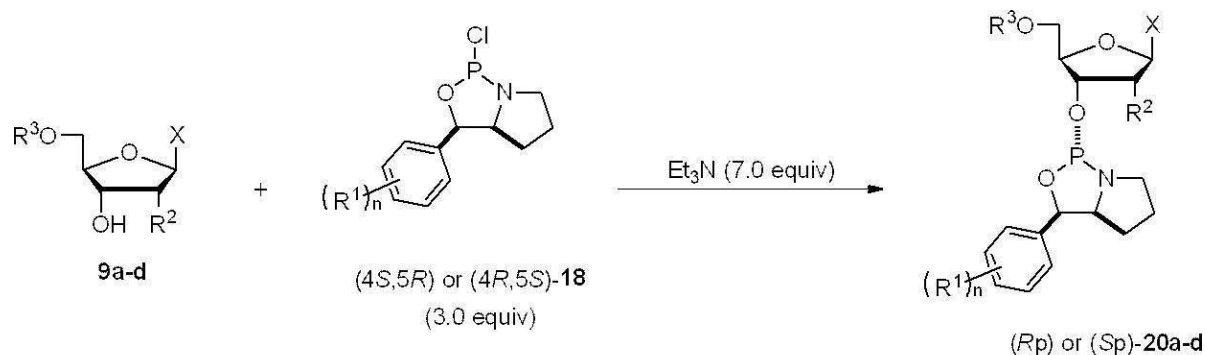
本開示に係る重合性化合物は、例えば、下記スキーム1に従い合成することが可能である。

下記スキーム1において、 Et_3N はトリエチルアミンである。

下記スキーム1中、 (R^p) or (S^p) -20a-dが、式A-1又は式A-2により表される化合物である。

【0027】

【化5】



【0028】

上記スキーム1における、 R^1 、 n 、 R^2 、 R^3 及び X はそれぞれ、式A-1又は式A-2における R^1 、 n 、 R^2 、 R^3 及び X と同義であり、好ましい態様も同様である。

【0029】

上記スキーム1における化合物9a-dは、例えば、チミジン、ウリジン、シチジン、アデノシン又はグアノシンを原料として合成することが可能である。

【0030】

上記スキーム1における化合物 $(4S, 5R)$ -18は、例えば、下記スキーム2に従い合成することが可能である。

下記スキーム2において、 Me はメチル基、 MMTrCl は4-メトキシトリチルクロリド、 Et_3N はトリエチルアミン、 $\text{SO}_3\text{-Py}$ はピリジン-三酸化硫黄コンプレックス、 DCA はジクロル酢酸、 PCl_3 は三塩化リンである。

なお、下記スキーム2はL-プロリンを出発物質としているが、D-プロリンを出発物質として同様の合成を行うことにより、 $(4R, 5S)$ -18を合成することができる。

【0031】

10

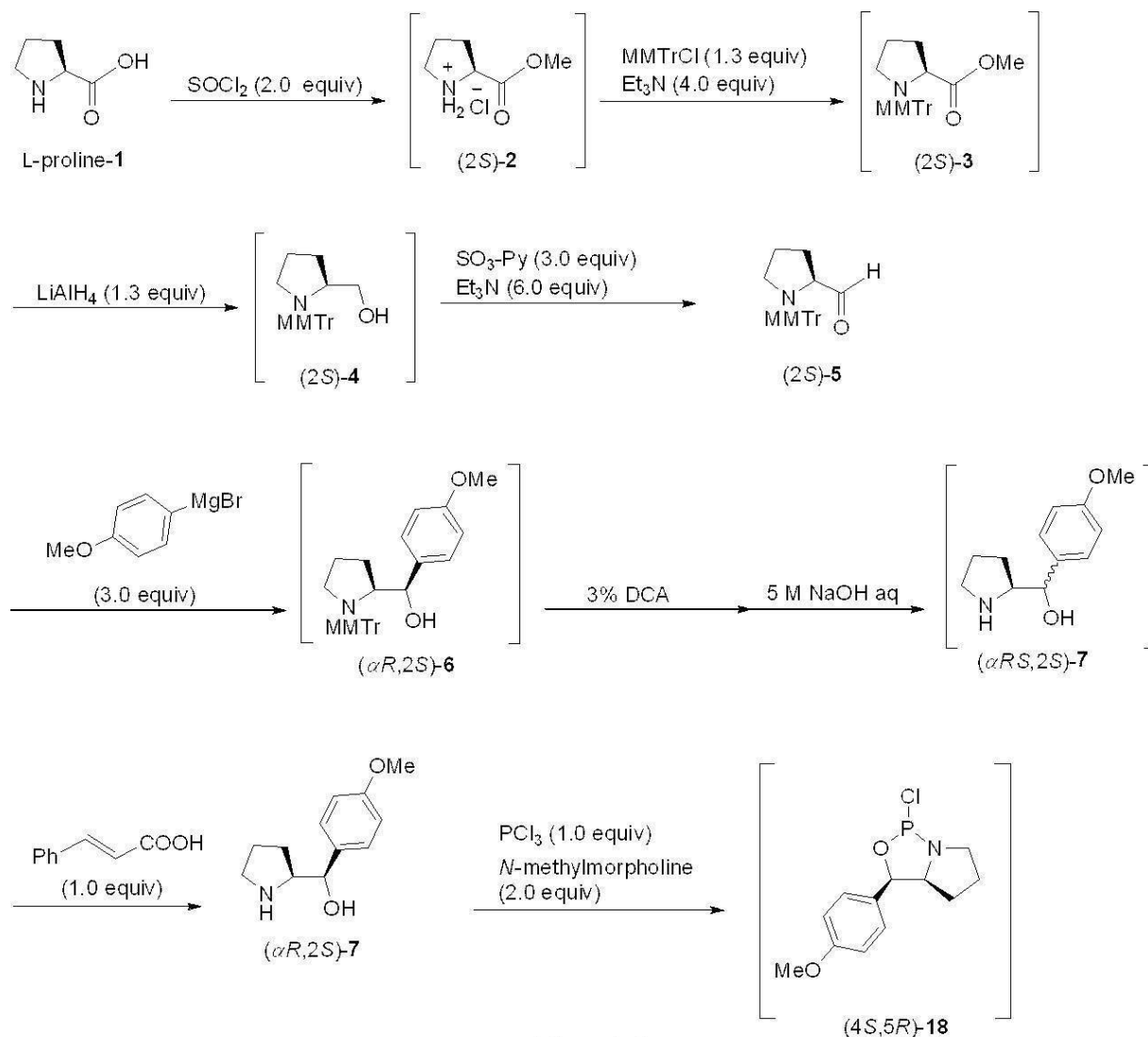
20

30

40

50

【化 6】



スキーム2

【0032】

(ボラノホスフェートオリゴマーの製造方法)

本開示に係るボラノホスフェートオリゴマーの製造方法は、本開示に係る重合性化合物を縮合する工程（以下、「縮合工程」ともいう）を含む、ボラノホスフェートオリゴマーの製造方法である。

以下、本開示に係るボラノホスフェートオリゴマーの製造方法の一例について説明する。ただし、本開示はこれに限定されるものではない。

【0033】

<縮合工程>

本開示における縮合工程は、例えば、下記スキーム3に従う。

【0034】

10

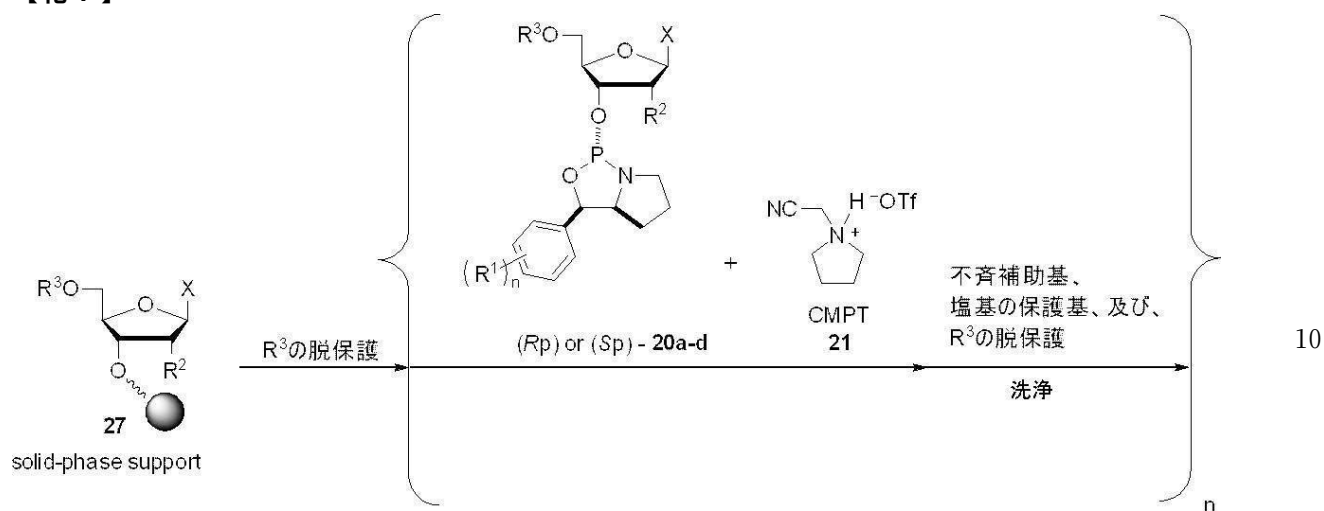
20

30

40

50

【化 7】



スキーム3

【0035】

上記スキーム3における、 R^1 、 n 、 R^2 、 R^3 及び X はそれぞれ、式A-1又は式A-2における R^1 、 n 、 R^2 、 R^3 及び X と同義であり、好ましい態様も同様である。

また、上記スキーム3中、 Z は後述の式B-6～式B-9のいずれかにより表される構造を表す。

【0036】

上記スキーム3においては、固相担体に担持された化合物27において、 R^3 の脱保護を行う。上記 R^3 の脱保護は、例えば、酸性条件下において行われる。

続いて、重合性化合物及び活性化剤を使用して、縮合反応と、不斉補助基、塩基の保護基及び R^3 の脱保護と、を繰り返すことにより、オリゴマー鎖を伸長する。上記不斉補助基、及び、塩基の保護基の脱保護は、酸性条件下において行われる。 R^3 として、酸性条件下において除去される保護基を使用することにより、上記不斉補助基、及び、塩基の保護基の脱保護と同時に、 R^3 の脱保護を行うことが可能となる。

上記スキーム3においては、重合性化合物20a-dと、活性化剤である化合物21 (CMPT、N-(シアノメチル)ピロリジニウムトリフラート)を用いているが、活性化剤はこれに限定されず、変更することができる。

H-ホスホネートオリゴマー23の形成後に、ホウ素化を行うことにより、ボラノホスフェートオリゴマー24a-dが得られる。

【0037】

上記スキーム3においては、固相法による合成方法を示したが、同様のスキームにより液相法による合成を行うことも可能である。

立体選択性及び反応速度の観点からは、固相法により合成することが好ましい。

【0038】

上記スキーム3における、オリゴマー鎖の伸長反応の詳細を下記スキーム4に示す。

10

20

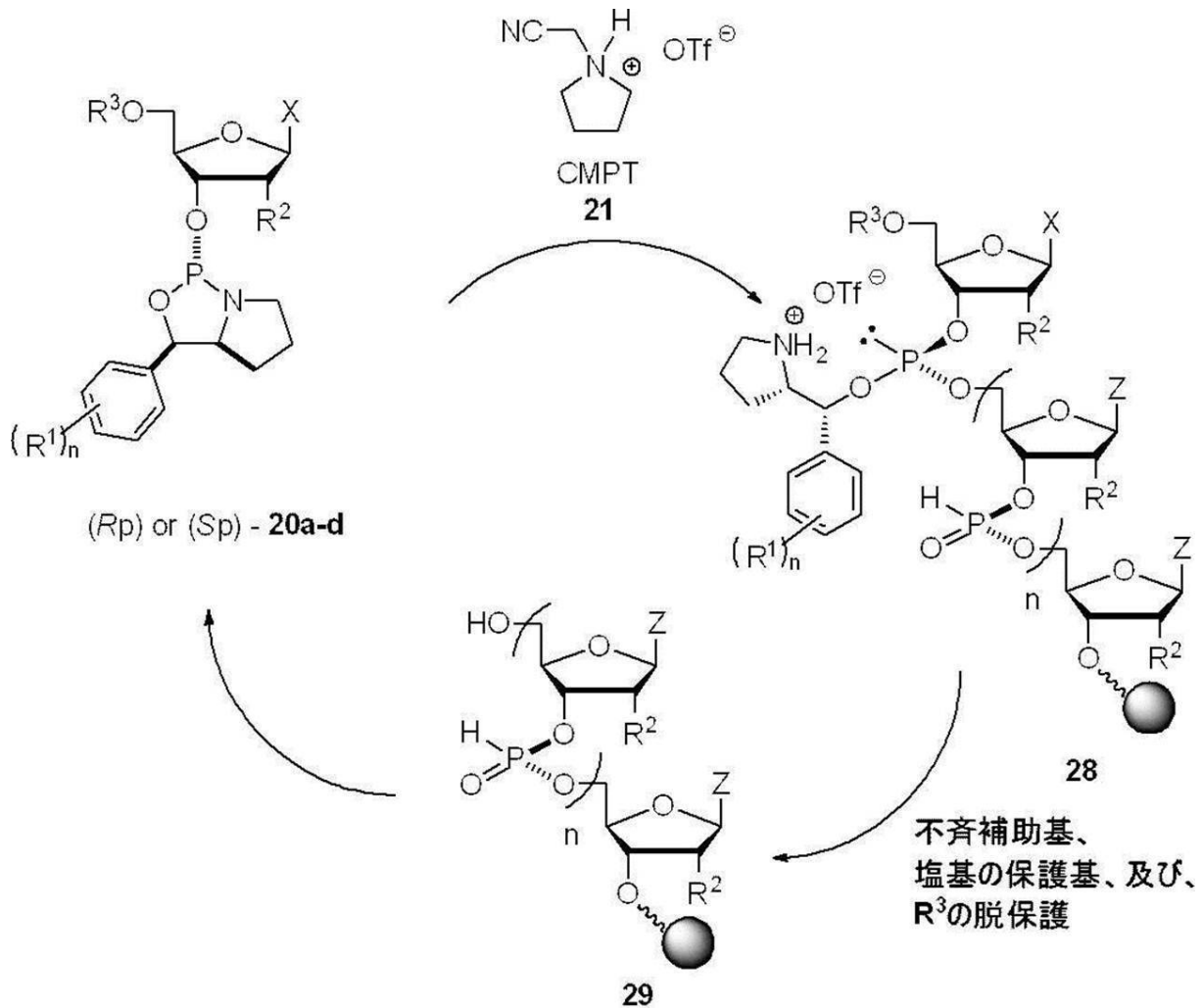
30

40

50

【 0 0 3 9 】

【 化 8 】



スキーム4

【 0 0 4 0 】

上記スキーム4中、R¹、n、R²、R³及びXはそれぞれ独立に、式A-1又は式A-2におけるR¹、n、R²、R³及びXと同義であり、好ましい態様も同様である。

nは0～100の整数を表し、1～100の整数であることが好ましく、9～100の整数であることがより好ましく、11～100の整数であることが更に好ましい。

上記スキーム4中、TfO (OTf) はトリフラートアニオンを表し、Zは後述の式B-6～式B-9のいずれかにより表される構造を表す。

上記スキーム4において、本開示に係る重合性化合物である(Rp) or (Sp)-20a-dが活性化剤21の存在下でH-ホスホネート置換ヌクレオチドの末端における糖構造の5'位におけるヒドロキシ基と結合し、中間体28を形成する。その後、中間体28から不斉補助基、塩基の保護基及びR³が脱保護され、オリゴマー29が形成される。更に、オリゴマー29の末端における糖構造の5'位におけるヒドロキシ基に(Rp) or (Sp)-20a-dが結合する。この繰り返しにより、オリゴマー鎖が伸長する。

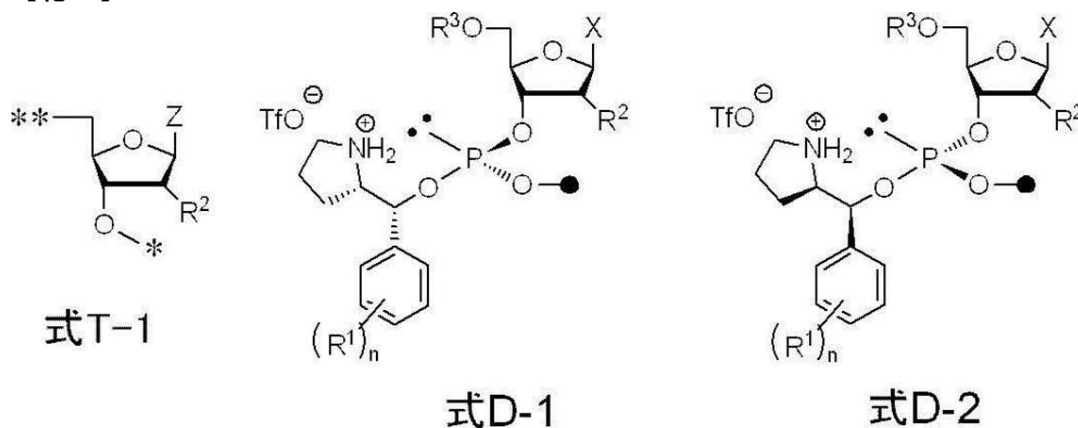
【 0 0 4 1 】

スキーム4においては、便宜上、中間体28やオリゴマー29に含まれるリン原子を不斉点とする全ての立体配置をS配置(Sp体)として記載しているが、モノマーとして式A-1により表される化合物と、式A-2により表される化合物とを使い分けることにより、S配置(Sp体)のH-ホスホネート構造と、R配置(Rp体)のH-ホスホネート構造と、を任意の位置に導入することができる。

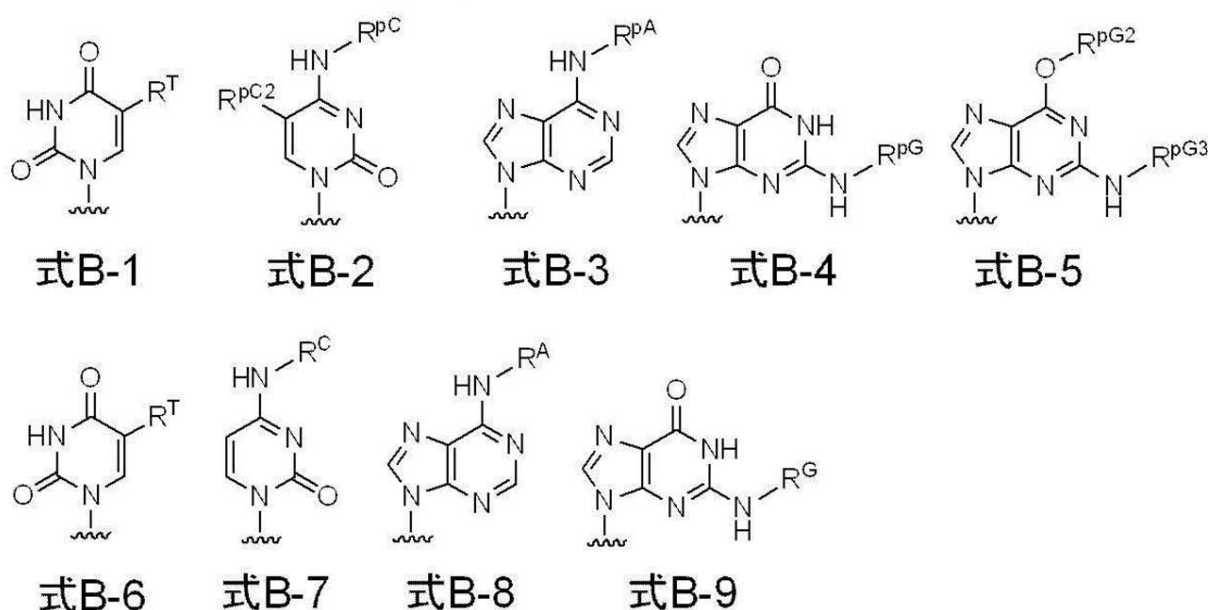
すなわち、上記中間体 28 は、下記式 T-1 により表される構成単位、及び、下記式 D-1 又は D-2 により表される構成単位を含む化合物である。

【0042】

【化9】



10



20

30

【0043】

式 T-1 中、R² は水素原子、ハロゲン原子、又は -OR^o を表し、R^o は水素原子、アルキル基又はヒドロキシ基の保護基を表し、Z は式 B-6 ~ 式 B-9 のいずれかにより表される構造を表し、* 及び ** は他の構造との結合部位を表す。

式 D-1 又は D-2 中、R¹ は電子供与性基を表し、n は 1 ~ 5 の整数を表し、R² は水素原子、ハロゲン原子、又は -OR^o を表し、R^o は水素原子、アルキル基又はヒドロキシ基の保護基を表し、R³ は水素原子又はヒドロキシ基の保護基を表し、X は式 B-1 ~ 式 B-5 のいずれかにより表される構造を表し、TfO はトリフレートアニオンを表し、● は他の構造との結合部位を表す。

40

式 B-1 ~ 式 B-5 中、R^T は水素原子、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基を表し、R^{pC}、R^{pA} 及び R^{pG} は、酸性条件下において除去される保護基を表し、R^{pC2} はアルキル基を表し、R^{pG2} は保護基を表し、R^{pG3} は酸性条件下において除去される保護基又は水素原子を表し、波線部は他の構造との結合部位を表す。

式 B-6 ~ 式 B-9 中、R^T は水素原子、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基を表し、R^C、R^A 及び R^G は、水素原子を表し、波線部は他の構造との結合部位を表す。

【0044】

式 T-1 中、R² は式 A-1 又は式 A-2 中の R² と同義であり、好ましい態様も同様

50

である。

式 T-1 中、* は他の構造との結合部位を表し、固相合成により合成される場合、担体との結合部位を表すことが好ましい。

式 T-1 中、Z は式 B-6 ~ 式 B-9 のいずれかにより表される構造であることが好ましく、チミン構造、ウラシル構造、シトシン構造、アデニン構造、又は、グアニン構造のいずれかであることがより好ましい。

式 D-1 及び式 D-2 中、R¹、n、R²、R³ 及び X は、式 A-1 又は式 A-2 中の R¹、n、R²、R³ 及び X と同義であり、好ましい態様も同様である。

式 B-1 ~ 式 B-5 は、上述の式 A-1 又は式 A-2 における式 B-1 ~ 式 B-5 と同義であり、好ましい態様も同様である。

【0045】

本開示に係るボラノホスフェートオリゴマーの製造方法によれば、縮合工程において使用する重合性化合物の選択により、ボラノホスフェート DNA、ボラノホスフェート RNA がいずれも製造可能である。

本開示において、ボラノホスフェート DNA とは、天然型 DNA のリン酸ジエステル構造における、非架橋酸素原子のうちの一つをボラノ基 (-BH₃) に置換した DNA をいう。

本開示において、ボラノホスフェート RNA とは、天然型 RNA のリン酸ジエステル構造における、非架橋酸素原子のうちの一つをボラノ基 (-BH₃) に置換した RNA をいう。

上記 DNA 及び RNA のいずれにおいても、標的核酸の塩基配列に相補的となる塩基配列となるように本実施形態に係る重合性化合物を選択して、合成を実施することが可能である。

【0046】

また、上記化合物は、下記式 C-1 又は式 C-2 により表される構成単位のいずれか又は両方を更に含んでもよい。

下記式 C-1 又は式 C-2 により表される構成単位は、上述のスキーム 4 に記載した縮合サイクルの 1 サイクルにより、1 つずつ増加する構成単位であり、複数有していてもよい。

上記化合物に含まれる、式 C-1 又は式 C-2 により表される構成単位の合計数は、9 ~ 100 であることが好ましく、11 ~ 50 であることがより好ましい。

【0047】

10

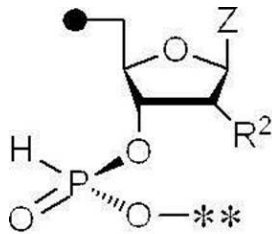
20

30

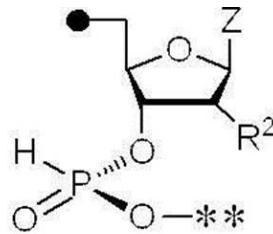
40

50

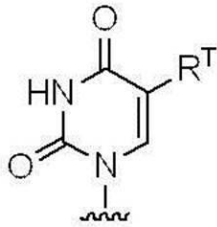
【化 10】



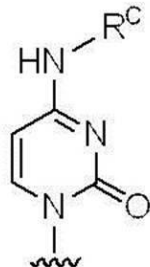
式C-1



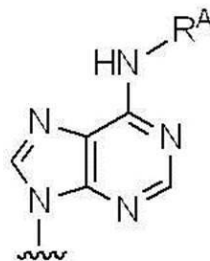
式C-2



式B-6



式B-7



式B-8



式B-9

【0048】

式C-1又は式C-2中、R²は水素原子又は-O-R⁰を表し、R⁰は水素原子、アルキル基又はヒドロキシ基の保護基を表し、Zは式B-6～式B-9のいずれかにより表される構造を表し、**及び●は他の構造との結合部位を表す。

式B-6～式B-9中、R^Tは水素原子、アルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基を表し、R^C、R^A及びR^Gは、水素原子を表し、波線部は他の構造との結合部位を表す。

【0049】

式C-1及び式C-2中、Z及びR²は式T-1中のZ及びR²とそれぞれ同義であり、好ましい態様も同様である。

式C-1又は式C-2により表される構造が複数存在する場合、複数の式C-1又は式C-2中のZ及びR²は同一であってもよいし、異なってもよい。

式B-6～式B-9は、上述の式T-1における式B-6～式B-9と同義であり、好ましい態様も同様である。

【0050】

また、上記化合物は、後述する式E-1～式E-4により表される重合性化合物よりなる群から選ばれた少なくとも1つに由来する構成単位を、更に含んでもよい。

【0051】

本開示における縮合工程においては、その他の重合性化合物として、式E-1～式E-4により表される重合性化合物よりなる群から選ばれた少なくとも1つの重合性化合物を更に用いてもよい。

すなわち、本開示に係るボラノホスフェートオリゴマーの製造方法により製造されるボラノホスフェートオリゴマーは、ボラノホスフェートLNAであってもよい。

本開示において、LNAとは、リボース環の2'位の酸素原子と4'位の炭素原子がメチレンを介して架橋された構造を有するRNA誘導体をいい、ボラノホスフェートLNAとは、LNAのリン酸ジエステル構造における、非架橋酸素原子のうちの一つをボラノ基(-BH₃)に置換したLNAをいう。

【0052】

10

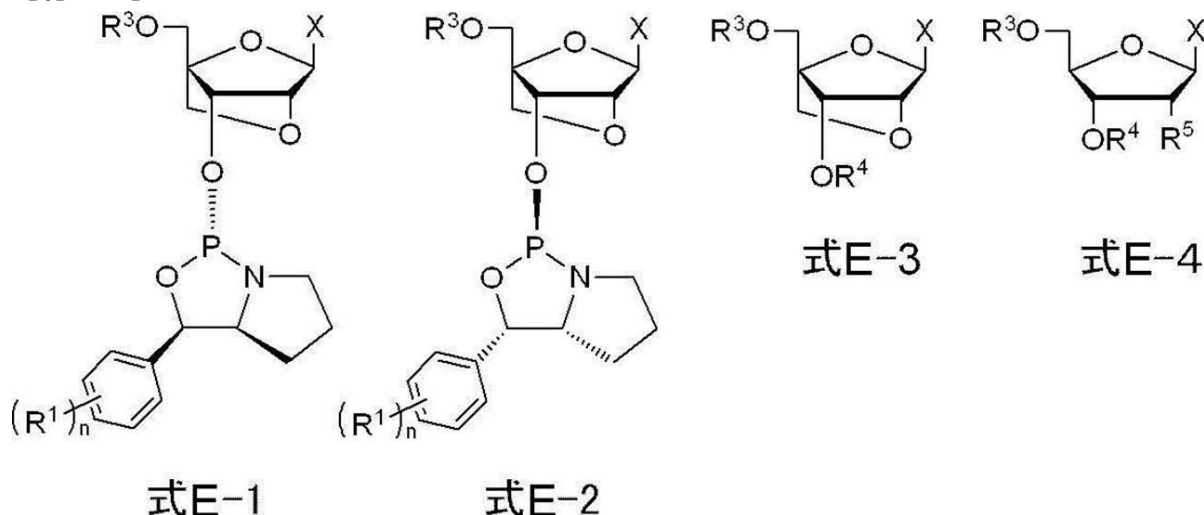
20

30

40

50

【化 11】



10

【0053】

式E-1～式E-4中、R¹、n、R³及びXは、式A-1又は式A-2中のR¹、n、R³及びXと同義であり、好ましい態様も同様である。

式E-3及び式E-4中、R⁴はヒドロキシ基の保護基を表し、上述のR³におけるヒドロキシ基の保護基として例示したものを制限なく使用することが可能である。

20

R⁵は、水素原子、保護基を有するヒドロキシ基、ハロゲン原子、又は、アルコキシ基を表す。

【0054】

本開示に係るボラノホスフェートオリゴマーの合成方法において、式E-1又は式E-2により表される重合性化合物を用いる場合、式A-1又は式A-2により表される重合性化合物を用いる場合と同様の方法により合成することが可能である。

また、本開示に係るボラノホスフェートオリゴマーの合成方法において、式E-3又は式E-4により表される重合性化合物を用いる場合、公知の縮合剤を用いた、公知のDNA又はRNA合成方法により合成することが可能である。

式E-3又は式E-4により表される重合性化合物を用いることにより、部分的にリン酸ジエステル構造を含むボラノホスフェートオリゴマーを合成することが可能となる。

30

【0055】

<精製工程>

本開示に係るボラノホスフェートオリゴマーの製造方法は、ボラノホスフェートオリゴマーを生成する工程（精製工程）を更に含んでもよい。

精製工程においては、例えば、逆相高速液体クロマトグラフィー（逆相HPLC）、イオン交換HPLC、カラムクロマトグラフィー、再結晶等の公知の精製方法によりボラノホスフェートオリゴマーが精製される。

【0056】

本開示に係るボラノホスフェートオリゴマーの製造方法は、10量体～100量体のボラノホスフェートオリゴマーの製造方法であることが好ましく、10量体～50量体のボラノホスフェートオリゴマーの製造方法であることがより好ましく、12量体～50量体のボラノホスフェートオリゴマーの製造方法であることが更に好ましい。

40

本開示に係るボラノホスフェートオリゴマーの製造方法によれば、上述のSp体とRp体を自由に組み合わせたボラノホスフェートオリゴマーを製造することが可能となる。

例えば、ボラノホスフェートオリゴマーの両末端のみをRp体、その他の構造をSp体として構成することにより、酵素耐性を向上させたボラノホスフェートオリゴマーを製造することが可能となる。

【0057】

本開示に係るボラノホスフェートオリゴマーの製造方法により得られたボラノホスフェ

50

ートオリゴマーは、標的核酸の塩基配列に相補的となるように設計することにより、標的核酸に対する二本鎖形成能に優れたアンチセンス分子として使用することができる。

例えば、前記標的核酸が疾患関連遺伝子の部分配列に相当する場合には、前記ボラノホスフェートオリゴマーは、翻訳阻害能の高いアンチセンス医薬等の医薬用途に好ましく用いられる。

その他、ホウ素中性子捕捉療法（BNCT）への応用も考えられる。

【実施例】

【0058】

以下、実施例により本開示を詳細に説明するが、本開示はこれらに限定されるものではない。

なお、以下の記載において、特に断りのない限り、「%」は質量基準である。

実施例において使用された分析機器の詳細は、下記の通りである。

^1H -核磁気共鳴スペクトル（ ^1H -NMR）：JNM-LA 400（400 MHz）

^{31}P -核磁気共鳴スペクトル（ ^{31}P -NMR）：JNM-LA 400（161.8 MHz）

なお、 ^1H -NMRにはテトラメチルシラン（TMS）を内部標準として用い、 ^{31}P -NMRは85% H_3PO_4 を外部標準として用いた。

ESI-MS：Varian 910-MS

【0059】

実施例において使用した略語の詳細は下記の通りである。

MMTr = 4-methoxytrityl

DMTr = 4,4'-dimethoxytrityl

TBS = tert-butyl dimethylsilyl

TMS = trimethylsilyl

TFA = trifluoroacetic acid

DCA = dichloroacetic acid

MCbz = 4-methoxybenzyloxycarbonyl

Tse = trimethylsilylethyl

CDI = 1,1'-carbonyldiimidazole

HMDS = hexamethyldisilazane

DEAD = diethylazodicarboxylate

CMPT = N-(cyanomethyl) pyrrolidinium trifluoromethanesulfonate

DMAc = N,N-dimethylacetamide

BSA = N,O-bis(trimethylsilyl)acetamide

Th (T) = thymine

Cy (C) = cytosine

Ad (A) = adenine

Gu (G) = guanine

【0060】

（実施例及び比較例）

<重合性化合物の合成>

〔(2S)-5の合成〕

L-proline (1) (11.51 g, 100 mmol) を MeOH (100 mL) 溶液とし、0 °Cに冷却した。この溶液に SOCl_2 (14.42 mL, 200 mmol) を滴下ロートでゆっくりと加えた。反応混合物を室温で3時間攪拌し、溶媒を減圧留去後、粗生成物として(2S)-2を得た。(2S)-2はこれ以上の精製を行わず、次のステップに用いた。

粗生成物 (2S)-2をtoluene、 CHCl_3 で繰り返し共沸乾燥し、 CH_2Cl_2 (250 mL) 溶液とし、 Et_3N (55.75 mL, 400 mmol)

10

20

30

40

50

)、MMTrCl (40.14 g, 130 mmol) を加えた。反応混合物を室温で17時間攪拌し、飽和NH₄Cl水溶液-濃NH₃水溶液 (2:1, v/v) (150 mL) を加えた。有機層を分離し、飽和NaHCO₃水溶液 (3 × 100 mL) で洗浄し、集めた洗液をCH₂Cl₂ (100 mL) で抽出した。集めた有機層を無水Na₂SO₄で乾燥、ろ過し、減圧下濃縮し、粗生成物として(2S)-3を得た。(2S)-3はこれ以上の精製を行わず、次のステップに用いた。

粗生成物 (2S)-3をpyridine、toluene、CHCl₃で繰り返し共沸乾燥し、THF (100 mL) 溶液とした。この溶液を滴下ロートで、LiAlH₄ (4.93 g, 130 mmol) のTHF (100 mL) 溶液に対し、0 °C でゆっくりと加えた。反応混合物を室温で12時間攪拌後、0 °C に冷却し、H₂O (5 mL)、15% NaOH水溶液 (5 mL)、H₂O (15 mL) を順次滴下ロートでゆっくりと加えた。反応混合物を室温で30分間攪拌し、無水MgSO₄を加え、更に30分間攪拌した。懸濁液をセライトろ過し、AcOEt (500 mL) で洗浄した。溶液を減圧留去し、残渣にCH₂Cl₂ (300 mL) を加えた。飽和NaHCO₃水溶液 (3 × 100 mL) で洗浄し、集めた洗液をCH₂Cl₂ (100 mL) で抽出した。集めた有機層を無水Na₂SO₄で乾燥、ろ過し、減圧下濃縮し、粗生成物として(2S)-4を得た。(2S)-4はこれ以上の精製を行わず、次のステップに用いた。

粗生成物 (2S)-4をCH₂Cl₂ (400 mL) 溶液とし、Et₃N (83.18 mL, 600 mmol) を加えた。この溶液に、Pyridine - Sulfur Trioxide Complex (47.75 g, 300 mmol) のDMSO (100 mL) 溶液を0 °Cで加えた。反応混合物を室温で3時間攪拌し、飽和NaHCO₃水溶液 (100 mL) を加えた。有機層を分離し、飽和NaHCO₃水溶液 (3 × 100 mL) で洗浄し、集めた洗液をCH₂Cl₂ (100 mL) で抽出した。集めた有機層を減圧下濃縮し、残渣にEt₂O (300 mL) を加え、飽和NaCl水溶液 (5 × 100 mL) で洗浄した。集めた有機層を無水Na₂SO₄で乾燥、ろ過し、減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [neutral silica gel, hexane - AcOEt (6:1, v/v), pyridine 1%] で分離精製し、(2S)-5を含むフラクションを回収した。溶媒を減圧留去し、淡黄色フォーム状物質として、(2S)-5を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.84 (s, 1H), 7.55-7.43 (m, 6H), 7.28-7.14 (m, 6H), 6.82-6.78 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.29-3.23 (m, 1H), 2.93-2.87 (m, 1H), 1.64-1.55 (m, 2H), 1.47-1.37 (m, 1H), 1.19-1.10 (m, 1H), 0.90-0.77 (m, 1H). FAB-HRMS: Calcd. for [M+Na]⁺; 394.1783. Found; 394.1788

[0061]

[(2R)-5の合成]

(2R)-5 は、D-proline (1) を出発物質として、(2S)-5 と同様の方法により合成した。

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9.83 (s, 1H), 7.56-7.43 (m, 6H), 7.28-7.12 (m, 6H), 6.84-6.78 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.30-3.21 (m, 1H), 2.94-2.85 (m, 1H), 1.65-1.55 (m, 2H), 1.49-1.37 (m, 1H), 1.20-1.08 (m, 1H), 0.90-0.75 (m, 1H). FAB-HRMS: Calcd. for [M+Na]⁺; 394.1783. Found; 394.1784.

[0062]

〔(α R, 2 S) - 7 の合成〕

(2 S) - 5 (26.00 g, 70 mmol) を pyridine、toluene、CHCl₃ で繰り返し共沸乾燥し、Et₂O (300 mL) 溶液とし、-78 °C に冷却した。この溶液に 0.5 M 4-methoxyphenyl magnesium bromide / THF 溶液 (420 mL, 210 mmol) を滴下ロートでゆっくりと加えた。反応混合物を室温で18時間攪拌し、飽和 NH₄Cl 水溶液 - 濃 NH₃ 水溶液 (2:1, v/v) (300 mL) を 0 °C で加えた。懸濁液をセライトろ過し、Et₂O (300 mL) で洗浄した。有機層を分離し、飽和 NaHCO₃ 水溶液 (3 × 100 mL) で洗浄し、集めた洗液を Et₂O (100 mL) で抽出した。集めた有機層を無水 Na₂SO₄ で乾燥、ろ過し、減圧下濃縮し、粗生成物として (α R, 2 S) - 6 を得た。(α R, 2 S) - 6 はこれ以上の精製を行わず、次のステップに用いた。

10

粗生成物 (α R, 2 S) - 6 に 3% DCA / CH₂Cl₂ 溶液 (300 mL) を加えた。反応混合物を室温で10分間攪拌し、H₂O (300 mL) を加え、水層を分離し、CH₂Cl₂ (5 × 100 mL) で洗浄し、集めた洗液を水 (100 mL) で抽出した。集めた水層に 5 M NaOH 水溶液を pH 11 になるまで加えた。これに CH₂Cl₂ (300 mL) を加え、有機層を分離し、飽和 NaHCO₃ 水溶液 (3 × 100 mL) で洗浄し、集めた洗液を CH₂Cl₂ (100 mL) で抽出した。集めた有機層を無水 Na₂SO₄ で乾燥、ろ過し、減圧下濃縮し、(α R S, 2 S) - 7 を得た。

20

(α R S, 2 S) - 7 (5.18 g, 25 mmol) に trans-cinnamic acid (3.70 g, 25 mmol) を加え、EtOH を用いて再結晶を行った。析出した結晶に 2 M KOH 水溶液 (100 mL)、CH₂Cl₂ (100 mL) を加え、有機層を分離した。飽和 NaHCO₃ 水溶液 (3 × 100 mL) で洗浄し、集めた洗液を CH₂Cl₂ (100 mL) で抽出した。集めた有機層を無水 Na₂SO₄ で乾燥、ろ過し、減圧下濃縮し、(α R, 2 S) - 7 を淡黄色オイル状物質として得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.30-7.27 (m, 2H), 6.89-6.86 (m, 2H), 4.68 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.42-3.37 (m, 1H), 3.05-2.99 (m, 1H), 2.96-2.91 (m, 1H), 2.43 (br, 2H), 1.79-1.62 (m, 3H), 1.55-1.47 (m, 1H). FAB-HRMS: Calcd. for [M+H]⁺; 208.1338. Found; 208.1337.

30

【0063】

〔(α S, 2 R) - 7 の合成〕

(α S, 2 R) - 7 は、(2 R) - 5 を出発物質として、(α R, 2 S) - 7 と同様の方法により合成した。

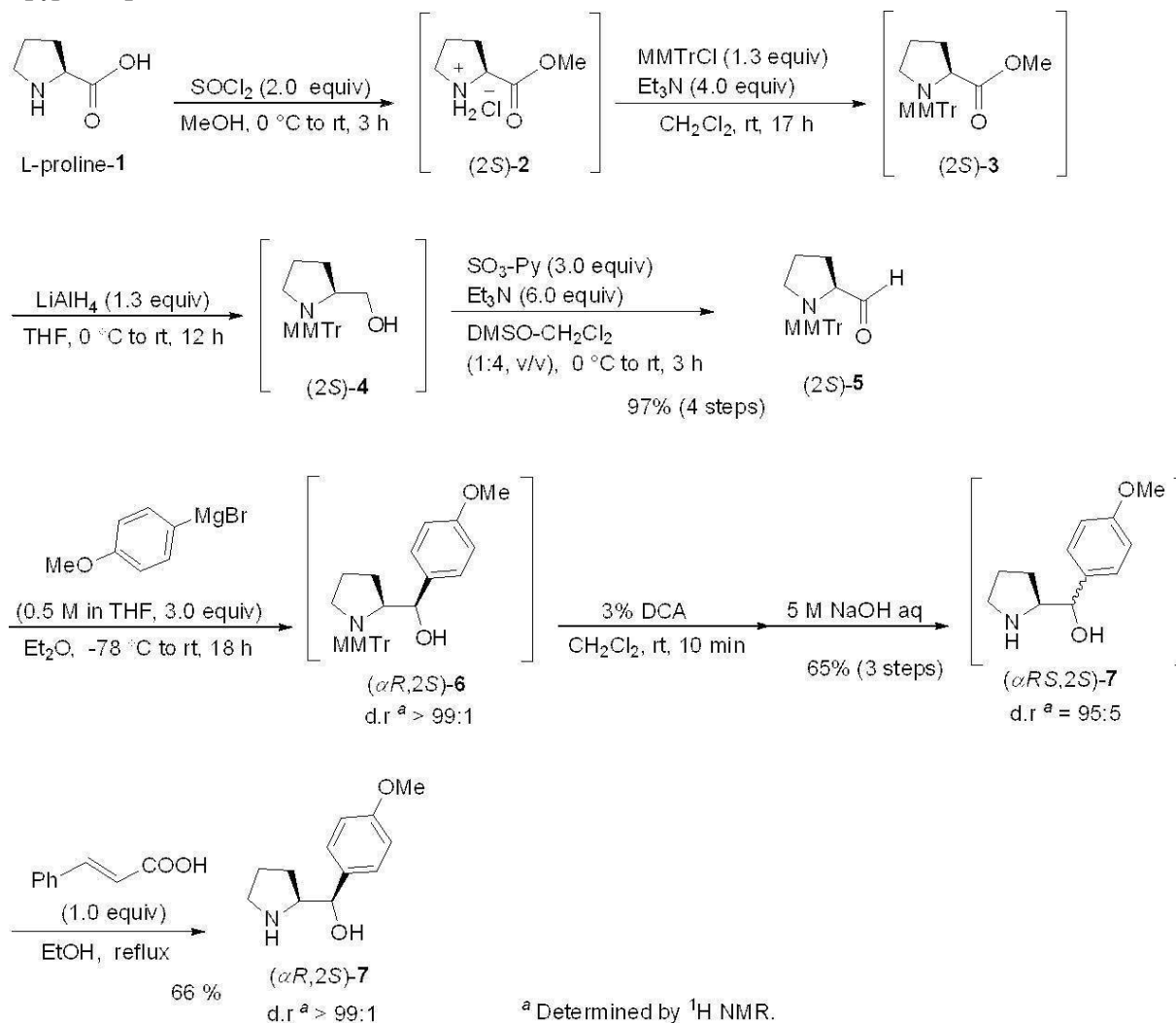
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.30-7.27 (m, 2H), 6.89-6.86 (m, 2H), 4.66 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.40-3.35 (m, 1H), 3.03-2.98 (m, 1H), 2.94-2.88 (m, 1H), 2.54 (br, 2H), 1.79-1.61 (m, 3H), 1.55-1.46 (m, 1H). FAB-HRMS: Calcd. for [M+H]⁺; 208.1338. Found; 208.1338.

40

【0064】

50

【化 1 2】



[3', 5'-O-bis(TBS)-4'-Mcbz-2'-deoxycytidine [15] の合成]

3', 5'-O-bis(TBS)-2'-deoxycytidine (14) (4.55 g, 10 mmol) を pyridine、toluene、CHCl₃ で繰り返し共沸乾燥し、1,2-dichloroethane (100 mL) 溶液とし、CDI (2.60 g, 16 mmol) を加え、20時間加熱還流させた。4-methoxybenzylalcohol (2.00 mL, 16 mmol) を加え、さらに18時間加熱還流した。飽和NaHCO₃水溶液 (100 mL) を加え、有機層を分離した。飽和NaHCO₃水溶液 (3 × 100 mL) で洗浄し、集めた洗液をCH₂Cl₂ (100 mL) で抽出した。集めた有機層を無水Na₂SO₄で乾燥、ろ過し、減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [neutral silica gel, hexane-AcOEt (1:1, v/v)] で分離精製し、15を含むフラクションを回収した。溶媒を減圧留去し、15 (4.64 g, 7.49 mmol, 75%) を無色フォーム状物質として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.38 (d, 1H), 7.46 (br, 1H), 7.34 (d, 2H), 7.18 (d, 1H), 6.93 (d, 2H), 6.25 (t, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.41 (q, 1H), 3.98-3.94 (m, 2H), 3.82-3.76 (m, 4H), 2.56-2.47 (m, 1H), 2.17-2.08 (m, 1H), 0.93-0.88 (m, 18H), 0.12-0.05 (m, 12H). FAB-HRMS: Calcd. for [M+H]⁺; 620.3187. Found; 620.3187.

[0069]

[N⁴-Mcbz-5'-O-DMTr-2'-deoxycytidine [9b] の合成]

3', 5'-O-bis(TBS)-4'-Mcbz-2'-deoxycytidine (15) (4.34 g, 7 mmol) をTHF (35 mL) 溶液とし、1 M TBAF / THF (35 mL) を加え、室温で1時間攪拌した。飽和NaHCO₃水溶液 (100 mL)、AcOEt (300 mL) を加え、有機層を分離した。飽和NaHCO₃水溶液 (3 × 100 mL) で洗浄し、集めた洗液をAcOEt (100 mL) で抽出した。集めた有機層を無水Na₂SO₄で乾燥、ろ過し、減圧下濃縮した。残渣にpyridine (70 mL)、DMTrCl (2.37 g, 7 mmol) を加え、室温で14時間攪拌した。MeOH (30 mL)、CHCl₃ (300 mL)、飽和NaHCO₃水溶液 (100 mL) を加え、有機層を分離した。飽和NaHCO₃水溶液 (3 × 100 mL) で洗浄し、集めた洗液をCHCl₃ (100 mL) で抽出した。集めた有機層を無水Na₂SO₄で乾燥、ろ過し、減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [neutral silica gel, CH₂Cl₂ - MeOH - pyridine (99:0.5:0.5 to 94.5:5:0.5, v/v)] で分離精製し、9bを含むフラクションを回収した。溶媒を減圧留去し、9b (3.47 g, 5 mmol, 71%) を無色フォーム状物質として得た。

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.25 (d, 1H), 7.44-7.39 (m, 3H), 7.34-7.22 (m, 9H), 7.02 (d, 1H), 6.92-6.84 (m, 6H), 6.25 (t, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.47 (br, 1H), 4.09 (q, 1H), 3.80 (s, 9H), 3.55-3.39 (m, 2H), 2.71-2.62 (m, 1H), 2.30-2.22 (m, 1H). FAB-HRMS: Calcd. for [M+H]⁺; 694.2765. Found; 694.2763.

[0070]

10

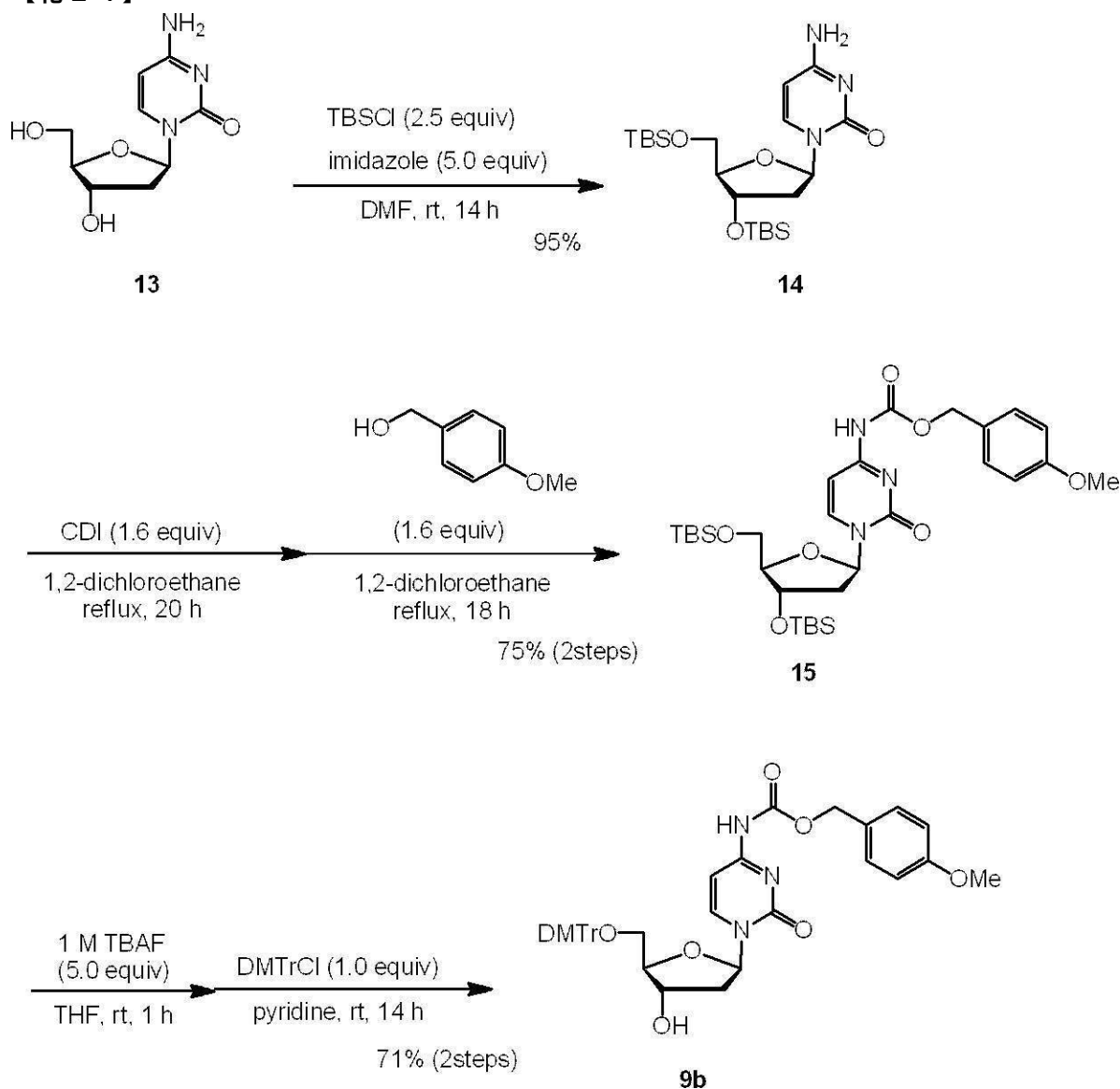
20

30

40

50

【化 1 4】



【0071】

〔3', 5'-O-bis (TBS) -2'-deoxyadenosine [11] の合成〕

2'-deoxyadenosine (10) を出発物質として、文献記載の方法に従って合成した。¹H NMR スペクトルは、文献値と一致した。

【0072】

〔3', 5'-O-bis (TBS) -6-N-MCbz-2'-deoxyadenosine [12] の合成〕

3', 5'-O-bis (TBS) -2'-deoxyadenosine (11) (7.19 g, 15 mmol) を pyridine、toluene、CHCl₃ で繰り返し共沸乾燥し、1, 2-dichloroethane (150 mL) 溶液とし、CDI (3.89 g, 24 mmol) を加え、17 時間加熱還流させた。4-methoxybenzyl alcohol (3.00 mL, 24 mmol) を加え、さらに20時間加熱還流した。飽和 NaHCO₃ 水溶液 (100 mL) を加え、有機層を分離した。飽和 NaHCO₃ 水溶液 (3 × 100 mL) で洗浄し、集めた洗液を CH₂Cl₂ (100 mL) で抽出した。集めた有機層を無水 Na₂SO₄ で乾燥、ろ過し、減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [neutral silica gel, hexane-AcOEt (2:1, v/v)]

] で分離精製し、12を含むフラクションを回収した。溶媒を減圧留去し、12 (7.26 g, 11 mmol, 75%) を無色フォーム状物質として得た。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.75 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.38 (d, 2H), 6.90 (d, 2H), 6.49 (t, 1H), 5.23 (s, 2H), 4.63–4.59 (m, 1H), 4.04 (q, 1H), 3.89–3.75 (m, 5H), 2.67–2.61 (m, 1H), 2.48–2.42 (m, 1H), 0.92–0.87 (m, 18H), 0.10–0.04 (m, 12H). FAB-HRMS: Calcd. for $[\text{M}+\text{H}]^+$; 644.3300. Found; 644.3298.

[0073]

(N⁶-MCbz-5'-O-DMTr-2'-deoxyadenosine [9c] の合成)

3', 5'-O-bis(TBS)-N-MCbz-2'-deoxyadenosine (12) (7.26 g, 11 mmol) をTHF (55 mL) 溶液とし、1 M TBAF / THF (55 mL) を加え、室温で1時間攪拌した。飽和NaHCO₃水溶液 (100 mL)、AcOEt (300 mL) を加え、有機層を分離した。飽和NaHCO₃水溶液 (3 × 100 mL) で洗浄し、集めた洗液をAcOEt (100 mL) で抽出した。集めた有機層を無水Na₂SO₄で乾燥、ろ過し、減圧下濃縮した。残渣にpyridine (110 mL)、DMTrCl (4.48 g, 13.2 mmol) を加え、室温で18時間攪拌した。MeOH (50 mL)、CHCl₃ (300 mL)、飽和NaHCO₃水溶液 (100 mL) を加え、有機層を分離した。飽和NaHCO₃水溶液 (3 × 100 mL) で洗浄し、集めた洗液をCHCl₃ (100 mL) で抽出した。集めた有機層を無水Na₂SO₄で乾燥、ろ過し、減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [neutral silica gel, CH₂Cl₂ – MeOH – pyridine (98:1.5:0.5 to 96.5:3:0.5, v/v)] で分離精製し、9cを含むフラクションを回収した。溶媒を減圧留去し、9c (5.08 g, 7 mmol, 64%) を無色フォーム状物質として得た。

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 8.68 (s, 1H), 8.16 (br, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.40–7.36 (m, 2H), 7.31–7.16 (m, 9H), 6.91–6.77 (m, 6H), 6.46 (t, 1H), 5.23 (s, 2H), 4.70 (br, 1H), 4.16 (q, 1H), 3.77 (s, 9H), 3.41–3.39 (m, 2H), 2.91–2.82 (m, 1H), 2.59–2.51 (m, 1H), 1.65 (br, 1H). FAB-HRMS: Calcd. for $[\text{M}+\text{H}]^+$; 718.2877. Found; 718.2880.

[0074]

10

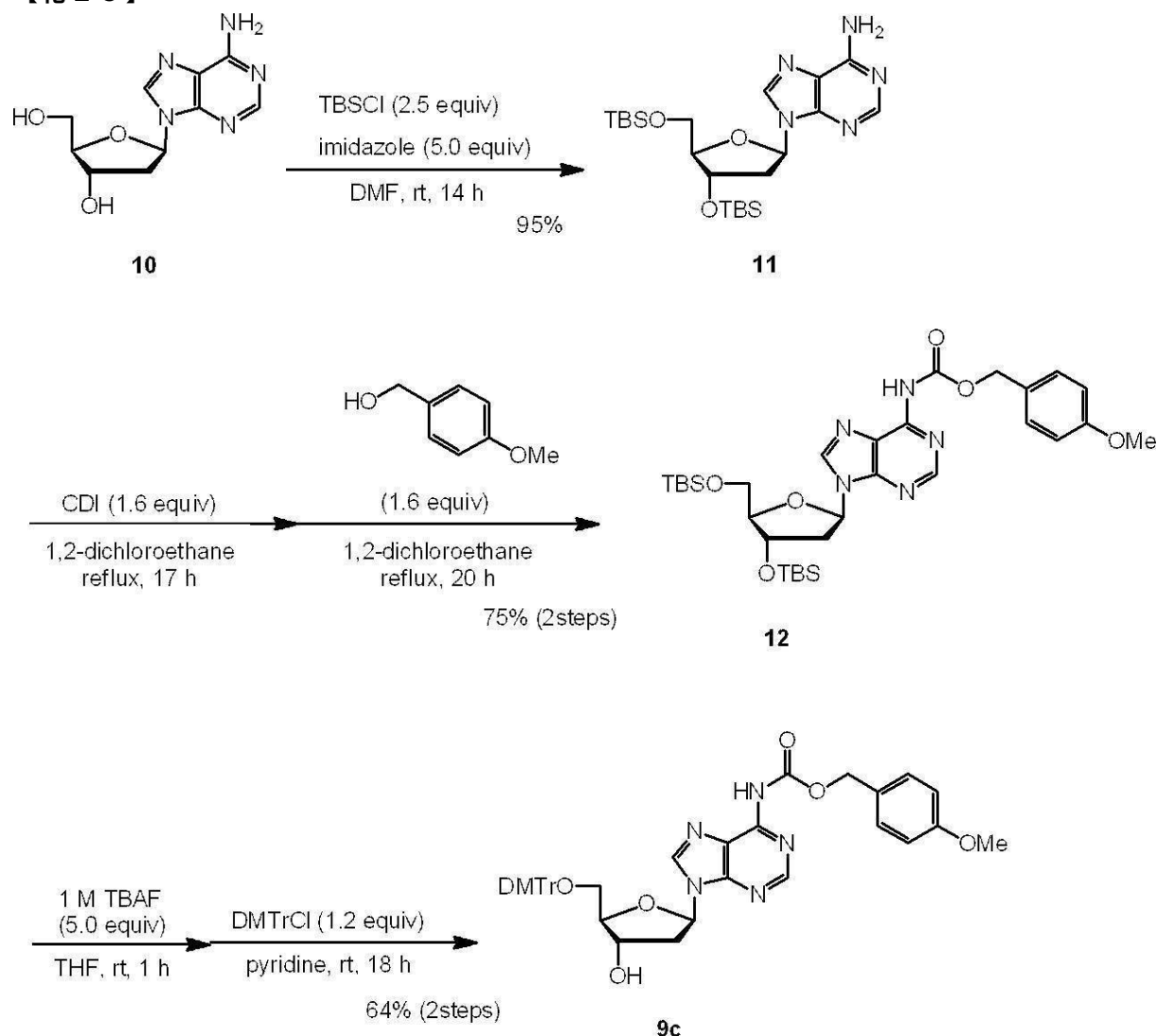
20

30

40

50

【化 1 5】



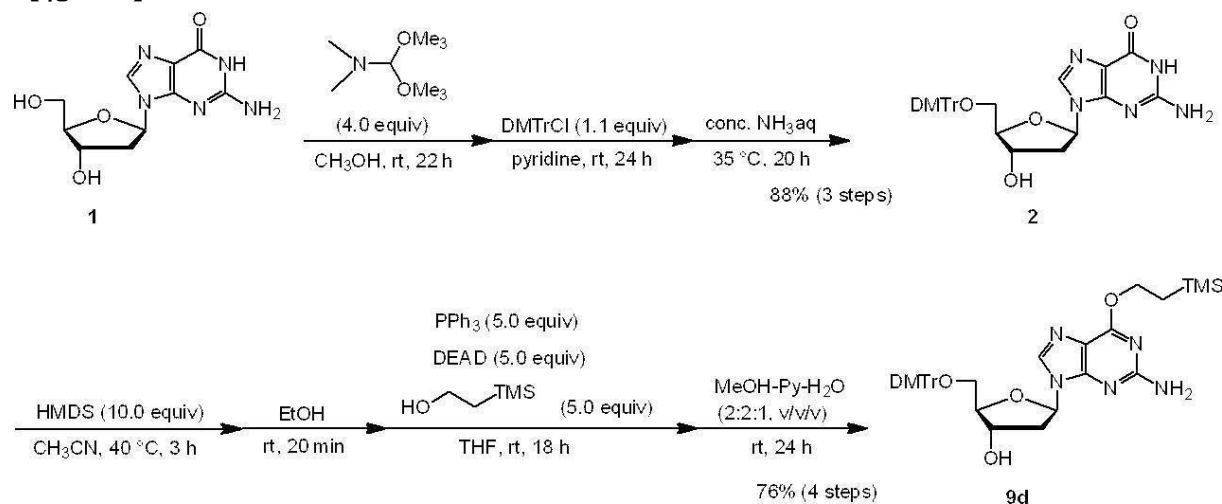
【0075】

〔O⁶-Tse-5'-O-DMTr-2'-deoxyguanosine [9d] の合成〕

2'-deoxyguanosine (1) を出発物質として、文献記載の方法に従って合成した。¹H NMR スペクトルは、文献値と一致した。

【0076】

【化 1 6】



【0077】

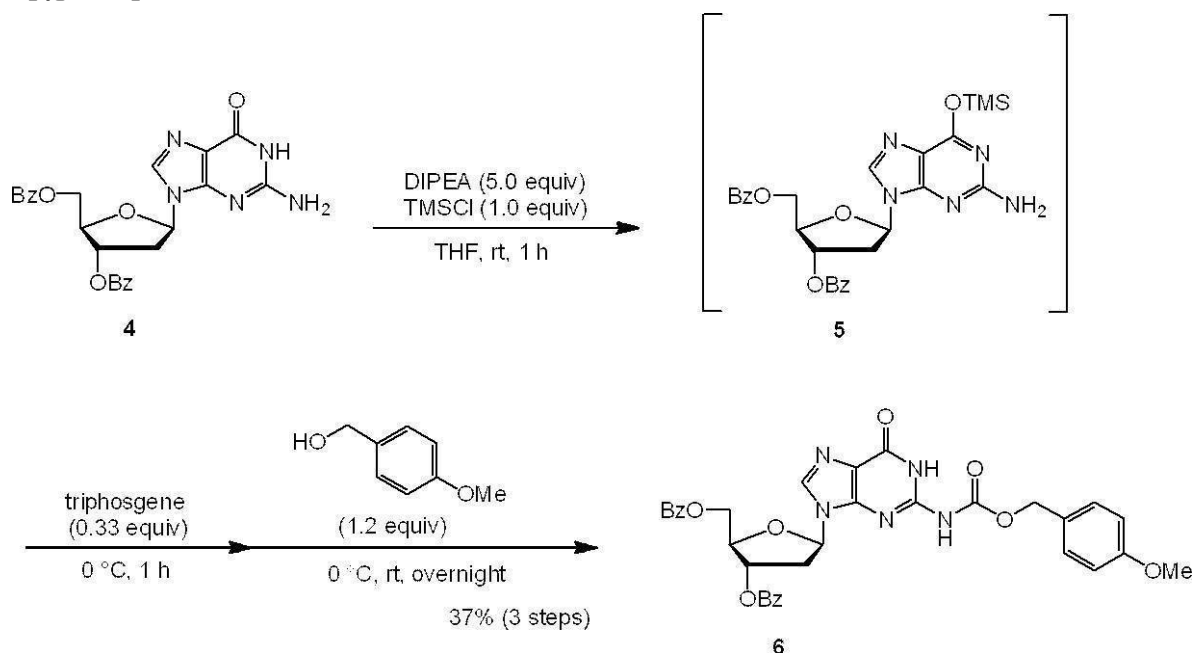
〔3', 5'-bis-O-benzoyl-4N-MCbz-deoxyguanosine [6] の合成〕

3', 5'-bis-O-benzoyldeoxyguanosine (4) (0.52 g, 1.09 mmol) を THF (13.0 mL) 溶液とし、DIPEA (0.95 mL, 5.5 mmol)、TMSCl (0.15 mL, 1.0 mmol) を加え室温で1時間攪拌した。トリホスゲン (0.1 g, 0.35 mmol) を加え、0 °Cで1時間攪拌した。4-methoxybenzyl alcohol (0.17 g, 1.2 mmol) を室温に加え、一晩加熱還流させた。飽和食塩水 (3 × 10 mL) で洗浄し、集めた洗液をCH₂Cl₂ (5 mL) で抽出した。集めた有機層を無水Na₂SO₄で乾燥、ろ過し、減圧下濃縮した。残渣をシリカカラムクロマトグラフィー [neutral silica gel, CH₂Cl₂ - MeOH - pyridine (99:0.5:0.5 to 94.5:5:0.5, v/v)] で分離精製し、6を含むフラクションを回収した。溶媒を減圧留去し、6 (0.09 g, 0.40 mmol, 37%) を黄色フォーム状物質として得た。

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 11.31 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.06-8.04 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.96-7.93 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.72 (s, 1H), 7.64-7.59 (m, 1H), 7.55-7.45 (m, 9H), 7.39-7.34 (m, 4H), 6.94-6.92 (m, 2H), 6.30-6.26 (t, J = 7.2, 6.6 Hz, 1H), 5.80-5.78 (m, 1H), 5.23 (s, 2H), 4.94-4.90 (m, 1H), 4.75-4.69 (m, 1H), 4.69-4.67 (m, 1H), 3.83 (s, 1H), 3.17-3.07 (m, 1H), 2.70-2.65 (m, 1H) .

【0078】

【化17】



【0079】

〔2-chloro-1, 3, 2-oxazaphospholidine [(4S, 5R) -18] の合成〕

(αR, 2S) -7 (1.07 g, 5.16 mmol) を toluene で繰り返し共沸乾燥し、toluene (3 mL) 溶液とし、N-methylmorph

holine (1.13 mL, 10.32 mmol) を加えた。混合溶液をシリンジで、phosphorus trichloride (0.45 mL, 5.16 mmol) の toluene (2.5 mL) 溶液に対し、0 °C でゆっくりと加えた。反応混合物を室温で2時間攪拌後、生じた塩を Ar 雰囲気下、−78 °C でろ別し、Ar 雰囲気下減圧濃縮して 2-chloro-1,3,2-oxazaphospholidine (4S,5R)-18 (1.28 g, 4.71 mmol) を得た。淡黄色オイル。(4S,5R)-18 はこれ以上の精製はおこなわず、反応に用いた。

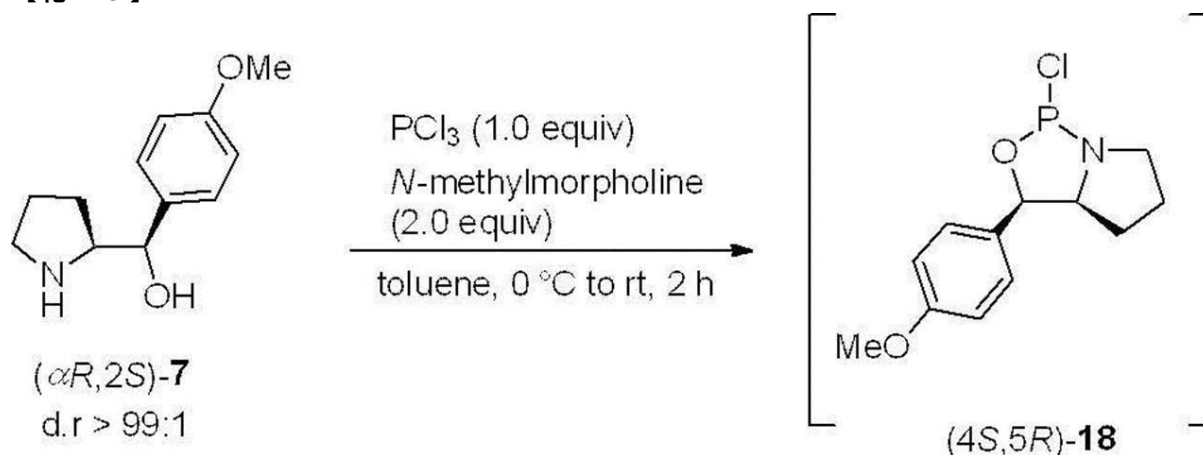
【0080】

[(4R,5S)-18] の合成

(αS,2R)-7 を出発物質として、(4S,5R)-18 と同様の方法により合成した。

【0081】

【化18】



【0082】

[Oxazaphospholidine monomer [(Rp)-20a] の合成]

5'-O-(DMTr) thymidine (9a) (0.86 g, 1.58 mmol) を pyridine、toluene、THF で繰り返し共沸乾燥し、THF (8 mL) 溶液とし、Et₃N (1.52 mL, 11 mmol) を加えた。混合溶液を−78 °C に冷却し、0.5 M (4S,5R)-18 の THF (9.5 mL, 4.75 mmol) 溶液をシリンジでゆっくりと加えた。反応溶液を室温で2時間攪拌し、CHCl₃ (300 mL)、飽和 NaHCO₃ 水溶液 (100 mL) を加えた。有機相を分離し、飽和 NaHCO₃ 水溶液 (2 × 100 mL) で洗浄し、集めた洗液を CHCl₃ (100 mL) で抽出した。集めた有機相を無水 Na₂SO₄ で乾燥、ろ過し、減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [NH-silica gel, toluene-AcOEt (7:3, v/v), Et₃N 0.1%] で分離精製し、(Rp)-20a を含むフラクションを集め、溶媒を減圧留去し、(Rp)-20a (0.53 g, 0.68 mmol, 43%) を無色フォーム状物質として得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.60 (s, 1H), 7.41–7.22 (m, 11H), 6.89–6.79 (m, 6H), 6.43 (t, 1H), 5.68 (d, 1H), 4.94–4.89 (m, 1H), 4.13 (q, 1H), 3.80–3.77 (m, 10H), 3.60–3.53 (m, 1H), 3.49–3.36 (m, 2H), 3.20–3.13 (m, 1H), 2.60–2.55 (m, 1H), 2.40–2.33 (m, 1H), 1.66–1.58 (m, 2H), 1.42 (s, 3H), 1.21–1.14 (m, 1H), 1.00–0.91 (m, 1H). ³¹P NMR (161 MHz, CDCl₃) δ 155.65. FAB-HRMS: Calcd. for

[M+Na]⁺; 802.2869. Found; 802.2866.

(Rp)-20b-d、(Sp)-20a-dの粗生成物は全て上記と同様の方法により得た。これらはシリカゲルカラムクロマトグラフィーの条件のみを示す。

【0083】

[Oxazaphospholidine monomer [(Rp)-20b]の合成]

(Rp)-20bの粗生成物は、9b (1.02 g, 1.47 mmol) と (4S, 5R)-18 (0.80 g, 2.94 mmol) から、(Rp)-20aと同様の方法により得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィー [NH-silica gel, toluene-AcOEt (7:3, v/v), Et₃N 0.1%] により精製し、(Rp)-20b (0.65 g, 0.70 mmol, 47%) を無色フォーム状物質として得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.25 (d, 1H), 7.39-7.13 (m, 13H), 6.91-6.79 (m, 8H), 6.26 (t, 1H), 5.68 (d, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.87-4.81 (m, 1H), 4.16 (q, 1H), 3.83-3.76 (m, 14H), 3.60-3.52 (m, 1H), 3.47 (d, 2H), 3.22-3.13 (m, 1H), 2.82-2.75 (m, 1H), 2.38-2.32 (m, 1H), 1.67-1.57 (m, 2H), 1.22-1.15 (m, 1H), 1.01-0.94 (m, 1H). ³¹P NMR (161 MHz, CDCl₃) δ 156.72. FAB-HRMS: Calcd. for [M+H]⁺; 929.3527. Found; 929.3528.

【0084】

[Oxazaphospholidine monomer [(Rp)-20c]の合成]

(Rp)-20cの粗生成物は、9c (1.05 g, 1.47 mmol) と (4S, 5R)-18 (0.80 g, 2.94 mmol) から、(Rp)-20aと同様の方法により得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィー [NH-silica gel, toluene-AcOEt (8:2, v/v), Et₃N 0.1%] により精製し、(Rp)-20c (0.62 g, 0.65 mmol, 44%) を無色フォーム状物質として得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.67 (s, 1H), 8.30 (br, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.38-7.35 (m, 4H), 7.29-7.14 (m, 9H), 6.91-6.86 (m, 4H), 6.75-6.70 (m, 4H), 6.47 (t, 1H), 5.77 (d, 1H), 5.22 (s, 2H), 5.09-5.03 (m, 1H), 4.29 (q, 1H), 3.88-3.84 (m, 1H), 3.81 (s, 6H), 3.74 (s, 6H), 3.62-3.54 (m, 1H), 3.41-3.33 (m, 2H), 3.20-3.11 (m, 1H), 2.99-2.92 (m, 1H), 2.71-2.65 (m, 1H), 1.68-1.59 (m, 2H), 1.26-1.16 (m, 1H), 1.03-0.94 (m, 1H). ³¹P NMR (161 MHz, CDCl₃) δ 154.97. FAB-HRMS: Calcd. for [M+Na]⁺; 975.3458. Found; 975.3459.

【0085】

[Oxazaphospholidine monomer [(Rp)-20d]の合成]

(Rp)-20dの粗生成物は、9d (0.67 g, 1.00 mmol) と (4S, 5R)-18 (1.07 g, 3.95 mmol) から、(Rp)-20aと同様の方法により得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィー [NH-silica gel, toluene-AcOEt (9:1, v/v), Et₃N 0.1%] により精製し、(Rp)-20d (0.34 g, 0.38 mmol, 38%) を無色フォーム状物質として得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.69 (s, 1H), 7.43–7.13 (m, 11H), 6.92–6.74 (m, 6H), 6.33 (t, 1H), 5.75 (d, 1H), 5.04 (m, 1H), 4.65–4.53 (m, 4H), 4.26 (q, 1H), 3.92–3.74 (m, 10H), 3.64–3.53 (m, 1H), 3.41–3.30 (m, 2H), 3.20–3.13 (m, 1H), 2.57–2.55 (m, 1H), 2.24–2.19 (m, 1H), 1.68–1.55 (m, 2H), 1.26–1.12 (m, 3H), 1.03–0.96 (m, 1H), 0.08 (s, 9H). ^{31}P NMR (161 MHz, CDCl_3) δ 155.04. FAB-HRMS: Calcd. for $[\text{M}+\text{H}]^+$; 905.3823. Found; 905.3826.

10

【0086】

[Oxazaphospholidine monomer [(Sp)–20a]]

(Sp)–20aの粗生成物は、9a (0.85 g, 1.57 mmol) と (4R, 5S)–18 (1.28 g, 4.71 mmol) から、(Rp)–20aと同様の方法により得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィー [NH–silica gel, toluene–AcOEt (7:3, v/v), Et_3N 0.1%] により精製し、(Sp)–20a (0.82 g, 1.05 mmol, 67%) を無色フォーム状物質として得た。

20

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.02 (br, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.42–7.16 (m, 11H), 6.90–6.82 (m, 6H), 6.41 (t, 1H), 5.63 (d, 1H), 4.94–4.89 (m, 1H), 4.18 (q, 1H), 3.86–3.76 (m, 10H), 3.56–3.48 (m, 1H), 3.39–3.34 (m, 2H), 3.20–3.13 (m, 1H), 2.50–2.43 (m, 1H), 2.39–2.31 (m, 1H), 1.64–1.59 (m, 2H), 1.40 (s, 3H), 1.25–1.19 (m, 1H), 1.06–0.90 (m, 1H). ^{31}P NMR (161 MHz, CDCl_3) δ 156.12. FAB-HRMS: Calcd. for $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 802.2869. Found; 802.2874.

30

【0087】

[Oxazaphospholidine monomer [(Sp)–20b]の合成]

(Sp)–20bの粗生成物は、9b (1.01 g, 1.46 mmol) と (4R, 5S)–18 (1.00 g, 3.67 mmol) から、(Rp)–20aと同様の方法により得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィー [NH–silica gel, toluene–AcOEt (7:3, v/v), Et_3N 0.1%] により精製し、(Sp)–20b (0.55 g, 0.59 mmol, 40%) を無色フォーム状物質として得た。

40

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.36 (d, 1H), 7.43–7.16 (m, 13H), 6.94–6.84 (m, 8H), 6.24 (t, 1H), 5.68 (d, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.90–4.83 (m, 1H), 4.18 (q, 1H), 3.87–3.76 (m, 14H), 3.57–3.44 (m, 3H), 3.21–3.13 (m, 1H), 2.69–2.63 (m, 1H), 2.41–2.32 (m, 1H), 1.69–1.60 (m, 2H), 1.25–1.17 (m, 1H), 1.04–0.95 (m, 1H). ^{31}P NMR (161 MHz, CDCl_3) δ 155.97. FAB-HRMS: Calcd. for $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 951.3346. Found; 951.3349.

【0088】

[Oxazaphospholidine monomer [(Sp)–20c]の合成]

50

(Sp)-20cの粗生成物は、9c (1.05 g, 1.46 mmol) と (4R,5S)-18 (1.00 g, 3.67 mmol) から、(Rp)-20aと同様の方法により得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィー [NH-silica gel, toluene-AcOEt (8:2, v/v), Et₃N 0.1%] により精製し、(Sp)-20c (0.67 g, 0.70 mmol, 48%) を無色フォーム状物質として得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.67 (s, 1H), 8.29 (br, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.41-7.35 (m, 4H), 7.30-7.12 (m, 9H), 6.91-6.74 (m, 8H), 6.46 (t, 1H), 5.72 (d, 1H), 5.22 (s, 2H), 5.06-5.00 (m, 1H), 4.34 (q, 1H), 3.91-3.85 (m, 1H), 3.80 (s, 6H), 3.76 (s, 6H), 3.62-3.52 (m, 1H), 3.48-3.34 (m, 2H), 3.22-3.13 (m, 1H), 2.94-2.88 (m, 1H), 2.63-2.58 (m, 1H), 1.69-1.58 (m, 2H), 1.26-1.19 (m, 1H), 1.06-0.98 (m, 1H). ³¹P NMR (161 MHz, CDCl₃) δ 155.36. FAB-HRMS: Calcd. for [M+H]⁺; 953.3639. Found; 953.3643.

[0089]

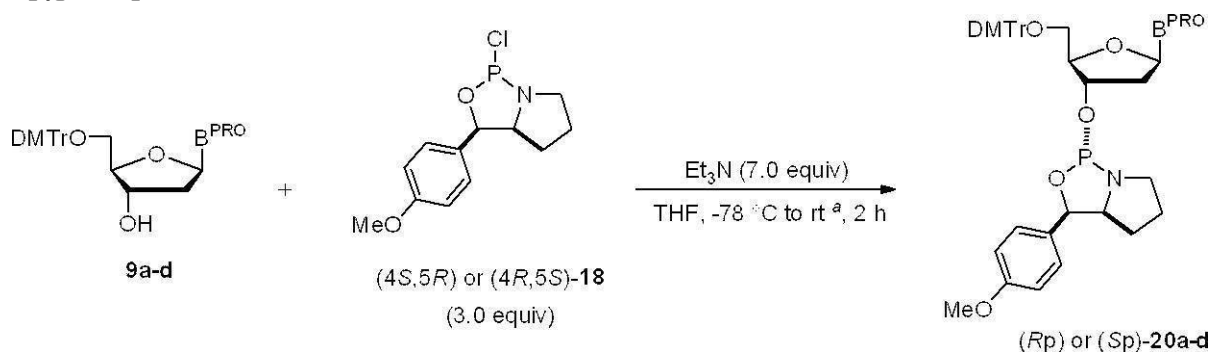
[Oxazaphospholidine monomer [(Sp)-20d]の合成]

(Sp)-20dの粗生成物は、9d (0.67 g, 1.00 mmol) と (4R,5S)-18 (1.07 g, 3.95 mmol) から、(Rp)-20aと同様の方法により得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィー [NH-silica gel, toluene-AcOEt (9:1, v/v), Et₃N 0.1%] により精製し、(Sp)-20d (0.34 g, 0.38 mmol, 38%) を無色フォーム状物質として得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.73 (s, 1H), 7.44-7.13 (m, 11H), 6.88-6.78 (m, 6H), 6.30 (t, 1H), 5.71 (d, 1H), 5.01 (m, 1H), 4.61-4.53 (m, 4H), 4.30 (q, 1H), 3.90-3.77 (m, 10H), 3.62-3.52 (m, 1H), 3.46-3.42 (m, 1H), 3.33-3.30 (m, 1H), 3.22-3.13 (m, 1H), 2.52-2.48 (m, 1H), 2.25-2.20 (m, 1H), 1.66-1.59 (m, 2H), 1.26-1.19 (m, 3H), 1.07-0.98 (m, 1H), 0.08 (s, 9H). ³¹P NMR (161 MHz, CDCl₃) δ 155.36. FAB-HRMS: Calcd. for [M+H]⁺; 905.3823. Found; 905.3825.

[0090]

[化19]



[0091]

表 1 に、各モノマーの合成に用いた 9 a ~ 9 d (保護基により保護された塩基)、使用した化合物 1 8、各モノマーの収率、及び、得られたモノマーに含まれる R p 体と S p 体の質量比を記載した。

表 1 中、T h の記載はチミンを、C y M C b z の記載は M C b z 基によりアミノ基が保護されたシトシンを、A d M C b z の記載は M C b z 基によりアミノ基が保護されたアデニンを、G u T s e の記載はトリメチルシリル基によりアミノ基が保護されたグアニンを、それぞれ示している。

【 0 0 9 2 】

【表 1】

エントリー	9a~9d		18	20	
	使用化合物	含まれる塩基		収率 (%)	R _p : S _p ^b
1	9a	Th	(4 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)	43	>99:1
2	9b	Cy ^{MCbz}	(4 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)	47	>99:1
3	9c	Ad ^{MCbz}	(4 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)	44	>99:1
4	9d	Gu ^{Tse}	(4 <i>S</i> , 5 <i>R</i>)	37	>99:1
5	9a	Th	(4 <i>R</i> , 5 <i>S</i>)	67	>1:99
6	9b	Cy ^{MCbz}	(4 <i>R</i> , 5 <i>S</i>)	40	>1:99
7	9c	Ad ^{MCbz}	(4 <i>R</i> , 5 <i>S</i>)	48	>1:99
8	9d	Gu ^{Tse}	(4 <i>R</i> , 5 <i>S</i>)	38	>1:99

【 0 0 9 3 】

a エントリー 4 及び 8 においては、上述の E t ₃ N による処理条件を - 7 8 °C とした。

b ³¹P NMR を用いて測定した。

【 0 0 9 4 】

< ボラノホスフェート DNA の合成 1 >

ボラノホスフェート DNA (P B - DNA) (2 4 a - d , 2 5 , 2 6) の手動固相合成は、固相担体として C P G (C o n t r o l l e d - p o r e g l a s s) を、反応容器には、下部にコックを有するガラスフィルター (1 0 m m × 5 0 m m) を用いて行った。

まず、C P G にサクシニルリンカーを介して担持した 5 ' - O - (D M T r) t h y m i d i n e (2 7) を 1 % T F A / C H ₂ C l ₂ で処理 (4 × 5 s) し、5 ' - O - D M T r 基を除去した後、以下の (i) から (v) のステップを行い、H - p h o s p h o n a t e DNA (2 3) を合成した。

(i) w a s h i n g (C H ₂ C l ₂ 、 C H ₃ C N)

(i i) c o u p l i n g (0 . 2 M m o n o m e r 2 0 a - d a n d 1 . 0 M C M P T (2 1) i n C H ₃ C N ; 5 m i n) ,

(i i i) w a s h i n g (C H ₃ C N 、 C H ₂ C l ₂)

(i v) 1 % T F A / C H ₂ C l ₂ - E t ₃ S i H (1 : 1 , v / v) (4 × 1 m i

(v) washing (CH_3CN , CH_2Cl_2)

【 0 0 9 5 】

【化 2 0】


$$B^{PRO} = Th, Cy^{MCbz}, Ad^{MCbz}, Gu^{Tse}$$

【 0 0 9 6 】

30

【 0 0 9 7 】

【表 2】

エン トリー	PB-DNAの配列 ^a		ボラノ化の 反応条件	収率 (%) ^b	立体化学的純度 ^b
1	(Rp)-24a	(Rp)-T _B T	25 °C, 3 h	91	98:2
2	(Rp)-24b	(Rp)-dC _B T	25 °C, 3 h	91	>99:1
3	(Rp)-24c	(Rp)-dA _B T	25 °C, 3 h	—	>99:1
4	(Rp)-24c	(Rp)-dA _B T	55 °C, 12 h	88	>99:1
5	(Rp)-24d	(Rp)-dG _B T	55 °C, 12 h	77	>99:1
6	(Sp)-24a	(Sp)-T _B T	25 °C, 3 h	88	>99:1
7	(Sp)-24b	(Sp)-dC _B T	25 °C, 3 h	93	98:2
8	(Sp)-24c	(Sp)-dA _B T	25 °C, 3 h	—	>99:1
9	(Sp)-24c	(Sp)-dA _B T	55 °C, 12 h	87	>99:1
10	(Sp)-24d	(Sp)-dG _B T	55 °C, 12 h	77	97:3
11	25	all-(Rp)-d(C _B A _B G _B T)	55 °C, 12 h	14 ^c	—
12	26	all-(Sp)-d(C _B A _B G _B T)	55 °C, 12 h	23 ^c	—

a 「B」はボラノホスフェート構造により結合していることを示している。

b 逆相HPLCにより算出した。HPLCチャートは図1～図7に記載した。

c 単離収率

【0098】

図1は、(A) (Rp)-T_BT [(Rp)-24a]の合成反応液(クールド)及び(B) (Sp)-T_BT [(Sp)-24a]の合成反応液(クールド)の逆相HPLCの結果を示すHPLCチャートである。

逆相HPLCの測定条件は下記の通りとした。

グラジエントサイクル：0.1Mトリエチルアンモニウム緩衝液(pH7.0)においてアセトニトリルを0%～10%まで30分間直線グラジエントの後、アセトニトリルを10%のまま30分間保持。

測定温度：30℃

流速：0.5mL/min

カラム：μBondasphere 5 μm C18 column (100 Å, 3.9 mm × 150 mm) (Waters)

【0099】

図2は、(C) (Rp)-dC_BT [(Rp)-24b]の合成反応液(クールド)及び(D) (Sp)-dC_BT [(Sp)-24b]の合成反応液(クールド)の逆相HPLCの結果を示すHPLCチャートである。

逆相HPLCの測定条件は下記の通りとした。

グラジエントサイクル：0.1Mトリエチルアンモニウム緩衝液(pH7.0)においてアセトニトリルを0%～10%まで30分間直線グラジエントの後、アセトニトリルを10%のまま20分間保持。

測定温度：30℃

流速：0.5mL/min

カラム：μBondasphere 5 μm C18 column (100 Å, 3.9 mm × 150 mm) (Waters)

【0100】

図3は、(E) (Rp)-dA_BT [(Rp)-24c]の合成反応液(クールド)及び(D) (Sp)-dA_BT [(Sp)-24c]の合成反応液(クールド)の逆相HPLCの結果を示すHPLCチャートである。

逆相HPLCの測定条件は下記の通りとした。

グラジエントサイクル：0.1Mトリエチルアンモニウム緩衝液(pH7.0)においてアセトニトリルを0%～30%まで60分間直線グラジエント。

測定温度：30℃

10

20

30

40

50

流速：0.5 mL/min

カラム：μBondasphere 5 μm C18 column (100 Å, 3.9 mm × 150 mm) (Waters)

【0101】

図4は、(G) (Rp)-dABT [(Rp)-24c] の合成反応液 (クルード) 及び (H) (Sp)-dABT [(Sp)-24c] の合成反応液 (クルード) の逆相 HPLC の結果を示す HPLC チャートである。

逆相 HPLC の測定条件は下記の通りとした。

グラジエントサイクル：0.1 M トリエチルアンモニウム緩衝液 (pH 7.0) においてアセトニトリルを 0% ~ 30% まで 60 分間直線グラジエント。

10

測定温度：30℃

流速：0.5 mL/min

カラム：μBondasphere 5 μm C18 column (100 Å, 3.9 mm × 150 mm) (Waters)

【0102】

図5は、(I) (Rp)-dGBT [(Rp)-24d] の合成反応液 (クルード) 及び (J) (Sp)-dGBT [(Sp)-24d] の合成反応液 (クルード) の逆相 HPLC の結果を示す HPLC チャートである。

逆相 HPLC の測定条件は下記の通りとした。

グラジエントサイクル：0.1 M トリエチルアンモニウム緩衝液 (pH 7.0) においてアセトニトリルを 0% ~ 30% まで 60 分間直線グラジエント。

20

測定温度：30℃

流速：0.5 mL/min

カラム：μBondasphere 5 μm C18 column (100 Å, 3.9 mm × 150 mm) (Waters)

【0103】

図6は、(K) all-(Rp)-d (CBABGBT) [25] の合成反応液 (クルード) 及び (L) all-(Sp)-d (CBABGBT) [26] の合成反応液 (クルード) の逆相 HPLC の結果を示す HPLC チャートである。

逆相 HPLC の測定条件は下記の通りとした。

グラジエントサイクル：0.1 M トリエチルアンモニウム緩衝液 (pH 7.0) においてアセトニトリルを 0% ~ 20% まで 60 分間直線グラジエント。

30

測定温度：30℃

流速：0.5 mL/min

カラム：μBondasphere 5 μm C18 column (100 Å, 3.9 mm × 150 mm) (Waters)

【0104】

図7は、(K) all-(Rp)-d (CBABGBT) [25] の精製物及び (L) all-(Sp)-d (CBABGBT) [26] の精製物の逆相 HPLC の結果を示す HPLC チャートである。

逆相 HPLC の測定条件は下記の通りとした。

グラジエントサイクル：0.1 M トリエチルアンモニウム緩衝液 (pH 7.0) においてアセトニトリルを 0% ~ 20% まで 60 分間直線グラジエント。

40

測定温度：30℃

流速：0.5 mL/min

カラム：μBondasphere 5 μm C18 column (100 Å, 3.9 mm × 150 mm) (Waters)

【0105】

得られたボラノホスフェート DNA (PB-DNA) の配列、化学式 $[-H^+]$ 、分子量 (MS) の理論値及び ESI-MS による実測値をそれぞれ表3に記載した。なお、表

50

3 中、R p 又は S p の記載は、オリゴマー中のボラノホスフェート構造の絶対立体配置が S p 又は R p のいずれであることを示している。a l l - (R p) の記載は、オリゴマー中のボラノホスフェート構造の絶対立体配置が全て R p であることを、a l l - (S p) の記載は、オリゴマー中のボラノホスフェート構造の絶対立体配置が全て S p であることを、それぞれ示している。

【 0 1 0 6 】

【表 3】

PB-DNA ^a		化学式 [-H ⁺]	理論値	実測値
(R _p)-24a	(R _p)-T _B T	C ₂₀ H ₂₉ BN ₄ O ₁₁ P ⁻	542.1705	542.1695
(R _p)-24b	(R _p)-dC _B T	C ₁₉ H ₂₈ BN ₅ O ₁₀ P ⁻	527.1709	527.1708
(R _p)-24c	(R _p)-dA _B T	C ₂₀ H ₂₈ BN ₇ O ₉ P ⁻	551.1821	551.1826
(R _p)-24d	(R _p)-dG _B T	C ₂₀ H ₂₈ BN ₇ O ₁₀ P ⁻	567.1770	567.1761
(S _p)-24a	(S _p)-T _B T	C ₂₀ H ₂₉ BN ₄ O ₁₁ P ⁻	542.1705	542.1700
(S _p)-24b	(S _p)-dC _B T	C ₁₉ H ₂₈ BN ₅ O ₁₀ P ⁻	527.1709	527.1710
(S _p)-24c	(S _p)-dA _B T	C ₂₀ H ₂₈ BN ₇ O ₉ P ⁻	551.1821	551.1821
(S _p)-24d	(S _p)-dG _B T	C ₂₀ H ₂₈ BN ₇ O ₁₀ P ⁻	567.1770	567.1763
25	a l l - (R _p) - d (C _B A _B G _B T)	C ₃₉ H ₅₇ B ₃ N ₁₅ O ₁₉ P ₃ ⁻	1166.3549	1166.3547
26	a l l - (S _p) - d (C _B A _B G _B T)	C ₃₉ H ₅₇ B ₃ N ₁₅ O ₁₉ P ₃ ⁻	1166.3549	1166.3542

【 0 1 0 7 】

^a 「B」はボラノホスフェート構造により結合していることを示している。

【 0 1 0 8 】

<ボラノホスフェートDNAの合成2>

下記スキームに従って、ボラノホスフェートDNA (PB-DNA) [27]を合成した。配列は、a l l - (S p) - d (G B T B (A B C B T B) 3 T) とした。固相担体としてはCPG (Controlled-pore glass) を、反応容器には、下部にコックを有するグラスフィルター (10 mm × 50 mm) を用いて行った。単離収率は1.5%であった。

その他、詳細な反応条件は下記表4に記載した。

【 0 1 0 9 】

10

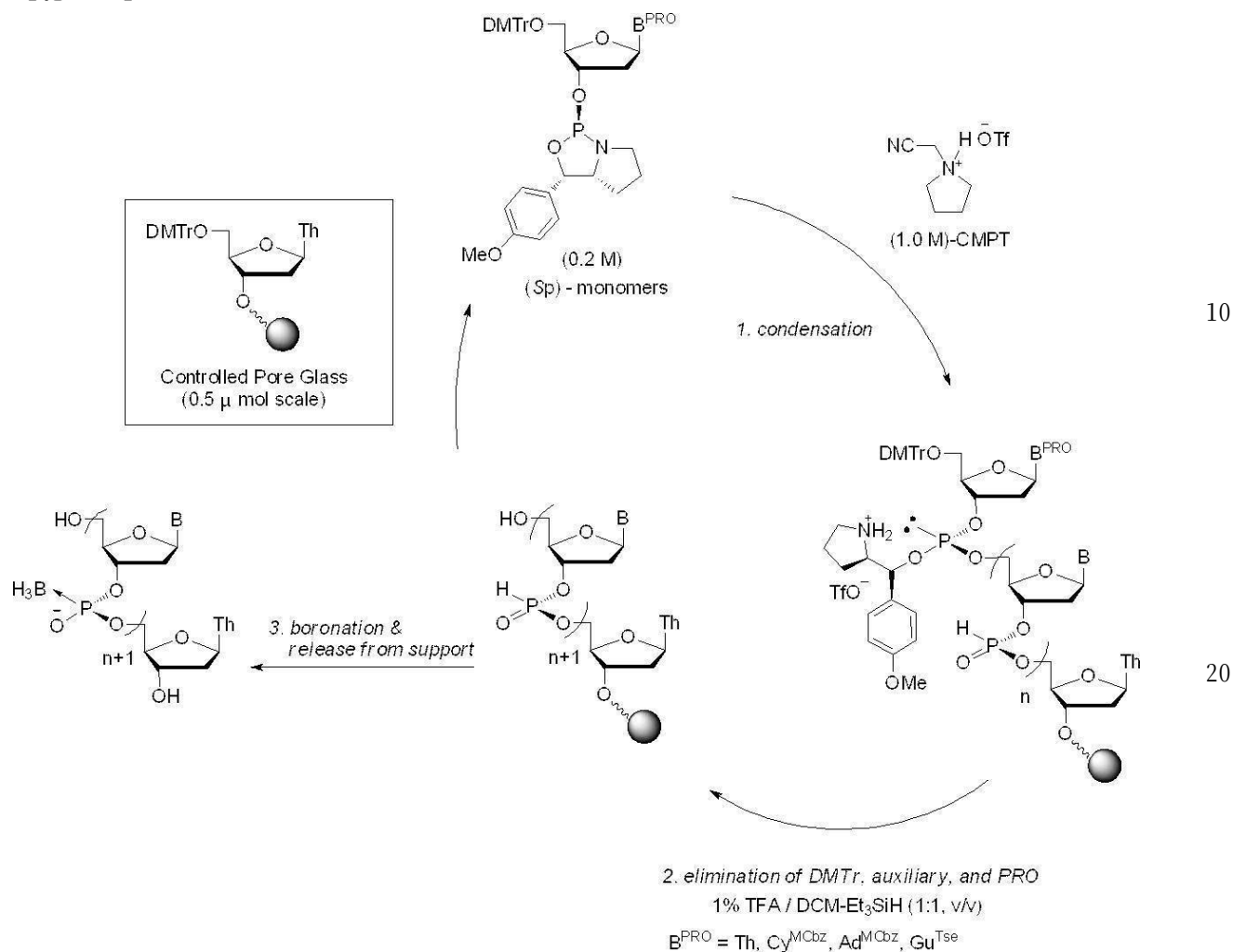
20

30

40

50

【化 2 1】



【 0 1 1 0】

【表 4】

step	manipulation	reagents and solvents	time
1	detritylation	1% TFA in DCM	15 s
2	wash	(1) DCM (2) CH ₃ CN	---
3	drying	---	5 min
4	condensation	monomer units (0.2 M), CMPT (1.0 M) /CH ₃ CN	5 min
5	wash	CH ₃ CN	---
6	drying	---	5 min
7	wash	(1) DCM (2) CH ₃ CN	---
8	detritylation and deprotection	1% TFA in DCM-Et ₃ SiH (1:1, v/v)	5 min
repeat steps 2-8 in order to synthesize the objective sequence			
9	wash	(1) DCM (2) CH ₃ CN	---
10	boronation	BH ₃ · SMe ₂ -BSA-DMAc (1:1:8, v/v/v)	15 min
11	wash	(1) DMAc (2) CH ₃ CN	---
12	release the oligomer from the CPG	sat.NH ₃ aq-EtOH (3:1, v/v, 50 °C)	12 h

【 0 1 1 1】

上記表 4 中、monomer unitsは化合物 2 0 a - dを表す。

【 0 1 1 2】

図 8 は、(O) a l l - (S p) - d (G B T B (A B C B T B) 3 T) [2 7] の合成反応液 (クルード) 及び (P) a l l - (S p) - d (G B T B (A B C B T B) 3 T) [2 7] の精製物の逆相 H P L C の結果を示す H P L C チャートである。

逆相 H P L C の測定条件は下記の通りとした。

10

20

30

40

50

グラジエントサイクル：0.1 M トリエチルアンモニウム緩衝液 (pH 7.0) においてアセトニトリルを0%～40%まで60分間直線グラジエント。

測定温度：30℃

流速：0.5 mL/min

カラム：μBondasphere 5 μm C18 column (100 Å, 3.9 mm × 150 mm) (Waters)

【0113】

<ボラノホスフェートDNAの合成3 (比較例)>

下記スキームに従って、ボラノホスフェートDNA (PB-DNA) [28、29]を合成した。配列は、all-(Sp)-d(CBAGBTB)₂(CBAGB)T [28] 又はall-(Rp)-d(CBAGBTB)₂(CBAGB)T [29]とした。固相担体としてはCPG (Controlled-pore glass)を、反応容器には、下部にコックを有するグラスフィルター (10mm×50mm)を用いて行った。

その他、詳細な反応条件は下記表5に記載した。

【0114】

10

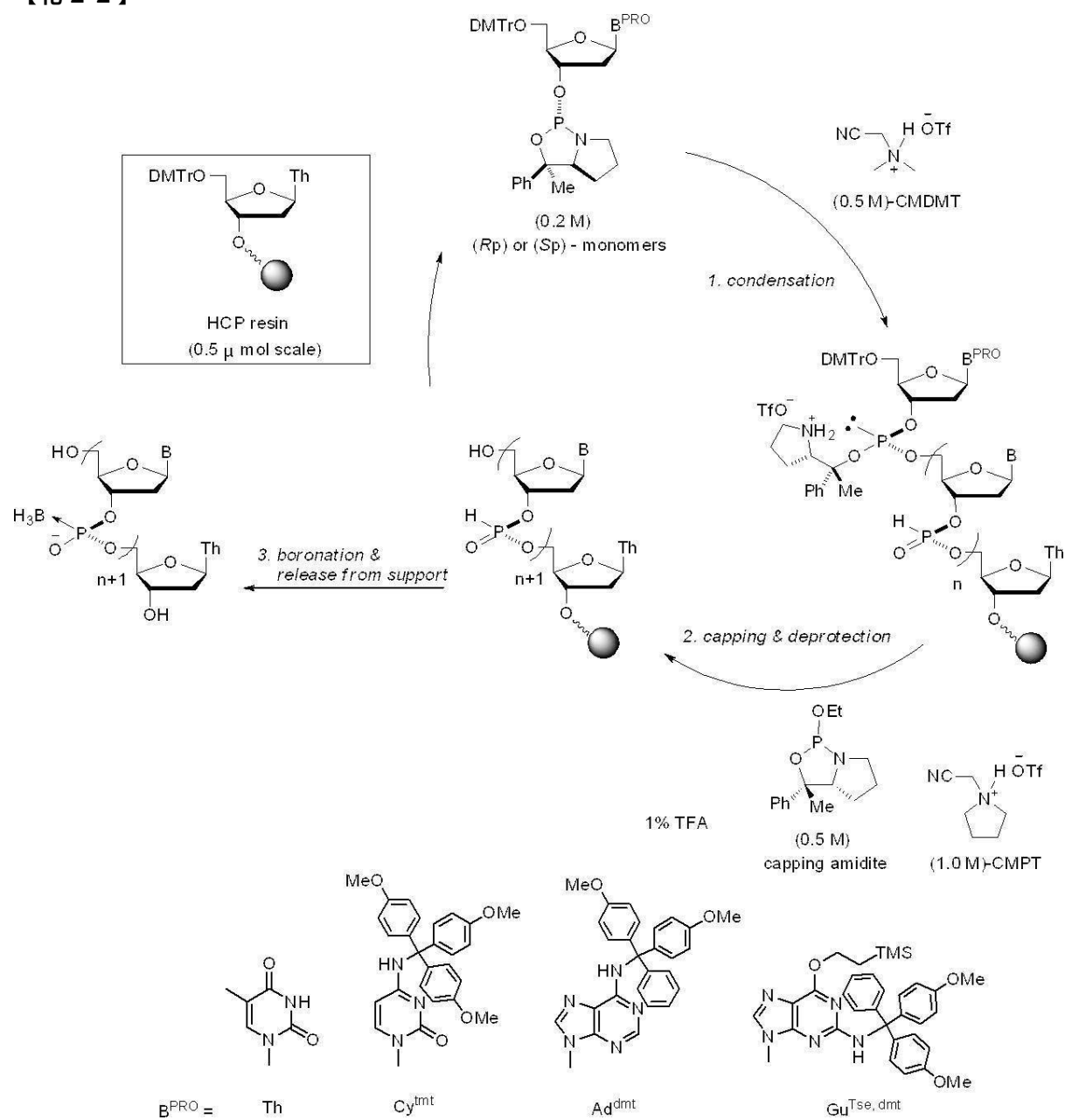
20

30

40

50

【化 2 2】



【 0 1 1 5】

10

20

30

40

50

【表 5】

step	manipulation	reagents and solvents	time
1	detritylation	1% TFA in DCM	15 s
2	wash	(1) DCM (2) CH ₃ CN	---
3	drying	---	10 min
4	condensation	monomer units (0.2 M), CMDMT (0.5 M) /CH ₃ CN-NMP (4:1, v/v)	5 min
5	wash	CH ₃ CN	---
6	drying	---	5 min
7	capping	capping amidite (0.5 M), CMPT (1.0 M) /CH ₃ CN	5 min
8	wash	(1) DCM (2) CH ₃ CN	---
9	detritylation and deprotection	1% TFA in DCM-Et ₃ SiH (1:1, v/v)	15 s
<i>repeat steps 2-9 in order to synthesize the objective sequence</i>			
10	wash	(1) DCM (2) CH ₃ CN	---
11	boronation	BH ₃ • SMe ₂ -BSA-DMAc (1:1:8, v/v/v)	15 min
12	wash	(1) DMAc (2) CH ₃ CN (3) CH ₃ OH	---
13	release the oligomer from the HCP resin	sat.NH ₃ in CH ₃ OH (50 °C, 0.1 mM)	12 h

10

【0116】

図9は、(Q) a l l - (S p) - d (C B A B G B T B) 2 (C B A B G B) T [28] の合成反応液 (クルード) 及び (R) a l l - (R p) - d (C B A B G B T B) 2 (C B A B G B) T [29] の合成反応液 (クルード) の逆相HPLCの結果を示すHPLCチャートである。

20

逆相HPLCの測定条件は下記の通りとした。

グラジエントサイクル：0.1Mトリエチルアンモニウム緩衝液 (pH7.0) においてアセトニトリルを0%~40%まで60分間直線グラジエント。

測定温度：30℃

流速：0.5mL/min

カラム：μBondasphere 5 μm C18 column (100 Å, 3.9 mm × 150 mm) (Waters)

図9からわかるように、本比較例によれば、ボラノホスフェートDNAを合成することは不可能であった。

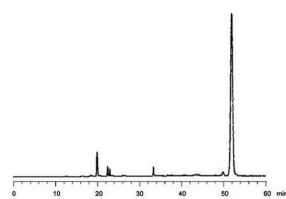
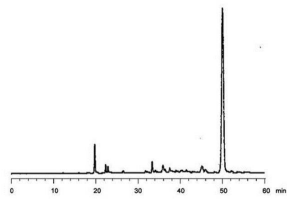
30

40

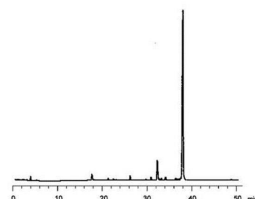
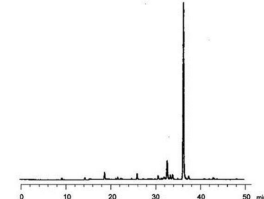
50

【図面】

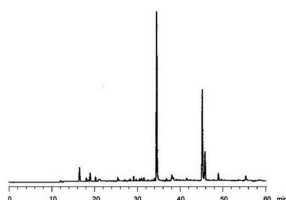
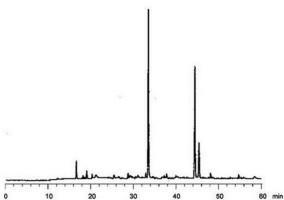
【図 1】

(A) crude (*Rp*)-T₁T [entry 1, (*Rp*)-24a](B) crude (*Sp*)-T₁T [entry 6, (*Sp*)-24a]

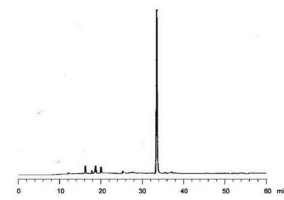
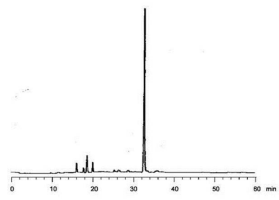
【図 2】

(C) crude (*Rp*)-dC₁T [entry 2, (*Rp*)-24b](D) crude (*Sp*)-dC₁T [entry 7, (*Sp*)-24b]

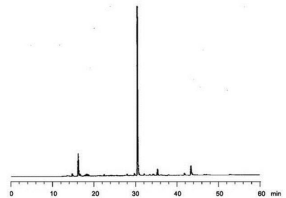
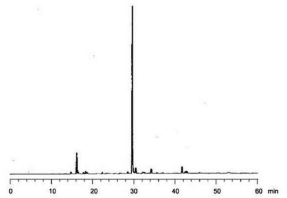
【図 3】

(E) crude (*Rp*)-dA₁T [entry 3, (*Rp*)-24c](F) crude (*Sp*)-dA₁T [entry 8, (*Sp*)-24c]

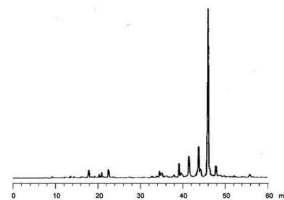
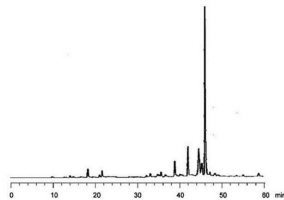
【図 4】

(G) crude (*Rp*)-dA₁T [entry 4, (*Rp*)-24c](H) crude (*Sp*)-dA₁T [entry 9, (*Sp*)-24c]

【図 5】

(I) crude (*Rp*)-dG₁T [entry 5, (*Rp*)-24d](J) crude (*Sp*)-dG₁T [entry 10, (*Sp*)-24d]

【図 6】

(K) all-(*Rp*)-d (C₁A₁G₁T) [entry 11, 25]
(crude)(L) all-(*Sp*)-d (C₁A₁G₁T) [entry 12, 26]
(crude)

10

20

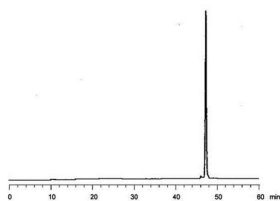
30

40

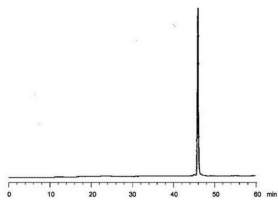
50

【図 7】

(M) all-(Rp)-d(C₁₈A₁₈G₁₈T) [entry 11, 25]
(purified)

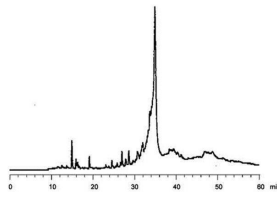


(N) all-(Sp)-d(C₁₈A₁₈G₁₈T) [entry 12, 26]
(purified)

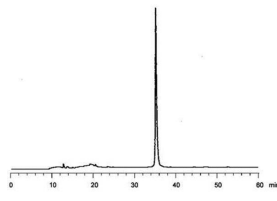


【図 8】

(O)
crude all-(Sp)-d(C₁₈A₁₈G₁₈T)₂(C₁₈A₁₈G₁₈)T



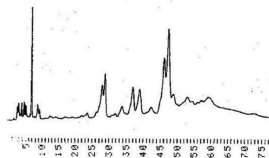
(P)
purified all-(Sp)-d(C₁₈A₁₈G₁₈T)₂(C₁₈A₁₈G₁₈)T



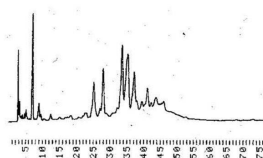
10

【図 9】

(Q)
crude all-(Sp)-d(C₁₈A₁₈G₁₈T)₂(C₁₈A₁₈G₁₈)T



(R)
crude all-(Rp)-d(C₁₈A₁₈G₁₈T)₂(C₁₈A₁₈G₁₈)T



20

30

40

50

フロントページの続き

(72)発明者 石井 友香

東京都新宿区神楽坂一丁目3番地 学校法人東京理科大学内

(72)発明者 額賀 陽平

東京都新宿区神楽坂一丁目3番地 学校法人東京理科大学内

審査官 松澤 優子

(56)参考文献 特許第5847700(JP, B2)

J. Org. Chem., 2016年03月03日, Vol.81, pp.2753-2762

J. AM. CHEM. SOC., 2008年, Vol.130, pp.16031-16037

Tetrahedron Letters, 2012年, Vol.53, pp.4361-4364

RSC Advances, 2015年, Vol.5, pp.2392-2395

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C07H

Caplus/REGISTRY(STN)