

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2021年9月10日(10.09.2021)



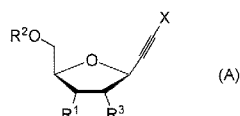
(10) 国際公開番号

WO 2021/177123 A1

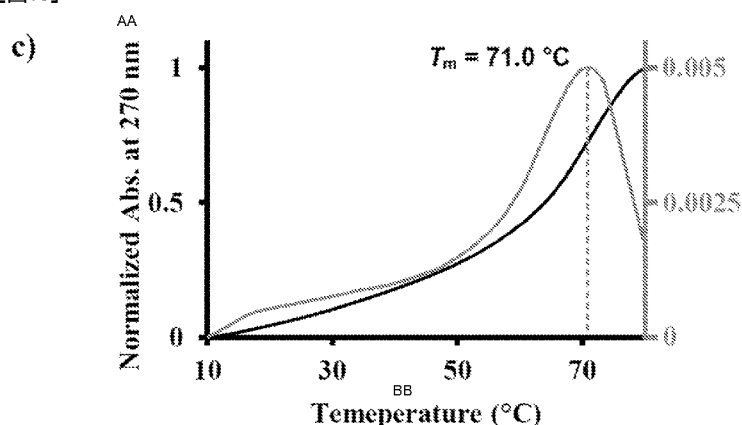
- (51) 国際特許分類:
C07D 405/06 (2006.01) C07F 7/18 (2006.01)
C07B 61/00 (2006.01) C07F 9/6558 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2021/006992
- (22) 国際出願日: 2021年2月25日(25.02.2021)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2020-036320 2020年3月3日(03.03.2020) JP
- (71) 出願人: 国立大学法人富山大学(UNIVERSITY OF TOYAMA) [JP/JP]; 〒9308555 富山県富山市五福3 1 9 0 Toyama (JP).
- (72) 発明者: 千葉 順哉(CHIBA Junya); 〒9300194 富山県富山市杉谷2 6 3 0 国立大学法人富山大学杉谷キャンパス内 Toyama (JP). 井上 将彦(INOUE Masahiko); 〒9300194 富山県富山市杉谷2 6 3 0 国立大学法人富山大学杉谷キャンパス内 Toyama (JP). 黒崎 史大(KUROSAKI Fumihiko); 〒9300194 富山県富山市杉谷2 6 3 0 国立大学法人富山大学杉谷キャンパス内 Toyama (JP).
- (74) 代理人: 岩谷 龍(IWATANI Ryo); 〒5300003 大阪府大阪市北区堂島2 丁目1 番3 1 号 京阪堂島ビル6階 Osaka (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,

(54) Title: ARTIFICIAL NUCLEIC ACID

(54) 発明の名称: 人工核酸



【図1C】



(57) **Abstract:** Provided are, inter alia, novel compounds. Also provided are a nucleic acid detection substance and a base pair formed by this polymer, and a nucleic acid drug containing the polymer or base pair. The compounds are represented by formula (A). [In formula (A), X is an aromatic ring group, R¹ is -OR^{1a} (In the formula, R^{1a} represents a hydrogen atom or a substituent.) or a phosphoramidite group, R² is a hydrogen atom or a substituent, R³ is a halogen atom or -OR^{3a} (In the formula, R^{3a} represents a hydrogen atom or a substituent.).]

CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 一 国際調査報告(条約第21条(3))

(57) 要約: 新規な化合物等を提供することである。また、この重合体により形成される塩基対及び核酸検出材料、並びにこれらの重合体又は塩基対を含む核酸医薬を提供することである。下記式(A)で表される化合物である。[式(A)中、Xは、芳香環基であり、 R^1 は、 $-OR^{1a}$ (式中、 R^{1a} は、水素原子又は置換基を示す。)又はホスホロアミダイト基であり、 R^2 は、水素原子又は置換基であり、 R^3 は、ハロゲン原子又は $-OR^{3a}$ (式中、 R^{3a} は、水素原子又は置換基を示す。)である。]

明 細 書

発明の名称：人工核酸

技術分野

[0001] 本発明は、新規な化合物等に関する。

背景技術

[0002] デオキシリボース骨格及び核酸塩基骨格が炭素－炭素3重結合を介して結合する人工的に合成されたDNA（人工DNA）の開発が行われてきた（非特許文献1、非特許文献2、非特許文献3及び非特許文献4参照）。

先行技術文献

非特許文献

[0003] 非特許文献1：J. Am. Chem. Soc., 130, 8762-8768, 2008

非特許文献2：Chem. Commun., 51, 7043-7046, 2015

非特許文献3：ChemBioChem., 20, 1945-1952, 2019

非特許文献4：J. Org. Chem., 85, 2666-2671, 2020

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 本発明の目的は、新規な化合物等を提供することである。

課題を解決するための手段

[0005] 上記人工DNAは、天然に存在しうるDNA（天然DNA）又はRNA（天然RNA）といった天然核酸と比較して、基本となる骨格、2重鎖溶融温度（ T_m 値）等の物理化学的性質や水素結合、2重らせん構造等の分子構造の点で酷似しており、人工DNA同士で2重らせん構造を形成できるだけでなく、天然DNAと2重らせん構造を形成することが可能である。

[0006] しかしながら、上記人工DNAは、天然核酸と比べ、核酸に対する親和性がほとんど変わらないか、又は天然核酸よりも親和性が低い。そのため、天然核酸同士で2重らせん構造を形成している場合に、熱処理を行ったとしても、人工DNAが、2重鎖のうちの一方の、人工DNAに対応する配列を有

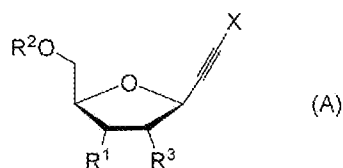
する天然核酸の代わりに、2重鎖のうちの他方の、人工DNAと相補的な配列を有する天然核酸と2重らせん構造を形成することが難しかった。

[0007] このような中、本発明者は、上記課題を解決するために鋭意検討した結果、糖骨格が炭素－炭素3重結合を介して特定の構造と結合している新規な化合物が得られること、また、このような新規な化合物を用いて、重合体を形成したところ、意外にも、天然DNAをはじめとする他の核酸と高い親和性を有しうることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0008] 即ち、本発明は、下記の発明等に関する。

〔1〕 下記式（A）

[化1]



〔式（A）中、Xは、芳香環基であり、

R¹は、－OR^{1a}（式中、R^{1a}は、水素原子又は置換基を示す。）又はホスホロアミダイト基であり、

R²は、水素原子又は置換基であり、

R³は、ハロゲン原子又は－OR^{3a}（式中、R^{3a}は、水素原子又は置換基を示す。）である。]

で表される化合物。

〔2〕 Xがヘテロ芳香環基〔又は芳香族複素環骨格を有する基〔例えば、芳香族複素環骨格のみを有する基（芳香族複素環骨格、置換基を有していてもよい芳香族複素環骨格）〕〕である上記〔1〕記載の化合物。

〔3〕 Xがピリジン環基〔例えば、ピリジン骨格（置換基を有していてもよいピリジン骨格）〕、ピリミジン環基〔例えば、ピリミジン骨格（置換基を有していてもよいピリミジン骨格）〕又はプリン環基〔例えば、プリン骨格（置換基を有していてもよいプリン骨格）〕である上記〔1〕又は〔2〕記載の化合物。

〔４〕 R^3 が $-OR^{3a}$ である上記〔１〕～〔３〕のいずれかに記載の化合物。

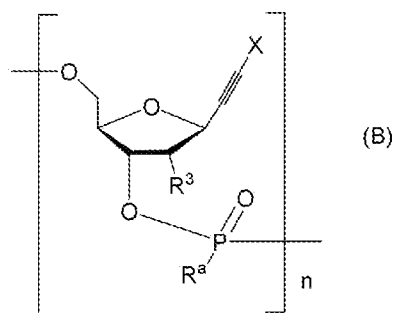
〔５〕 R^1 及び R^3 がヒドロキシ基であり、 R^2 が水素原子である上記〔１〕～〔４〕のいずれかに記載の化合物。

〔６〕 R^1 がヒドロキシ基又はホスホロアミダイト基であり、 R^3 が $-OR^{3a}$ であり、 R^2 及び R^{3a} が保護基である上記〔１〕～〔４〕のいずれかに記載の化合物。

〔７〕 上記〔１〕～〔６〕のいずれかに記載の化合物の重合体。

〔８〕 下記式（Ｂ）

[化２]



〔式（Ｂ）中、 X は、芳香環基であり、

R^a は、 $-OR^b$ （式中、 R^b は、水素原子又は置換基を示す。）であり、

R^3 は、ハロゲン原子又は $-OR^{3a}$ （式中、 R^{3a} は、水素原子又は置換基を示す。）であり、

n は２以上である。

複数の X 、 R^a 及び R^3 は同一であっても異なってもよい。]

で表される構造単位を有する上記〔７〕記載の重合体。

〔９〕 核酸と塩基対を形成できる上記〔７〕又は〔８〕記載の重合体。

〔１０〕 同じ長さの核酸同士で塩基対を形成する場合において、天然DNA同士での塩基対に比べて、天然DNAとの塩基対の２重鎖融解温度が高い上記〔７〕～〔９〕のいずれかに記載の重合体。

〔１１〕 n が１０以上である上記〔８〕～〔１０〕のいずれかに記載の重

合体。

〔１２〕 上記〔７〕～〔１１〕のいずれかに記載の重合体を含む塩基対。

〔１３〕 ２重らせん構造を形成している上記〔１２〕記載の塩基対。

〔１４〕 上記〔７〕～〔１１〕のいずれかに記載の重合体を含む核酸検出材料。

〔１５〕 上記〔１〕～〔１３〕のいずれかに記載の化合物、重合体又は塩基対を含む核酸医薬。

発明の効果

[0009] 本発明では、新規な化合物を得ることができる。このような新規化合物は、例えば、重合体の原料として好適に使用できる。

[0010] また、本発明では、新規な化合物を重合成分として含む重合体を得ることができる。このような重合体は、例えば、核酸（天然核酸など）に対する親和性を有し、塩基対を形成しうる場合が多い。

[0011] 特に、このような重合体は、核酸に対する高い親和性で（ひいては、熱安定性に優れた）塩基対を効率良く形成しうる。

[0012] このような重合体は、例えば、核酸の検出を容易かつ簡便に行うことができるので、核酸検出材料として好適に用いることができる。また、上記重合体又は塩基対は、核酸医薬として好適に用いることができる。

図面の簡単な説明

[0013] [図1A]図１Ａは、実施例で得た化合物５及び７を用いた、UV-visスペクトル測定結果を示した図である。

[図1B]図１Ｂは、化合物５及び７を用いた、CDスペクトル測定結果を示した図である。

[図1C]図１Ｃは、化合物５及び７を用いた、２重鎖融解温度の測定結果を示した図である。

[図2A]図２Ａは、実施例で得た化合物５及び１３を用いた、UV-visスペクトル測定結果を示した図である。

[図2B]図２Ｂは、化合物５及び１３を用いた、CDスペクトル測定結果を示

した図である。

[図2C]図2Cは、化合物5及び13を用いた、2重鎖融解温度の測定結果を示した図である。

[図3A]図3Aは、実施例で得た化合物5及び6を用いた、UV-visスペクトル測定結果を示した図である。

[図3B]図3Bは、化合物5及び6を用いた、CDスペクトル測定結果を示した図である。

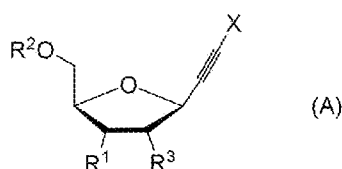
[図3C]図3Cは、化合物5及び6を用いた、2重鎖融解温度の測定結果を示した図である。

発明を実施するための形態

[0014] <化合物>

本発明の一態様である化合物は、下記式(A)で表される。

[0015] [化3]



[式(A)中、Xは、芳香環基であり、

R¹は、-OR^{1a}（式中、R^{1a}は、水素原子又は置換基を示す。）又はホスホアミダイト基であり、

R²は、水素原子又は置換基であり、

R³は、ハロゲン原子又は-OR^{3a}（式中、R^{3a}は、水素原子又は置換基を示す。）である。]

[0016] 上記式(A)におけるXで表される芳香環基は、環構造が芳香族性を示す芳香環骨格を有している基であればよく、芳香環骨格（置換基を有していてもよい芳香環骨格）のみを有するもの〔芳香環骨格（置換基を有していてもよい芳香環骨格）〕であってもよい。

[0017] 上記芳香環骨格は、単環であっても、複数の環を含む環（例えば、縮合環）であってもよい。

[0018] 上記芳香環骨格としては、例えば、芳香族炭化水素環骨格、芳香族複素環（ヘテロ芳香環）骨格等が挙げられる。これらの芳香環骨格の環員数としては、例えば、5～20であってもよく、5～15が好ましく、6～14がより好ましい。

[0019] 上記芳香族炭化水素環骨格としては、例えば、ベンゼン、ナフタレン、アントラセン、テトラセン等が挙げられる。

[0020] 上記芳香族複素環骨格としては、環構造上に炭素原子以外のヘテロ原子を少なくとも1つ以上含む芳香環骨格を有しているものであればよく、上記ヘテロ原子としては、例えば、酸素原子、硫黄原子、窒素原子等が挙げられる。水素結合を形成しやすくなる点から、窒素原子が好ましい。

上記芳香族複素環骨格は、1つ又は2以上のヘテロ原子を有していてもよい。2以上のヘテロ原子を有する場合、ヘテロ原子は同一の又は異なるものであってもよい。

なお、上記芳香族複素環骨格が、複数の環を含む場合、ヘテロ原子は、少なくとも1つの環が有していればよく、全ての環がヘテロ原子を有していてもよい。

[0021] 上記芳香族複素環骨格としては、例えば、酸素原子を含有する芳香族複素環骨格（例えば、フラン、ベンゾフラン、イソベンゾフランなど）、硫黄原子を含有する芳香族複素環骨格（例えば、チオフェン、ベンゾチオフェンなど）、窒素原子を含有する芳香族複素環骨格（例えば、窒素原子のみを含有する芳香族複素環骨格（例えば、ピロール、インドール、イソインドール、ピリジン、キノリン、イソキノリン、イミダゾール、ベンゾイミダゾール、ピラゾール、インダゾール、ピラジン、ピリミジン、ピリダジン、キノキサリン、キナゾリン、シンノリン、1, 2, 3-トリアジン、1, 2, 4-トリアジン、1, 3, 5-トリアジン、プリンなど）、窒素原子と他のヘテロ原子を含有する芳香族複素環骨格（例えば、酸素原子及び窒素原子を含有する芳香族複素環骨格（例えば、オキサゾール、ベンゾオキサゾールなど）、硫黄原子及び窒素原子を含有する芳香族複素環骨格（例えば、チアゾール、

ベンゾチアゾールなど) など] など} 等が挙げられる。この中でも、ピリジン骨格、ピリミジン骨格、プリン骨格、ピラジン骨格又はピリダジン骨格が好ましく、ピリジン骨格、ピリミジン骨格又はプリン骨格がより好ましい。

[0022] 芳香環骨格は置換基を有していてもよい。置換基としては、例えば、ハロゲン原子（例えば、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子など）、ヒドロキシ基、アミノ基、ニトロ基、シアノ基、リン酸基（ $-\text{H}_2\text{PO}_3$ ）、リン酸エステル基、オキシ基、メルカプト基（チオール基）、チオエーテル基、チオカルボニル基、スルホ基、有機基（例えば、炭素数1～30の有機基など）等が挙げられる。なお、リン酸基は、少なくとも一部がイオン化しているもの（例えば、 $-\text{HPO}_3^-$ 、 $-\text{PO}_3^{2-}$ 等）であってもよい。

上記有機基は、1価の有機基であってもよく、2価の有機基であってもよい。

なお、置換基〔例えば、ヒドロキシ基、アミノ基、オキシ基、有機基（例えば、アルキル基）等〕は、基Xとしての核酸塩基（例えば、アデニン、グアニン、シトシンのアミノ基、グアニン、ウラシル、シトシン、チミンのオキシ基、チミンのメチル基等）骨格を構成するものであってもよい。

なお、オキシ基を置換基として有する化合物は、その置換位置等によって、置換基としてヒドロキシ基を有する化合物の異性体（ケトエノール異性体）であってもよい。そのため、本明細書において、置換基としてオキシ基（又はヒドロキシ基）を有する化合物には、当該異性体が含まれるものとする。

上記芳香環骨格が置換基を有する場合、芳香環骨格は、上記置換基を単独で又は2種以上組み合わせて有するものであってもよい。

[0023] 上記有機基としては、少なくとも1つの炭素原子を有するものであれば、特に限定されず、ヘテロ原子を含む結合を有するものであってもよい。このようなヘテロ原子としては、例えば、酸素原子、硫黄原子、窒素原子、リン原子、ケイ素原子等が挙げられる。

[0024] 上記ヘテロ原子を含む結合としては、例えば、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{CO}-$ 、 $-\text{CO}$

O—、—S—、—NR⁴—（R⁴は、水素原子又は1価の有機基である）、—PR⁵—（R⁵は、水素原子又は1価の有機基である）、—SiR⁶R⁷—（R⁶及びR⁷は、水素原子又は1価の有機基である）等が挙げられる。上記ヘテロ原子を含む結合を、単独で又は2種以上組み合わせて有していてもよい。上記ヘテロ原子を含む結合は、上記1価の有機基に包含されていればよく、例えば、1価の有機基の結合末端に存在するものであってもよく、複数のヘテロ原子を含む結合同士が隣接しているものであってもよい。

[0025] 上記R⁴～R⁷で表される1価の有機基としては、例えば、上記Xで表される芳香環基が有していてもよい有機基のうち1価のものと同様のものが挙げられる。上記R⁴～R⁷で表される1価の有機基は、例えば、炭素数1～30の1価の有機基であってもよく、炭素数1～20の1価の有機基であってもよい。

[0026] 具体的な有機基としては、例えば、炭化水素基〔例えば、アルキル基（例えば、メチル基、エチル基、1-プロピル基、2-プロピル基、n-ブチル基など）、アルケニル基（例えば、ビニル基、アリル基など）、アルキニル基（例えば、プロパルギル基など）、シクロアルキル基（例えば、シクロヘキシル基など）、シクロアルケニル基（例えば、シクロブテニル基、シクロペンテニル基など）、アリール基（例えば、フェニル基など）、アラルキル基（例えば、ベンジル基など）など〕、置換ヒドロキシ基〔例えば、アルコキシ基（例えば、メトキシ基、エトキシ基、フェノキシ基など）、シリルオキシ基（例えば、tert-ブチルジメチルシリルオキシ基などのトリアルキルシリルオキシ基など）、アルコキシシリル基（例えば、メトキシシリル基、エトキシシリル基、トリイソプロピルシロキシメチル（TOM）基など）〕、アシル基（例えば、アセチル基、ベンゾイル基、フェノキシアセチル基など）、ホルミル基、カルボキシ基、エステル基（例えば、メトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基などのアルコキシカルボニル基）、置換メルカプト基〔例えば、チオアルコキシ基（例えば、メチルチオ基など）〕、チオアシル基（例えば、チオアセチル基）、チオエステル基（例えば、メチ

ルチオカルボニル基)、置換アミノ基[例えば、アルキルアミノ基(例えば、メチルアミノ基、ジメチルアミノ基など)、アラルキルアミノ基(例えば、ベンジルアミノなど)、アシルアミノ基(例えば、アセチルアミノ基、2-フェノキシアセチルアミノ基)など]、置換リン酸基[例えば、リン酸エステル基(例えば、リン酸基を構成する水素原子がアルキル基に置換した基等)など]、シリル基(例えば、トリメチルシリル基、トリエチルシリル基、tert-ブチルジメチルシリル(TBS)基など)等が挙げられる。

[0027] 置換基は、保護(保護基(脱離基)によって保護)された官能基(例えば、ヒドロキシ基、アミノ基、チオ基、リン酸基($-H_2PO_3$)、カルボキシル基等)であってもよい。なお、保護基は、通常、脱離基(脱離可能な基)であってもよい。

[0028] 脱離基としては、例えば、ハロゲン原子(フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子など)、イミダート基[例えば、2, 2, 2-トリクロロアセトイミドイルオキシ基(基 $-O-C(=NH)-CCl_3$)、(N-フェニル)トリフルオロアセトイミドイルオキシ基(基 $-O-C(=NPh)-CF_3$)、など]、カーボネート基(又は炭酸エステル基、例えば、2, 2, 2-トリクロロエトキシジカルボニルオキシ基など)等が挙げられる。

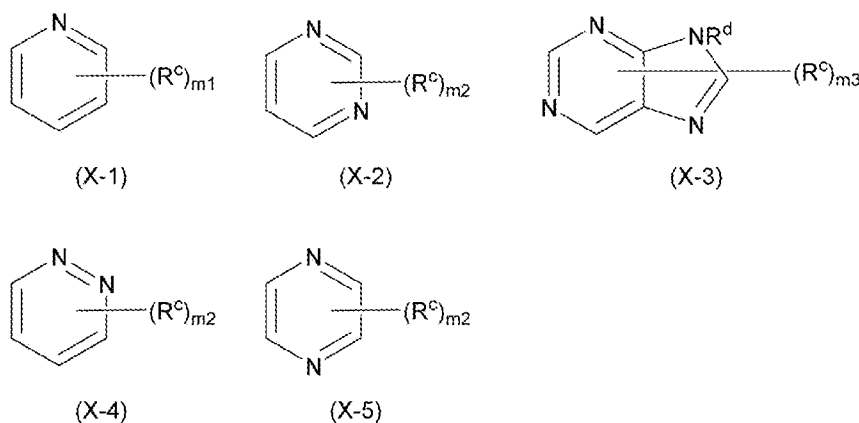
[0029] 代表的な置換基としては、例えば、ハロゲン原子(例えば、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子など)、ニトロ基、シアノ基、オキシ基、置換されていてもよいヒドロキシ基[例えば、ヒドロキシ基、置換ヒドロキシ基(例えば、アルコキシ基、シリルオキシ基等)等]、置換されていてもよいメルカプト基[例えば、メルカプト基(チオール基)、置換メルカプト基(例えば、チオアルコキシ基など)等]、置換されていてもよいアミノ基[例えば、アミノ基、置換アミノ基(例えば、アルキルアミノ基、アシルアミノ基など)等]、置換されていてもよいリン酸基、リン酸エステル基、炭化水素基(例えば、アルキル基など)、アシル基、エステル基等が挙げられる。

[0030] 置換基の置換部位(芳香環骨格に対する置換位置)は、特に限定されず、

芳香環骨格上の炭素原子であってもよく、芳香環骨格が芳香族複素環骨格の場合には、芳香族複素環骨格上のヘテロ原子（例えば、窒素原子など）であってもよく、これらの双方であってもよい。

[0031] このような芳香環骨格（又は芳香環基）としては、例えば、以下の式（X-1）～（X-5）で表される構造（骨格、基）が挙げられる。

[0032] [化4]



（式中、 R^c は、それぞれ独立して、置換基であり、

R^d は、水素原子又は置換基であり、

$m1$ は、0～5の整数であり、

$m2$ は、0～4の整数であり、

$m3$ は、0～3の整数である。）

[0033] 上記 R^c 及び R^d で表される置換基は、例えば、上記Xで表される芳香環基（芳香環骨格）が有していてもよい置換基として例示した基と同様のものが挙げられる。

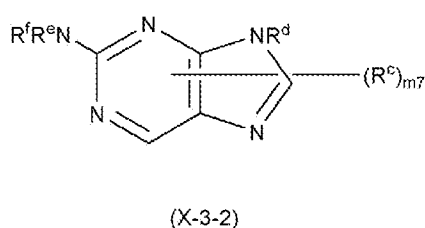
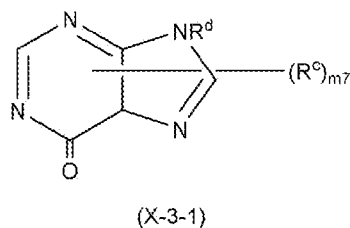
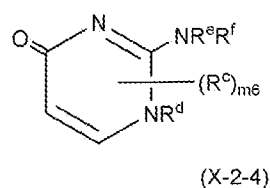
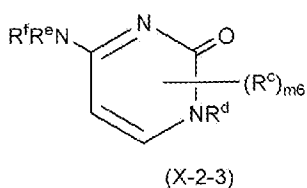
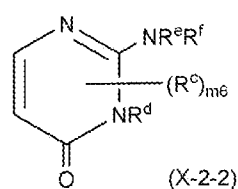
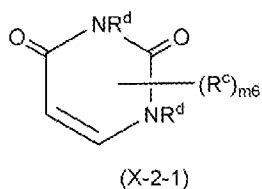
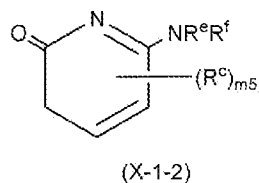
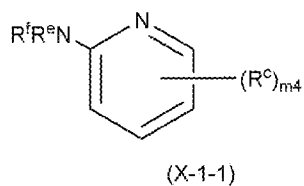
[0034] 上記 R^d としては、炭素数1～5のアルキル基、アミノ基又はアミノ基の保護基であることが好ましい。

[0035] 上記式（X-1）～（X-5）において、芳香環基の結合位置は、特に限定されず、例えば、芳香環基を構成する水素原子を1個除いた位置（芳香環基又は芳香環骨格を構成する炭素原子等）であればよい。

[0036] 特に、芳香環基は、ピリジン骨格、ピリミジン骨格及びプリン骨格が、以下の式（X-1-1）～（X-1-2）、（X-2-1）～（X-2-4）

、(X-3-1)～(X-3-2)で表される構造(骨格、基)であってもよい。

[0037] [化5]



(式中、 R^c 及び R^d は上記式(X-1)～(X-3)と同義であり、 R^e 及び R^f は、水素原子又は置換基であり、 m_4 は、0～4の整数であり、 m_5 は、0～3の整数であり、 m_6 及び m_7 は、それぞれ独立して、0～2の整数である。)

[0038] 上記 R^e 及び R^f で表される置換基としては、上記Xで表される芳香環基(芳香環骨格)が有していてもよい置換基として例示した基のうち1価の基と同様のものが挙げられる。

[0039] 上記式(A)において、芳香環基(芳香環骨格)の結合位置(アセチレン基、 $-C\equiv C-$ に対する置換又は結合位置)は、特に限定されず、例えば、

芳香環骨格の環を構成する炭素原子、芳香環骨格のうち芳香族複素環骨格の環を構成するヘテロ原子、芳香環骨格が有する置換基のいずれであってもよいが、代表的には、芳香環骨格の環を構成する炭素原子又は芳香環骨格のうち芳香族複素環骨格の環を構成するヘテロ原子、特に、芳香環骨格の環を構成する炭素原子であってもよい。

具体的な例を挙げると、芳香環骨格が、ピリジン骨格である場合、該骨格の3位又は5位の炭素原子で結合していることが好ましく、該骨格の5位の炭素原子で結合していることがより好ましい。また、芳香環骨格が、ピリミジン骨格である場合、該骨格の5位の炭素原子で結合していることが好ましい。

代表的なXで表される芳香環基としては、窒素原子を含有する芳香族複素環骨格（窒素原子を芳香環骨格の環を構成するヘテロ原子とする芳香族複素環骨格）が挙げられ、好ましくは、ピリジン骨格（置換基を有していてもよいピリジン骨格）、ピリミジン骨格（置換基を有していてもよいピリミジン骨格）、プリン骨格（置換基を有していてもよいプリン骨格）、ピラジン骨格（置換基を有していてもよいピラジン骨格）又はピリダジン骨格（置換基を有していてもよいピリダジン骨格）が挙げられ、ピリジン骨格、ピリミジン骨格又はプリン骨格が好ましい。

[0040] 上記R^{1a}で表される置換基としては、例えば、上記Xで表される芳香環基が有していてもよい置換基として例示した基と同様のものが挙げられる。上記R^{1a}で表される置換基としては、少なくとも1つのリン酸基を有する基（例えば、一リン酸、二リン酸、三リン酸等）が好ましい。

[0041] 上記R¹としては、ヒドロキシ基又はホスホロアミダイト基であることが好ましい。

[0042] 上記R³で表されるハロゲン原子としては、例えば、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子等が挙げられる。

[0043] 上記R²及びR^{3a}で表される置換基は、例えば、上記Xで表される芳香環基が有していてもよい置換基として例示した基と同様のものが挙げられる。上

記 R^2 及び R^{3a} で表される置換基は、同じであっても異なってもよい。また、上記 R^2 及び R^{3a} で表される置換基は、糖骨格の2位及び／又は5位に結合するヒドロキシ基の保護基であることが好ましく、上記ヒドロキシ基の保護基は、不要となった際には、脱保護できる基であることが好ましい。ヒドロキシ基の保護基としては、例えば、アシル基（例えば、アセチル基、ベンゾイル基など）、アラルキル基（例えば、ベンジル基など）、トリアルキルシリル基（例えば、トリメチルシリル基、トリエチルシリル基、TBS基など）、トリチル基を有する基等が挙げられる。

[0044] 上記 R^2 及び R^{3a} で表される置換基（保護基）としては、例えば、置換基を有していてもよいトリチル基、シリル基（例えば、トリメチルシリル基、トリエチルシリル基、tert-ブチルジメチルシリル（TBS）基など）、アシル基（例えば、アセチル基、ベンゾイル基、フェノキシアセチル基など）、アルコキシシリル基（例えば、メトキシシリル基、エトキシシリル基、トリイソプロピルシロキシメチル（TOM）基など）等が挙げられる。

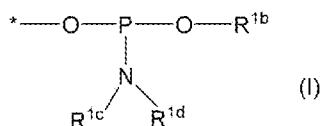
[0045] 上記 R^2 で表される置換基（保護基）としては、置換基を有していてもよいトリチル基が好ましい。

[0046] 上記トリチル基が有する置換基としては、炭素数1～5のアルコキシ基が好ましく、メトキシ基がより好ましい。

[0047] 上記 R^{3a} で表される置換基（保護基）としては、シリル基、並びにアルコキシシリル基が好ましく、TBS基及びTOM基がより好ましい。

[0048] ホスホロアミダイト基は、下記式（I）で表される構造である。

[0049] [化6]



（式（I）中、 R^{1b} 、 R^{1c} 及び R^{1d} は、それぞれ独立して、水素原子又は置換基である。

*は、上記式（A）中の糖骨格との結合部位を示す。）

[0050] 上記 R^{1b} 、 R^{1c} 及び R^{1d} で表される置換基は、例えば、上記式 (A) の X が有していてもよい置換基として例示した基と同様のものが挙げられる。

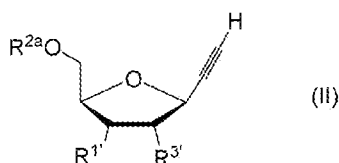
[0051] 上記 R^{1b} としては、リン酸のヒドロキシ基の保護基であることが好ましく、上記保護基は、不要となった際には、脱保護できる基であることが好ましい。

[0052] 上記 R^{1b} で表される置換基（保護基）としては、シアノ基で置換されている炭素数 1～5 の炭化水素基が好ましい。

[0053] 上記 R^{1c} 及び R^{1d} で表される置換基としては、置換されていてもよい炭素数 1～10 の炭化水素基が好ましく、置換されていてもよい炭素数 1～5 の炭化水素基がより好ましく、置換されていてもよい炭素数 1～5 のアルキル基がさらに好ましく、2-プロピル基が特に好ましい。

[0054] 上記式 (A) で表される化合物は、例えば、下記式 (II) で表される化合物を原料として調製することができる。下記式 (II) で表される化合物は、入手可能であれば市販品を用いてもよく、合成（製造）したものを用いてもよい。

[0055] [化7]



[式 (II) 中、 $R^{1'}$ は、 $-OR^{1a'}$ （式中、 $R^{1a'}$ は、水素原子又は置換基を示す。）又はホスホロアミダイト基であり、

R^{2a} は、水素原子又は置換基であり、

$R^{3'}$ は、ハロゲン原子又は $-OR^{3a'}$ （式中、 $R^{3a'}$ は、水素原子又は置換基を示す。）である。]

[0056] $R^{1a'}$ で表される置換基としては、上記式 (A) の R^{1a} で表される置換基と同様のものが挙げられる。

[0057] R^{2a} 及び $R^{3a'}$ で表される置換基としては、それぞれ上記式 (A) の R^2 及び R^{3a} で表される置換基と同様のものが挙げられる。

- [0058] 上記式 (I I) で表される化合物から上記式 (A) で表される化合物を調製する方法としては、当該技術分野で公知の方法を参照して行ってもよいが、例えば、以下のような工程で行ってもよい。
- [0059] 上記式 (I I) で表される化合物を、下記式 (I I I) で表される化合物と反応（カップリング反応）させて、下記式 (I V) で表される化合物を調製する。
- [0060] カップリング反応において、下記式 (I I I) で表される化合物の使用割合は、上記式 (I I) で表される化合物 1 モルに対して、例えば、0.3 モル以上（例えば、0.4～10 モル）、好ましくは 0.5 モル以上（例えば、0.6～5 モル）、より好ましくは 0.6 モル以上（例えば、0.7～3 モル）であってもよい。
- [0061] カップリング反応は、触媒の存在下で行ってもよい。触媒としては、例えばパラジウム（例えば、塩化パラジウム (PdCl_2)、ジクロロビス（トリフェニルホスフィン）パラジウム (I I) ($\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$)、酢酸パラジウム ($\text{Pd}(\text{OAc})_2$)、テトラキス（トリフェニルホスフィン）パラジウム (0) ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$)、トリス（ジベンジリデンアセトン）パラジウム (0) ークロロホルム付加物 ($\text{Pd}_2(\text{dba})_3 \cdot \text{CHCl}_3$)、パラジウムブラックなど）、銅（例えば、ヨウ化銅 (I) (CuI)、酸化銅 (I) (Cu_2O)、臭化銅 (I) (CuBr)、トリフルオロメタンスルホン酸銅 (I) ベンゼン錯体 ($(\text{CuOTf})_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_6$)、塩化銅 (I) (CuCl) など）、白金等が挙げられる。上記触媒は単独で又は 2 種以上組み合わせて用いてもよい。上記触媒としては、パラジウム、銅及びこれらの組み合わせが好ましく、パラジウム及び銅の組み合わせがより好ましい。
- [0062] カップリング反応は、塩基の存在下で行ってもよい。上記塩基としては、例えば、アミン（例えば、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、エチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミンなど）、炭酸塩（例えば炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸セシウムなどの炭酸アルカリ金属塩）、酸化銀、ピリジン類（ピリジン、ピコリンなど）等が挙げられる。上

記塩基は単独又は2種以上組み合わせて用いてもよい。上記塩基としては、アミンが好ましく、溶媒と兼用できる点から、ジエチルアミン及びトリエチルアミンがより好ましい。

[0063] なお、カップリング反応は、溶媒中で行ってもよい。溶媒としては、カップリング反応を阻害しない溶媒であれば特に限定されず、例えば、炭化水素類〔例えば、脂肪族炭化水素類（例えば、ヘキサン、ヘプタン、シクロヘキサンなど）、芳香族炭化水素類（例えば、ベンゼン、トルエン、キシレンなど）など〕、ハロゲン化炭化水素類（例えば、塩化メチレン、ジクロロメタン、クロロホルムなど）、エーテル類〔例えば、鎖状エーテル類（例えば、ジエチルエーテルなど）、環状エーテル類（例えば、テトラヒドロフラン、ジオキサンなど）など〕、エステル類（例えば、酢酸エチルなど）、アミド類〔例えば、N-置換アミド（N，N-ジメチルホルムアミドなどのN-アルキルアルカンアミド）など〕、アルコール類（例えば、メタノール、エタノール、イソプロパノールなどのアルカノール）、非プロトン性極性溶媒（例えば、アセトニトリル、アセトンなど）等が挙げられる。

これらの溶媒は、単独又は2種以上組み合わせて用いてもよい。

[0064] 反応は、常温（又は室温）下、冷却下、又は加温下で行ってもよい。また、反応は、空气中又は不活性雰囲気（窒素、アルゴンなどの希ガス等）中で行ってもよい。

[0065] 反応時間は、特に限定されないが、例えば、1分以上（例えば、2分～48時間）、好ましくは3分以上（例えば、4分以上～24時間）、さらに好ましくは5分以上（例えば、10分～12時間）程度であってもよい。なお、薄層クロマトグラフィー（TLC）等の慣用の方法を用い、反応の進行を確認してもよい。

[0066] [化8]



（式（III）中、X'は、芳香環基であり、
Aは、脱離基である。）

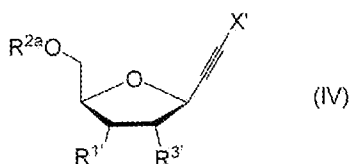
[0067] 上記X'で表される芳香環基は、上記式(A)におけるXで表される芳香環基と同様の基が挙げられる。

[0068] 上記Aで表される脱離基としては、例えば、上記式(11)で表される化合物の水素原子(末端アルキンの水素原子)と反応して、グリコシド結合を形成可能な基であれば特に限定されず、例えば、ハロゲン原子(フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子など)、イミダート基[例えば、2, 2, 2-トリクロロアセトイミドイルオキシ基(基-O-C(=NH)-CCl₃)、(N-フェニル)トリフルオロアセトイミドイルオキシ基(基-O-C(=NPh)-CF₃)、など]、カーボネート基(又は炭酸エステル基、例えば、2, 2, 2-トリクロロエトキシジカルボニルオキシ基など)等が挙げられる。

[0069] これらのうち、上記Xにおける結合部位を調節しやすい点から、ハロゲン原子が好ましい。

[0070] 上記式(111)で表される化合物は、カップリング反応の際に上記Aが脱離可能な基であれば特に限定されず、上記式(111)で表される化合物の調製の簡便性又は脱離性の観点から適宜設定することができる。上記結合部位は、上記X'で表される芳香環基における芳香環骨格を構成する炭素原子と結合していることが好ましく、特に、上記芳香環基がピリジン環基又はピリミジン環基である場合、これらの芳香環骨格の5位の炭素原子と結合していることが好ましい。

[0071] [化9]



(式(IV)中、X'は、上記式(111)と同義である。

R^{1'}、R^{2a}及びR^{3'}は、上記式(11)と同義である。)

[0072] 上述のようにして、上記式(A)で表される化合物のうち上記式(IV)で表される化合物が得られる。反応混合物(式(IV)で表される化合物を

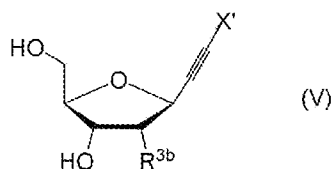
含む混合物)は、分離(又は回収)することなく、そのまま、後述の反応に供してもよく、分離(又は回収)してもよい。

[0073] 上述のようにして得られた上記式(ⅠⅤ)で表される化合物を中間体又は前駆体として、さらに別の反応(例えば、脱保護反応、ホスホロアミダイト化反応等)により上記式(A)で表される化合物を調製してもよい。

[0074] 脱保護反応としては、上記式(ⅠⅤ)で表される化合物の糖骨格の2位及び／又は6位の置換基を脱保護することができる反応であれば特に限定されない。糖骨格の2位及び6位の両方に置換基を有する場合には、糖骨格の2位及び6位の置換基を一度の反応で脱保護してもよく、いずれか一方の置換基を脱保護した後、残りの置換基を脱保護してもよい。また、脱保護反応は、上記式(A)におけるXで表される芳香環基が置換基(アミノ基の保護基)を有する場合に、上記置換基(アミノ基の保護基)をさらに脱保護する反応を備えるものであってもよい。

[0075] 脱保護反応は、上記式(ⅠⅤ)で表される化合物の糖骨格の2位及び／又は6位の置換基を脱保護することにより、下記式(V)で表される化合物が調製される。なお、上記Xで表される芳香環基が置換基(保護基)を有する場合には、上記置換基(保護基)をさらに脱保護することにより、下記式(V)で表される化合物が調製されるものでもよい。

[0076] [化10]



(式(V)中、X'は、上記式(ⅠⅠⅠ)と同義である。

R^{3b}は、ハロゲン原子又はヒドロキシ基である。)

[0077] 脱保護反応は、酸及び／又はフッ化物イオンを用いて(又は酸及び／又はフッ化物イオンと反応させて)行うことができる。

[0078] 酸としては、有機酸[例えば、カルボン酸(例えば、酢酸、クエン酸、シユウ酸、酒石酸、トリクロロ酢酸、トリフルオロ酢酸など)]、無機酸[例

えば、ハロゲン化水素（例えば、塩酸、フッ化水素酸など）、硫酸、硝酸、リン酸、クロム酸、ホウ酸、スルホン酸など] 等が挙げられる。酸は、単独で又は2種以上組み合わせてもよい。

特に、酸として、カルボン酸が好ましく、トリクロロ酢酸又はトリフルオロ酢酸がより好ましい。

[0079] フッ化物イオンとしては、例えば、フッ化テトラ-*n*-ブチルアンモニウム（TBAF）、フッ化水素酸、フッ化セシウム等が挙げられる。フッ化物イオンは、単独で又は2種以上組み合わせてもよい。

特に、フッ化物イオンとして、TBAFが好ましい。

[0080] また、脱保護反応は、上記X'で表される芳香環基が有する置換基（アミノ基の保護基）を脱保護する場合には、塩基を用いて（又は塩基と反応させて）行うことができる。

[0081] 塩基としては、例えば、アンモニアなどの電離度の小さい塩基（弱塩基）、水酸化ナトリウム、水酸化カルシウム、水酸化バリウムなどの電離度の大きい塩基（強塩基）等が挙げられる。塩基は、単独で又は2種以上組み合わせてもよい。

特に、塩基として、電離度の小さい塩基（弱塩基）が好ましく、アンモニア（アンモニア水）がより好ましい。

[0082] なお、脱保護反応は、溶媒中で行ってもよい。溶媒としては、脱保護反応を阻害しない溶媒であれば特に限定されず、例えば、カップリング反応で例示した溶媒と同様のものが挙げられる。

[0083] 反応は、常温（又は室温）下、冷却下、又は加温下で行ってもよい。また、反応は、空气中又は不活性雰囲気（窒素、アルゴンなどの希ガス等）中で行ってもよい。

[0084] 反応時間は、特に限定されないが、例えば、1分以上（例えば、2分～48時間）、好ましくは3分以上（例えば、4分以上～24時間）、さらに好ましくは5分以上（例えば、10分～12時間）程度であってもよい。なお、薄層クロマトグラフィー（TLC）等の慣用の方法を用い、反応の進行を

確認してもよい。

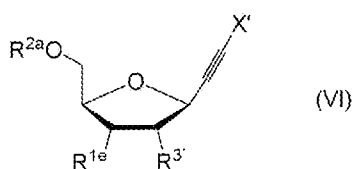
[0085] なお、反応混合物（式（ⅠⅤ）で表される化合物を含む混合物）は、分離（又は回収）することなく、そのまま、別の脱保護反応を行うものであってもよい。

反応混合物からの分離（又は精製）には、慣用の方法（例えば、濾過、抽出、濃縮、洗浄、吸着、膜分離、クロマトグラフィーなど）を利用できる。

[0086] ホスホロアミダイト化反応としては、上記式（ⅠⅤ）で表される化合物の糖骨格の3位のヒドロキシ基をホスホロアミダイト化できる反応であれば、特に限定されない。

[0087] ホスホロアミダイト化反応は、上記式（ⅠⅤ）で表される化合物をホスホロアミダイト化剤と反応させることにより、下記式（ⅤⅠ）で表される化合物が調製される。

[0088] [化11]



（式（ⅤⅠ）中、 X' 、 R^{2a} 及び $R^{3'}$ は上記式（ⅠⅤ）と同義である。

R^{1e} は、ホスホロアミダイト基である。）

[0089] ホスホロアミダイト化剤は、上記式（ⅠⅤ）で表される化合物の糖骨格の2位のヒドロキシ基をホスホロアミダイト基に変更できるものであれば、特に限定されない。ホスホロアミダイト化剤としては、例えば、シアノエトキシ基及びジアルキルアミノ基が結合した化合物（例えば、 $i\text{-Pr}_2\text{N}(\text{C}(\text{I})\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{CN})$ など）等が挙げられる。

[0090] ホスホロアミダイト化反応において、ホスホロアミダイト化剤の使用割合は、上記式（ⅠⅤ）で表される化合物1モルに対して、例えば、0.8モル以上（例えば、1～10モル）、好ましくは1モル以上（例えば、1.2～7モル）、より好ましくは1.5モル以上（例えば、1.6～5モル）であってもよい。

[0091] なお、ホスホロアミダイト化反応は、溶媒中で行ってもよい。溶媒としては、ホスホロアミダイト化反応を阻害しない溶媒であれば特に限定されず、例えば、カップリング反応で例示した溶媒と同様のものが挙げられる。

[0092] 反応は、常温（又は室温）下、冷却下、又は加温下で行ってもよい。また、反応は、空气中又は不活性雰囲気（窒素、アルゴンなどの希ガス等）中で行ってもよい。

[0093] 反応時間は、特に限定されないが、例えば、1分以上（例えば、2分～48時間）、好ましくは3分以上（例えば、4分以上～24時間）、さらに好ましくは5分以上（例えば、10分～12時間）程度であってもよい。なお、薄層クロマトグラフィー（TLC）等の慣用の方法を用い、反応の進行を確認してもよい。

[0094] なお、反応混合物（式（I V）で表される化合物を含む混合物）は、分離（又は回収）することなく、そのまま、別の脱保護反応を行うものであってもよい。

反応混合物からの分離（又は精製）には、慣用の方法（例えば、濾過、抽出、濃縮、洗浄、吸着、膜分離、クロマトグラフィーなど）を利用できる。

[0095] ホスホロアミダイト化反応により得られる上記式（V I）で表される化合物は、光学異性体（例えば、ジアステレオマー、エナンチオマー等）を含む混合物であってもよい。このような混合物であっても、ホスホジエステル結合を介して重合体を形成すると不斉原子が解消される。

[0096] <重合体>

本発明の別の態様には、上記化合物の重合体が含まれる。

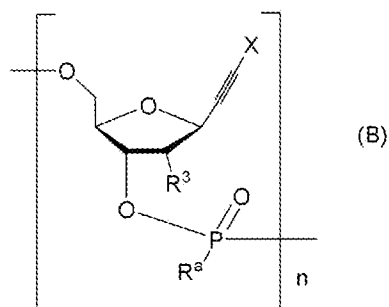
[0097] 上記重合体としては、複数の上記式（A）で表される化合物を重合成分とするものであればよく、上記重合成分間の結合としては、例えば、ホスホジエステル結合、ホスホロチオエート結合等が挙げられる。また、上記重合体は、核酸と塩基対を形成できるものであってもよい。ここで、「核酸」とは、生体内等において、天然に存在するDNA又はRNAであってもよく、天然に存在しうるDNA又はRNAといった天然核酸を人工的に合成したもの

であってもよく、天然に存在しうる核酸と塩基対を形成しうる構造を有する核酸類似物質であれば、上記核酸類似物質を人工的に合成したものであってもよい。

[0098] 上記重合体であることによって、天然核酸に対する親和性が高いものとなる理由としては、下記推測に縛られるものではないが、上記式（A）における糖骨格及びXで表される特定構造が炭素－炭素3重結合を介して結合されていることにより、アセチレン基（ $-\text{C}\equiv\text{C}-$ ）及び糖骨格による立体配座が、天然核酸（特に、天然DNA）における糖の立体配座と類似しているため、天然核酸（特に、天然DNA）との親和性（相互作用の力）が高いものとなることが推測される。

[0099] このような重合体としては、例えば、下記式（B）で表される構造単位を有するもの等が挙げられる。

[0100] [化12]



[式（B）中、Xは、芳香環基であり、
Aは、酸素原子又は硫黄原子であり、
 R^{a} は、 $-\text{OR}^{\text{b}}$ （ R^{b} は、水素原子又は置換基を示す。）であり、
 R^3 は、ハロゲン原子又は $-\text{OR}^{3\text{a}}$ （式中、 $\text{R}^{3\text{a}}$ は、水素原子又は置換基を示す。）であり、
 n は2以上である。

複数のX、 R^{a} 及び R^3 は同一であっても異なってもよい。]

[0101] 上記芳香環基としては、上記式（A）におけるXと同様のものが挙げられる。

[0102] 上記Aは、構造の単一性の点から、酸素原子であることが好ましい。また

、上記Aは、RNAヌクレアーゼに対する耐性に優れる点から、硫黄原子が好ましい。

[0103] 上記 $-OR^b$ は、イオン化しているもの($-O^-$)であってもよい。

[0104] 上記 R^b で表される置換基としては、例えば、上記式(A)における R^{1a} で表される置換基として例示した基等が挙げられる。

[0105] 上記nは、2重らせん構造を形成させる点から、10以上が好ましく、15以上がより好ましく、20以上がさらに好ましい。上記nの上限としては、特に限定されるものではないが、例えば、100であってもよい。

[0106] 上記 R^{3a} で表される置換基としては、上記式(A)における R^{3a} で表される置換基と同様のものが挙げられる。

[0107] 上記式(A)で表される化合物から上記重合体を形成する方法としては、上記式(A)で表される化合物が架橋構造を形成できる方法であれば、特に限定されず、核酸合成方法として公知の方法(例えば、ホスホロアミダイト法、ホスホロクロリダートを経由する合成法、亜リン酸トリエステル法等)を利用するものであってもよい。反応性を高める観点から、ホスホロアミダイト法を利用するものが好ましい。

[0108] ホスホロアミダイト法は、固相合成を行うものであってもよく、液相合成を行うものでもよい。反応性を高める観点から、固相合成を行うことが好ましい。

[0109] 固相合成は、洗浄操作などの簡便化の点から、固相担体を使用することが好ましい。

[0110] ホスホロアミダイト法による固相合成としては、例えば、以下のような工程で行うことができる。なお、ホスホロアミダイト法による固相合成は、手動で合成を行うものでもよく、コンピュータ制御のもと、自動で合成する装置を用いて行うものでもよい。

[0111] (1) 固相担体に化合物を導入する工程、(2) 糖骨格の5'位の置換基(保護基)を脱保護する工程、(3) 5'位のヒドロキシ基と3'位でカップリングする工程、(4) 未反応の糖骨格の5'位のヒドロキシ基をキャッ

ピングする工程、（５）酸化又は硫化する工程、及び（６）脱保護及び固相担体から切り出しする工程を備える。

[0112] 〔（１）固相担体に化合物を導入する工程〕

（１）固相担体に化合物を導入する工程では、最も３’側に位置する式（Ａ）で表される化合物を固相担体を導入する。

[0113] 固相担体は、調製する重合体の配列、重合度、及び使用する上記式（Ａ）で表される化合物の濃度等に応じて適宜変更することができる。

[0114] 〔（２）糖骨格の５’位の置換基（保護基）を脱保護する工程〕

（２）糖骨格の５’位の置換基（保護基）を脱保護する工程は、糖骨格の５’位のヒドロキシ基の置換基（保護基）のみを選択的に脱保護することができ、糖骨格の２位のヒドロキシ基の置換基（保護基）を脱離させないものであればよい。

[0115] 上記（２）工程は、上記脱保護反応と同様に行うことができる。

[0116] 〔（３）５’位のヒドロキシ基及び３’位でカップリングする工程〕

（３）５’位のヒドロキシ基及び３’位でカップリングする工程は、上記式（ⅤⅠ）で表される化合物における R^{1a} で表されるホスホロアミダイト基のうち上記式（Ⅰ）で表される構造における $-NR^{1c}R^{1d}$ で表される部位が脱離し、固相担体に結合している別の上記式（ⅤⅠ）で表される化合物の５’位ヒドロキシ基と反応して、式（Ｂ）で表される構造単位を有する重合体を調製するものであってもよい。

[0117] 上記（３）工程は、活性化剤の存在下で反応を行ってもよい。上記活性化剤としては、例えば、テトラゾール環を有する化合物（例えば、１Ｈ-テトラゾール、２-エチルチオテトラゾール、２-ベンジルチオテトラゾールなど）等が挙げられる。

[0118] 固相担体に結合している化合物（又は重合体）１モルに対して、結合させたい化合物の使用割合としては、反応が十分に進行するのであれば、特に限定されず、例えば、１．５～１００モルであってもよく、２～８０モルが好ましく、３～５０モルがより好ましい。

[0119] 固相担体に結合している化合物（又は重合体）1モルに対して、活性化剤の使用割合としては、反応が十分に進行するのであれば、特に限定されず、例えば、0.5～30モルであってもよく、0.8～25モルが好ましく、1～20モルがより好ましい。

[0120] [(4) 未反応の糖骨格の5'位のヒドロキシ基をキャッピングする工程]

(4) 未反応の糖骨格の5'位のヒドロキシ基をキャッピングする工程は、固相担体に結合している化合物（又は重合体）のうち、未反応な化合物（又は重合体）における糖骨格の5'位のヒドロキシ基をこれ以上重合体が伸長しないようにキャッピングすることができるものであればよい。

[0121] 上記(4)工程は、例えば、アシル化剤の存在下で反応を行ってもよい。アシル化剤としては、未反応な化合物（又は重合体）における糖骨格の5'位のヒドロキシ基をアシル化することができるものであればよく、例えば、アシルハライド（例えば、塩化アセチルなど）、カルボン酸無水物（例えば、無水酢酸、無水プロピオン酸など）等が挙げられる。

[0122] [(5) 酸化又は硫化する工程]

(5) 酸化又は硫化する工程は、上記(3)工程で形成された亜リン酸エステル結合を酸化によりリン酸エステルに、又は硫化によりチオリン酸エステル結合に変換する工程である。

[0123] 上記(5)工程は、例えば、酸化剤又は硫化剤の存在下で反応を行ってもよい。

[0124] 酸化剤としては、亜リン酸エステル結合をリン酸エステル結合に変換することができるものであれば、特に限定されず、例えば、ハロゲン（例えば、塩素（ Cl_2 ）、フッ素（ F_2 ）、ヨウ素（ I_2 ）など）等が挙げられる。

[0125] 硫化剤としては、亜リン酸エステル結合をチオリン酸エステル結合に変換することができるものであれば、特に限定されず、例えば、（（ジメチルアミノメチリデン）アミノ）-3H-1, 2, 4-ジチアゾリン-3-チオン（DTTT）、5-フェニル-3H-1, 2, 4-ジチアゾール-3-チオン

、分子状硫黄（ S_8 ）、フェニルアセチルジスルフィド、Beaucage試薬等が挙げられる。

[0126] 目的とする重合度の重合体を得られるまで、上記（２）～（５）工程を繰り返し行うことができる。

なお、上記（５）工程で硫化を行う場合、上記（４）工程及び上記（５）工程を入れ替えて反応を行ってもよい。

[0127] [（６）脱保護及び固相担体から切り出しする工程]

（６）脱保護及び固相担体から切り出しする工程は、目的とする重合度の重合体を得た後、重合体に存在する保護基を脱保護し、固相担体から切り出しを行う。

[0128] 上記（６）工程は、例えば、上記脱保護反応と同様にして行うことができる。

[0129] 上記重合体は、上記（６）工程で全ての保護基が脱保護されていてもよく、一部の保護基が残っていてもよい。

[0130] <塩基対>

本発明のさらに別の一態様には、上記重合体を含む塩基対が含まれる。

[0131] 上記塩基対は、塩基対を構成する２重鎖のうち少なくとも一方が本発明における重合体であるものであればよく、２重鎖のうち他方は、天然に存在するDNA又はRNAといった天然核酸、人工的に合成された核酸類似物質等の核酸であってもよく、本発明における重合体であってもよい。

[0132] 上記塩基対は、全長にわたって２重鎖が形成されていてもよく、全長のうち一部で２重鎖が形成されていてもよい。

[0133] 上記塩基対における２重鎖のうち少なくとも一方の重合体は、２重鎖のうち他方に対する相補性として、例えば、５０％以上有するものであればよく、６０％以上有することが好ましく、７０％以上有することがより好ましく、８０％以上有することがさらに好ましく、９０％以上有することが特に好ましい。上記相補性の上限としては、例えば、１００％である。

[0134] 相補性とは、２重鎖の一方の重合体と、２重鎖のうち他方との水素結合様

式（水素結合のドナー（D）及びアクセプター（A）の関係）が、1塩基当たり少なくとも2つ相補的な関係を有するものをいう。1塩基当たり2つの水素結合を有している場合であってもよく、3つの水素結合を有している場合であってもよい。

[0135] 例えば、一般に知られる核酸塩基であるアデニン、グアニン、シトシン、チミン及びウラシルの水素結合の結合様式としては、それぞれDA、DDA、AAD、AD、ADであり、2重鎖のうち他方が、天然核酸である場合、これらの水素結合様式に対して、1塩基当たり2つ以上の水素結合を形成できる相補性を有していればよい。また、2重鎖の他方が人工的に合成された核酸類似物質であり、天然には存在しない水素結合様式（例えば、DAD、ADA等）を有している場合、2重鎖の一方の重合体は、相補的な水素結合様式を有するものであってもよい。

[0136] 上記塩基対における2重鎖のうち少なくとも一方の重合体は、2重鎖のうち他方との疎水性相互作用を形成できる程度の疎水性を有していることが好ましい。

[0137] 2重鎖の一方の重合体が、全長にわたって又は全長のうち一部において、回文配列を有している場合、単独の重合体で塩基対を形成しているものであってもよい。

[0138] 上記塩基対は、2重鎖のうち他方が天然核酸である場合に、天然核酸同士で形成される塩基対に比べて、2重鎖融解温度（ T_m 値）が高いものであることが好ましい。例えば、同じ長さの核酸同士で塩基対を形成する場合、天然DNA同士で形成される塩基対に比べて、天然DNA及び上記重合体で形成される塩基対の T_m 値が高いものであることが好ましい。

上記塩基対は、2重鎖のうち他方が天然核酸である場合に、上記重合体同士で形成される塩基対に比べて、 T_m 値が高いものであることが好ましい。例えば、同じ長さの核酸同士で塩基対を形成する場合、取り扱いが容易である点から、上記重合体同士で形成される塩基対に比べて、天然DNA及び上記重合体で形成される塩基対の T_m 値が高いものであることが好ましい。

[0139] 上記 T_m 値は、例えば、常法により測定することができる。

例えば、以下のような測定条件で測定を行うことができる。

測定条件：人工又は天然核酸オリゴマーの 1 : 1 緩衝溶液 ($2 \mu\text{M}$ duplexes、 10 mM HEPES (pH 7.0)、 10 mM MgCl_2 、 100 mM NaCl) を調製し、 270 nm の吸光度をモニターしつつ、2重鎖融解実験を行う (温度範囲： $10 \sim 80^\circ\text{C}$ 、温度変化： $1^\circ\text{C}/1 \text{ 分}$)。

使用機器：V-560 UV/vis spectrophotometer (日本分光製)

[0140] 上記 T_m 値は、核酸の長さ、塩基配列、測定溶液等の条件に応じて適宜算出されるものであればよい。

[0141] 上記天然DNA及び重合体との塩基対が有する T_m 値、及び上記天然DNA同士との塩基対が有する T_m 値は、測定条件 (核酸の長さ、塩基配列の水素結合様式、測定溶液等) を同じにして測定を行う場合に、例えば、天然DNA及び重合体との塩基対が有する T_m 値が高いことが好ましく、上記2種の T_m 値の差が、 10°C 以上であってもよく、 15°C 以上であることが好ましく、 20°C 以上であることがより好ましい。上記2種の塩基対の T_m 値の差の上限としては、特に限定されるものではないが、例えば、 50°C 以下であってもよく、 45°C 以下であることが好ましい。

[0142] 上記塩基対は、2重らせん構造を形成しているものであってもよい。

[0143] 上記塩基対が2重らせん構造を形成していることは、例えば、円二色性 (CD) スペクトル測定等の常法により確認することができる。

例えば、以下のような測定条件で測定を行うことができる。

測定条件：人工又は天然核酸オリゴマーの 1 : 1 緩衝溶液 ($2 \mu\text{M}$ duplexes、 10 mM HEPES (pH 7.0)、 10 mM MgCl_2 、 100 mM NaCl) を調製し、 10 、 20 、 30 、 40 、 50 、 60 、 70 、 80°C での円二色性 (CD) スペクトル測定を行う。

使用機器：J-720WI spectropolarimeter (日

本分光製)

[0144] <核酸検出材料>

本発明に係るさらに別の態様としては、上記重合体を含む核酸検出材料が含まれる。

[0145] <核酸医薬>

本発明に係るさらに別の態様としては、上記重合体又は塩基対を含む核酸医薬が含まれる。

実施例

[0146] [製造例 1]

下記式で表される化合物 8 (570 mg、1.86 mmol)、5-ヨード-1-メチルウラシル (300 mg、1.19 mmol)、トリス (ジベンジリデンアセトン) ジパラジウム (0)-クロロホルム付加物 ($\text{Pd}_2(\text{dba})_3 \cdot \text{CHCl}_3$) (50 mg、0.048 mmol)、トリフェニルホスフィン (PPh_3) (70 mg、0.19 mmol)、及びヨウ化銅 (I) (CuI) (5 mg、0.026 mmol) を、アルゴン雰囲気下、N,N-ジメチルホルムアミド (DMF) (10 mL) 及びトリエチルアミン (10 mL) に溶解し、70℃で4.5時間攪拌した。室温まで冷却した後、溶媒を減圧留去し、残渣に酢酸エチルを加え、飽和食塩水で有機層を洗浄した。次いで、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去した。シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル：ヘキサン=1：3～1：1) にて精製し、下記式で表される化合物 9 (450 mg、収率64%) を黄色泡状物質として得た。

[0147] (化合物 9)

Mp 97–100℃; IR (KBr) 3483, 3194, 3063, 2952, 2930, 2856, 2360, 2232, 2045, 1693, 1509, 1252 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.63 (s, 1H), 7.53 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 7.40 (dd, $J=12.8, 8.7$ Hz, 4H), 7.30–7.20 (m, 3H)

), 6.97 (s, 1H), 6.84–6.80 (m, 4H), 4.70 (d, J=6.0 Hz, 1H), 4.65 (t, J=5.3 Hz, 1H), 4.18–4.16 (m, 1H), 4.10–4.06 (m, 1H), 3.79 (s, 6H), 3.46 (dd, J=10.3, 3.0 Hz, 1H), 3.41 (s, 1H), 3.05 (d, J=6.0 Hz, 3H), 2.70 (d, J=4.1 Hz, 1H), 0.94 (s, 9H), 0.23–0.19 (m, 6H) ppm; ^{13}C { ^1H } NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 158.53, 149.60, 148.46, 136.37, 135.99, 130.29, 128.37, 127.90, 126.82, 113.21, 113.17, 113.11, 99.05, 91.94, 86.27, 84.24, 77.98, 76.41, 73.59, 73.41, 64.33, 55.32, 36.15, 25.84, 25.77, 25.74, 25.68, 18.14, 0.09, -4.24, -4.87 ppm; HRMS calcd for MH^+ , $\text{C}_{39}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{NaO}_8\text{Si}$: 721.2916; found 721.2930.

[0148] [化13]

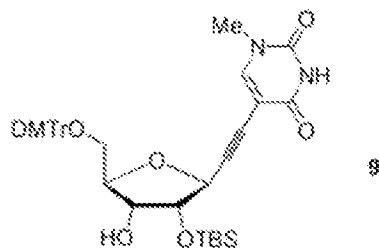


(式中、DMTrは、ジメトキシトリチル基を表す。

TBSは、tert-ブチルジメチルシリル基を表す。)

[0149]

[化14]



(式中、DMTr及びTBSは化合物8と同義である。

Meはメチル基を表す。)

[0150] [製造例2]

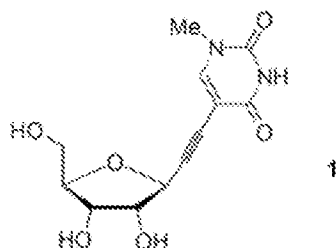
同様に、化合物9を再合成し、合わせた化合物9 (850mg、1.2mmol) をテトラヒドロフラン (THF) (50mL) に溶解した溶液に、1Mテトラブチルアンモニウムフルオリド (TBAF) / THF 溶液 (1.5mL) を加え、室温で30分間撹拌した。溶媒を減圧留去し、残渣に酢酸エチルを加え、飽和食塩水で有機層を洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥した後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル : ヘキサン = 1 : 1) にて精製した。得られた粗精製物1にジクロロメタン (10mL) を加えて溶液とした後、トリクロロ酢酸 (300mg、1.8mmol) を加え、室温で1時間撹拌した。反応液を濾過し、固体をジクロロメタンで洗浄して粗精製物2を得た。これを分取用逆相HPLC (メタノール) で精製し、下記式で表される化合物1 (130mg、収率38%) を淡黄色固体として得た。

[0151] (化合物1)

Mp 113–118°C ; IR (KBr) 3410, 3058, 2943, 2359, 2233, 1684, 1332 cm⁻¹ ; ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 8.06 (s, 1H), 5.76 (s, 1H), 5.21 (s, 1H), 4.97 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.38 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 3.87 (dt, J = 24.6, 4.9 Hz, 2H), 3.68 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 3.54–3.4

1 (m, 2H), 3.24 (s, 3H) ppm; ^{13}C { ^1H } NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 150.86, 150.71, 96.97, 85.29, 78.59, 76.63, 72.81, 71.86, 62.64, 55.44, 49.12, 36.09 ppm; HRMS calcd for MH^+ , $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{NaO}_6$: 305.0744; found 305.0742; UV (H_2O , 25°C) $\epsilon_{260}=3500$ ($\text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

[0152] [化15]



(式中、Meは化合物9と同義である。)

[0153] [製造例3]

化合物8 (1.07 g、1.86 mmol)、2-(N-フェノキシアセチルアミノ)-5-ヨードピリジン (792 mg、2.20 mmol)、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0) ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$) (210 mg、0.20 mmol)、及びCuI (10 mg、0.053 mmol)を、アルゴン雰囲気下、アセトニトリル (10 mL) 及びトリエチルアミン (10 mL) に溶解し、70°Cで4時間撹拌した。室温まで冷却した後、溶媒を減圧留去し、残渣に酢酸エチルを加え、飽和炭酸水素ナトリウムと飽和食塩水で有機層を洗浄した。次いで、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去した。シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル：ヘキサン=1：8～1：5) にて精製し、下記式で表される化合物10 (1.0 g、収率65%) を無色泡状物質として得た。

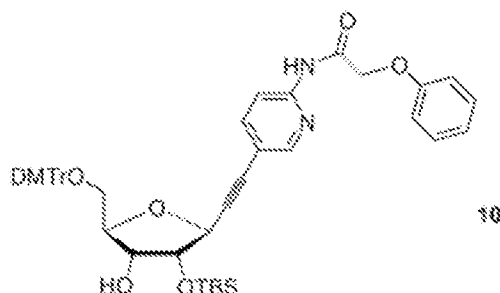
[0154] (化合物10)

Mp 66–70°C; IR (KBr) 3535, 3396, 2952, 29

29, 2857, 2359, 2045, 1707, 1601, 1510 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.94 (s, 1H), 8.34 (d, $J=1.7$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.69 (dd, $J=8.6, 2.3$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J=7.4$ Hz, 2H), 7.40–7.33 (m, 6H), 7.24 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.19–7.16 (m, 1H), 7.06 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 6.80–6.77 (m, 4H), 4.68 (d, $J=6.9$ Hz, 1H), 4.64 (d, $J=6.3$ Hz, 1H), 4.63 (s, 2H), 4.11 (q, $J=2.9$ Hz, 1H), 4.08–4.06 (m, 1H), 3.76 (d, $J=1.7$ Hz, 6H), 3.44 (dd, $J=10.3, 2.9$ Hz, 1H), 3.07 (dd, $J=10.3, 3.4$ Hz, 1H), 2.72 (d, $J=2.9$ Hz, 1H), 0.94 (s, 9H), 0.22 (s, 3H) ppm; ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 166.92, 158.52, 156.91, 150.87, 149.69, 145.02, 141.26, 136.20, 130.25, 130.23, 130.01, 129.21, 128.30, 127.90, 127.85, 126.84, 122.61, 116.08, 114.85, 113.50, 113.25, 113.21, 113.17, 90.12, 86.39, 84.50, 77.98, 73.48, 72.88, 67.43, 64.39, 55.27, 25.82, 18.18, -4.26, -4.74 ppm; HRMS calcd for MNa^+ , $\text{C}_{47}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{NaO}_8\text{Si}$: 823.3385; found 823.3392.

[0155]

[化16]



(式中、DMTr及びTBSは化合物8と同義である。)

[0156] [製造例4]

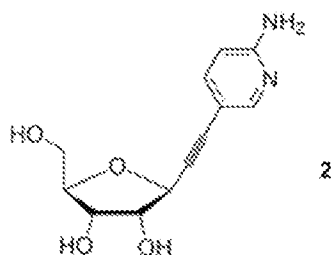
得られた化合物10 (500mg、0.50mmol)のTHF (10mL)溶液に、1M TBAF/THF溶液 (1mL)を加え、室温で10分間攪拌した。溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル：ヘキサン=1：1～2：1)にて精製した。この粗精製物3に、メタノール (30mL)及び28%アンモニア水 (30mL)を加え、55℃で13時間攪拌した。室温まで冷却した後、溶媒を減圧留去し、残渣にジクロロメタンを加え、飽和食塩水で有機層を洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去した。残渣にジクロロメタン (3mL)を加えて溶液とし、これにトリクロロ酢酸 (300mg、1.8mmol)を加え、室温で1時間攪拌した。反応液を濾過し、固体をジクロロメタンで洗浄して粗精製物4を得た。これを分取用逆相HPLC (メタノール)で精製し、下記式で表される化合物2 (78.5mg、収率62%)を無色固体として得た。

[0157] (化合物2)

Mp 69–74℃; IR (KBr) 3484, 3373, 2902, 2228, 1935, 1855, 1631, 1506, 1402 cm⁻¹; ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 7.98 (s, 1H), 7.39 (d, J=8.6Hz, 1H), 6.40 (d, J=8.6Hz, 1H), 6.35 (s, 2H), 5.22 (s, 1H), 4.97 (s, 1H), 4.

7.7 (s, 1H), 4.40 (d, $J=5.7$ Hz, 1H), 3.92–3.85 (m, 2H), 3.67 (q, $J=4.4$ Hz, 1H), 3.47–3.44 (m, 2H) ppm; ^{13}C { ^1H } NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 159.71, 151.69, 140.03, 108.07, 106.34, 88.22, 85.29, 84.24, 76.69, 72.82, 71.63, 62.55 ppm; HRMS calcd for MH^+ , $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_4$: 251.1026; found 251.1033; UV (H_2O , 25°C) $\epsilon_{260}=21000$ ($\text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

[0158] [化17]



[0159] [製造例5]

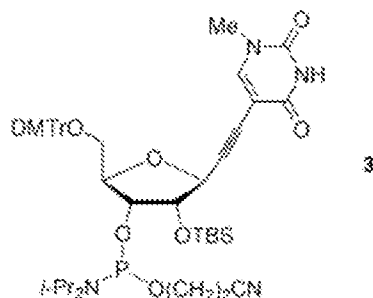
化合物9 (181 mg、0.26 mmol) をアルゴン雰囲気下、ジクロロメタン (3 mL) に溶解し、その溶液に $i\text{-Pr}_2\text{NP}(\text{Cl})\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{CN}$ (0.18 mL、0.76 mmol)、1-メチルイミダゾール (10 μL 、0.12 mmol)、及び N,N -ジイソプロピルエチルアミン (1 mL) を室温に加え、2時間攪拌した。メタノールを数滴加えて反応を停止した後、溶媒を減圧留去し、残渣に酢酸エチルを加え、飽和炭酸水素ナトリウムと飽和食塩水で有機層を洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル：ヘキサン=1：2～2：1) にて精製して、ジアステレオマー混合物として下記式で表される化合物3 (142 mg、収率61%) を無色泡状物質として得た。さらなる精製は、分取用逆相HPLC (メタノール) にて行った。

[0160] (化合物3)

Mp 94–98°C; IR (KBr) 3201, 3065, 2962, 2931, 2857, 2359, 2251, 1697, 1509, 1252 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.23 (s, 1H), 7.53 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 7.45–7.37 (m, 4H), 7.24 (d, J = 3.2 Hz, 2H), 7.21–7.17 (m, 1H), 7.04 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.84–6.79 (m, 4H), 4.73–4.71 (m, 1H), 4.54 (t, J = 4.6 Hz, 0.5H), 4.49 (t, J = 4.4 Hz, 0.5H), 4.46–4.42 (m, 1H), 4.21 (d, J = 4.1 Hz, 0.5H), 4.13 (d, J = 3.7 Hz, 0.5H), 3.91–3.87 (m, 0.5H), 3.81–3.77 (m, 6H), 3.67–3.61 (m, 0.5H), 3.57–3.42 (m, 3H), 3.05–3.02 (m, 3H), 2.65–2.61 (m, 1H), 2.30 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 1.18–1.06 (m, 9H), 0.96 (d, J = 7.1 Hz, 3H), 0.92 (t, J = 3.0 Hz, 9H), 0.18–0.13 (m, 6H) ppm; ¹³C {¹H} NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 158.49, 149.78, 148.68, 148.61, 145.32, 130.37, 130.34, 130.26, 128.51, 128.44, 127.84, 126.78, 113.15, 113.13, 113.10, 100.00, 86.08, 82.54, 76.79, 76.65, 73.59, 63.77, 55.32, 55.30, 43.40, 43.28, 43.06, 42.93, 36.10, 36.07, 25.96, 25.94, 24.79, 24.71, 24.63, 24.57, 20.16, 18.29, 0.09, -4.38, -4.42 ppm; HRMS calcd for M H⁺, C₄₈H₆₃N₄NaO₉PSi: 921.3994; found 921.3998.

[0161]

[化18]



(式中、DMTr、TBS及びMeは化合物9と同義である。

i-Pr₂は、ジイソプロピル基を表す。)

[0162] [製造例6]

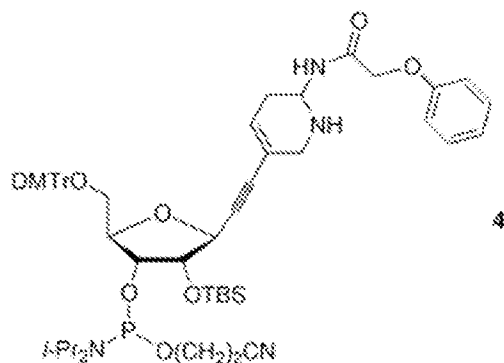
化合物10 (250 mg、0.31 mmol) をアルゴン雰囲気下、ジクロロメタン (3 mL) に溶解し、その溶液に i-Pr₂NP(CI)O(CH₂)₂CN (0.18 mL、0.76 mmol)、1-メチルイミダゾール (10 μL、0.12 μmol)、及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン (1 mL) を室温に加え、2時間攪拌した。メタノールを数滴加えて反応を停止した後、溶媒を減圧留去し、残渣に酢酸エチルを加え、飽和炭酸水素ナトリウムと飽和食塩水で有機層を洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル：ヘキサン=1：2～2：1) にて精製して、ジアステレオマー混合物として下記式で表される化合物4 (230 mg、収率71%) を無色泡状物質として得た。さらなる精製は、分取用逆相HPLC (メタノール) にて行った。

[0163] (化合物4)

Mp 48–52 °C; IR (KBr) 3398, 2964, 2930, 2359, 2252, 1708, 1601, 1510, 1373 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.96 (s, 1H), 8.37 (t, J=2.3 Hz, 1H), 8.23 (d, J=8.7 Hz, 1H), 7.73 (dt, J=8.5, 2.4 Hz, 1H), 7.53–7.49 (m, 2

H), 7.42–7.33 (m, 6H), 7.25–7.17 (m, 2H), 7.07 (t, J=7.3 Hz, 1H), 7.02–6.99 (m, 2H), 6.82–6.77 (m, 4H), 4.72 (t, J=7.3 Hz, 1H), 4.65–4.61 (m, 3H), 4.55–4.52 (m, 0.5H), 4.25–4.16 (m, 1.5H), 3.93–3.86 (m, 1H), 3.77–3.74 (m, 6H), 3.68–3.52 (m, 3H), 3.44 (ddd, J=19.5, 10.5, 3.0 Hz, 1H), 3.05–3.00 (m, 1H), 2.65–2.61 (m, 1H), 2.31–2.27 (m, 1H), 1.29–1.11 (m, 9H), 0.99 (d, J=6.9 Hz, 3H), 0.93 (td, J=6.2, 3.1 Hz, 9H), 0.19–0.14 (m, 6H) ppm; ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 166.90, 158.49, 156.92, 150.91, 141.28, 130.24, 130.00, 128.39, 128.30, 127.89, 126.83, 122.59, 116.26, 114.85, 113.48, 113.17, 72.55, 72.47, 67.42, 55.26, 42.86, 36.91, 26.00, 25.95, 24.72, 24.67, 24.61, 18.46, 0.09, -3.10, -4.47 ppm; HRMS calcd for MH^+ , $\text{C}_{56}\text{H}_{69}\text{N}_4\text{NaO}_9\text{PSi}$: 1023.4464; found 1023.4472.

[0164] [化19]



(式中、DMTr、TBS及びi-Pr₂は、化合物3と同義である。)

[0165] [製造例 7]

化合物 3 を用いて、DNA 自動合成機として 392 DNA/RNA Synthesizer (Applied Biosystems 製) を使用して、16 塩基の人工 RNA オリゴマーを固相合成した。自動合成終了後、固相にアンモニア溶液 (28% アンモニア水 : エタノール = 3 : 1、1 mL) を加え、30℃で30分間振盪攪拌することで、オリゴマーを固相から切り出した。固相を濾別し、溶液を40℃で8時間振盪攪拌した後、凍結乾燥した。続いて、残渣にジメチルスルホキシド (DMSO) (100 μ L) 及びトリエチルアミン三フッ化水素酸塩 (125 μ L) を加え、65℃で2.5時間振盪攪拌した。3M 酢酸ナトリウム溶液 (25 μ L) 及び *n*-ブタノール (1 mL) を加え、低温冷凍庫で30分間静置した。上澄を除去した後、残った沈殿物をエタノールで洗浄した。逆相 HPLC で精製して、化合物 5 ($r(T^*)_{16}$) を得た。

[0166] (化合物 5)

MALDI-TOF MS: calcd for $[M-H^+]$, $C_{192}H_{208}N_{32}O_{126}P_{15}$: 5441.7; found 5449.5.

[0167] [製造例 8]

化合物 4 を用いたこと以外は、製造例 7 と同様にして 16 塩基の人工 RNA オリゴマーを固相合成した。自動合成終了後、固相にアンモニア溶液 (28% アンモニア水 : エタノール = 3 : 1、1 mL) を加え、30℃で30分間振盪攪拌することで、オリゴマーを固相から切り出した。固相を濾別し、溶液を55℃で3日間振盪攪拌した後、凍結乾燥した。続いて、残渣に DMSO (100 μ L) 及びトリエチルアミン三フッ化水素酸塩 (125 μ L) を加え、65℃で2.5時間振盪攪拌した。3M 酢酸ナトリウム溶液 (25 μ L) 及び *n*-ブタノール (1 mL) を加え、低温冷凍庫で30分間静置した。上澄を除去した後、残った沈殿物をエタノールで洗浄した。逆相 HPLC で精製して、化合物 6 ($r(P^yA^*)_{16}$) を得た。

[0168] (化合物 6)

MALDI-TOF MS: calcd for $[M-H]^+$, $C_{192}H_{208}N_{32}O_{94}P_{15}$: 4929.9; found 4931.1.

[0169] [参考例1]

天然DNAの構成成分であるデオキシアデノシンーリン酸 (dAMP) を16塩基有するオリゴマーである化合物7 ($d(A)_{16}$) を(株)日本遺伝子研究所に合成依頼して得た。

[0170] [参考例2]

天然DNAの構成成分であるデオキシチミジンーリン酸 (dTMP) を16塩基有するオリゴマーである化合物11 ($d(T)_{16}$) を(株)日本遺伝子研究所に合成依頼して得た。

[0171] [参考例3]

天然RNAの構成成分であるウリジルーリン酸を16塩基有するオリゴマーである化合物12 ($r(U)_{16}$) を(株)日本遺伝子研究所に合成依頼して得た。

[0172] [参考例4]

J. Am. Chem. Soc., 130, 8762-8768, 2008に記載の方法に基づき、人工DNAの構成成分として、 A^* を16塩基有するオリゴマーである化合物13 ($d(A^*)_{16}$) を合成した。

[0173] [参考例5]

J. Am. Chem. Soc., 130, 8762-8768, 2008に記載の方法に基づき、人工DNAの構成成分として、 T^* を16塩基有するオリゴマーである化合物14 ($d(T^*)_{16}$) を合成した。

[0174] <塩基対の相互作用解析>

[実施例1]

化合物5及び化合物7の1:1緩衝溶液 ($2\mu M$ duplexes、 $10mM$ HEPES (pH7.0)、 $10mM$ $MgCl_2$ 、 $100mM$ NaCl) を作製した。その溶液の $10^\circ C$ 及び $80^\circ C$ でのUV-visスペクトル測定を行った結果を図1Aに示した。上記UV-visスペクトル測定

の測定には、V-560 UV/vis spectrophotometer（日本分光製）を使用した。図1Aによれば、天然核酸と同様に、温度依存的かつ不可逆的な濃色効果及び淡色効果が観測できた。また、10、20、30、40、50、60、70、80℃での円二色性（CD）スペクトル測定をJ-720WI spectropolarimeter（日本分光製）を使用して行った結果を図1Bに示した。さらに、10℃から毎分1.0℃のペースで昇温させた際の270nmでの吸光度変化をモニターすることにより、融解温度曲線の測定を行った。上記融解温度曲線の測定には、V-560 UV/vis spectrophotometer（日本分光製）を使用した。融解温度曲線を一次微分した極大値から、2重鎖融解温度（ T_m 値）の算出を行い、その結果を図1Cに示した。 T_m 値は71.0℃であった。

[0175] [実施例2]

化合物7を化合物13に変えたこと以外は、実施例1と同様にして、UV-visスペクトル測定を行った結果を図2Aに示し、CDスペクトル測定を行った結果を図2Bに示した。また、化合物7を化合物13に変えたこと以外は、実施例と同様にして、融解温度曲線の測定を行った結果を図2Cに示し、 T_m 値の算出を行ったところ、 T_m 値は34.0℃であった。

[0176] [実施例3]

化合物7を化合物6に変えたこと以外は、実施例1と同様にして、UV-visスペクトル測定を行った結果を図3Aに示し、CDスペクトル測定を行った結果を図3Bに示した。また、化合物7を化合物6に変えたこと以外は、実施例と同様にして、融解温度曲線の測定を行った結果を図3Cに示し、 T_m 値の算出を行ったところ、 T_m 値は55.0℃であった。

[0177] [比較例1]

化合物5を化合物11に変えたこと以外は、実施例1と同様にして、 T_m 値の算出を行ったところ、 T_m 値は48.5℃であった。

[0178] [比較例2]

化合物 5 を化合物 1 2 に変えたこと以外は、実施例 1 と同様にして、 T_m 値の算出を行ったところ、 T_m 値は 39.0℃であった。

[0179] [比較例 3]

化合物 5 を化合物 1 4 に変えたこと以外は、実施例 1 と同様にして、 T_m 値の算出を行ったところ、 T_m 値は 40.5℃であった。

産業上の利用可能性

[0180] 本発明に係る重合体は、天然 DNA との親和性に優れることから、天然 DNA が 2 重鎖を形成している場合であっても、天然 DNA のうち一方の相補的な水素結合を形成しうる重合体と特異的に塩基対を形成できうる。例えば、疾患に関する天然 DNA や天然 RNA と特異的に結合させることができれば、アンチジーン、アンチセンス、診断薬等の核酸医薬への展開が期待される。

また、本発明に係る重合体は、本発明に係る重合体又は他の人工的に合成された核酸と塩基対を形成できる。一方、塩基対の相互作用は、本発明に係る重合体及び天然核酸（天然 DNA）の塩基対である場合に、特に熱的安定性に優れる。

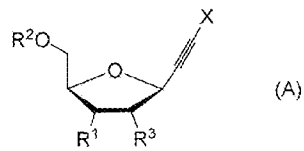
現在、アンチジーン・アンチセンス医薬品としての展開が期待されている人工的に合成された核酸として代表的な Peptide Nucleic Acid (PNA) 又は Locked Nucleic Acid (LNA) (別名 Bridged Nucleic Acid; BNA) では、それぞれの 2 重鎖が最も安定であり、取り扱いが難しいという問題点が存在しており、本発明では、上記問題点を克服できる可能性がある。

さらに、例えば DNA チップ上に天然 DNA の代わりに、本発明に係る重合体を固定化しておけば、検体となる天然 DNA を効率的に補足できることが予想され、天然核酸の検出感度を高める基盤技術や核酸検出材料への展開も期待される。

請求の範囲

[請求項1] 下記式 (A)

[化1]



[式 (A) 中、Xは、芳香環基であり、

R^1 は、 $-OR^{1a}$ (式中、 R^{1a} は、水素原子又は置換基を示す。)

又はホスホロアミダイト基であり、

R^2 は、水素原子又は置換基であり、

R^3 は、ハロゲン原子又は $-OR^{3a}$ (式中、 R^{3a} は、水素原子又は置換基を示す。) である。]

で表される化合物。

[請求項2] Xがヘテロ芳香環基である請求項1に記載の化合物。

[請求項3] Xがピリジン環基、ピリミジン環基又はプリン環基である請求項1又は請求項2に記載の化合物。

[請求項4] R^3 が $-OR^{3a}$ である請求項1～請求項3のいずれか1項に記載の化合物。

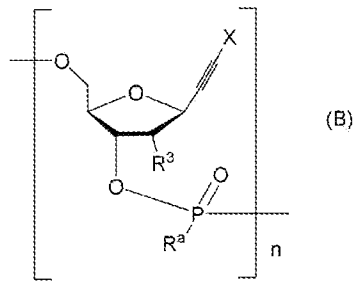
[請求項5] R^1 及び R^3 がヒドロキシ基であり、 R^2 が水素原子である請求項1～請求項4のいずれか1項に記載の化合物。

[請求項6] R^1 がヒドロキシ基又はホスホロアミダイト基であり、 R^3 が $-OR^{3a}$ であり、 R^2 及び R^{3a} が保護基である請求項1～請求項4のいずれか1項に記載の化合物。

[請求項7] 請求項1～請求項6のいずれか1項に記載の化合物の重合体。

[請求項8] 下記式 (B)

[化2]



[式 (B) 中、Xは、芳香環基であり、

R^a は、 $-OR^b$ (式中、 R^b は、水素原子又は置換基を示す。) であり、

R^3 は、ハロゲン原子又は $-OR^{3a}$ (式中、 R^{3a} は、水素原子又は置換基を示す。) であり、

n は2以上である。

複数のX、 R^a 及び R^3 は同一であっても異なってもよい。]

で表される構造単位を有する請求項7に記載の重合体。

[請求項9] 核酸と塩基対を形成できる請求項7又は請求項8に記載の重合体。

[請求項10] 同じ長さの核酸同士で塩基対を形成する場合において、天然DNA同士での塩基対に比べて、天然DNAとの塩基対の2重鎖融解温度が高い請求項7～請求項9のいずれか1項に記載の重合体。

[請求項11] n が10以上である請求項8～請求項10のいずれか1項に記載の重合体。

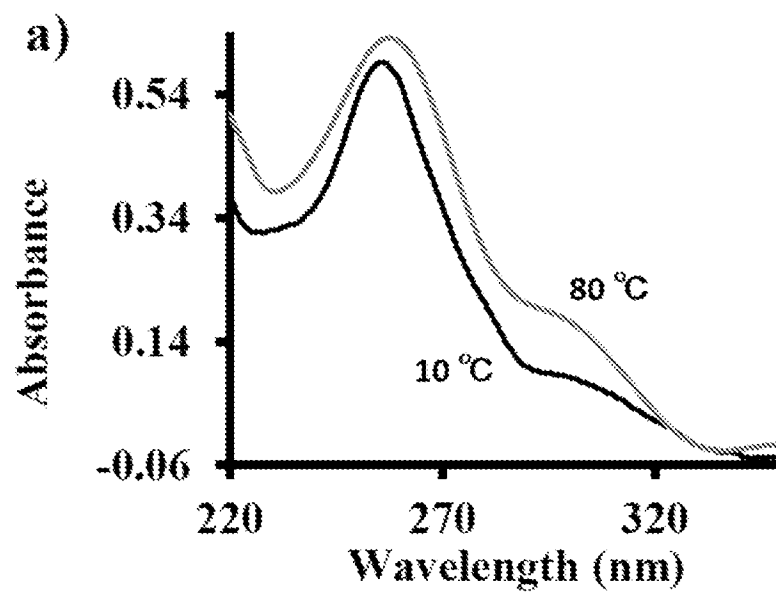
[請求項12] 請求項7～請求項11のいずれか1項に記載の重合体を含む塩基対。

[請求項13] 2重らせん構造を形成している請求項12に記載の塩基対。

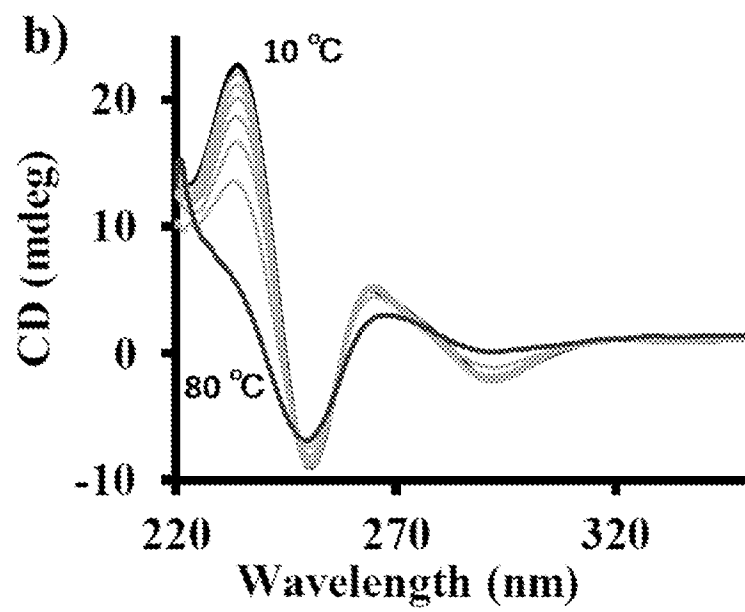
[請求項14] 請求項7～請求項11のいずれか1項に記載の重合体を含む核酸検出材料。

[請求項15] 請求項1～請求項13のいずれか1項に記載の化合物、重合体又は塩基対を含む核酸医薬。

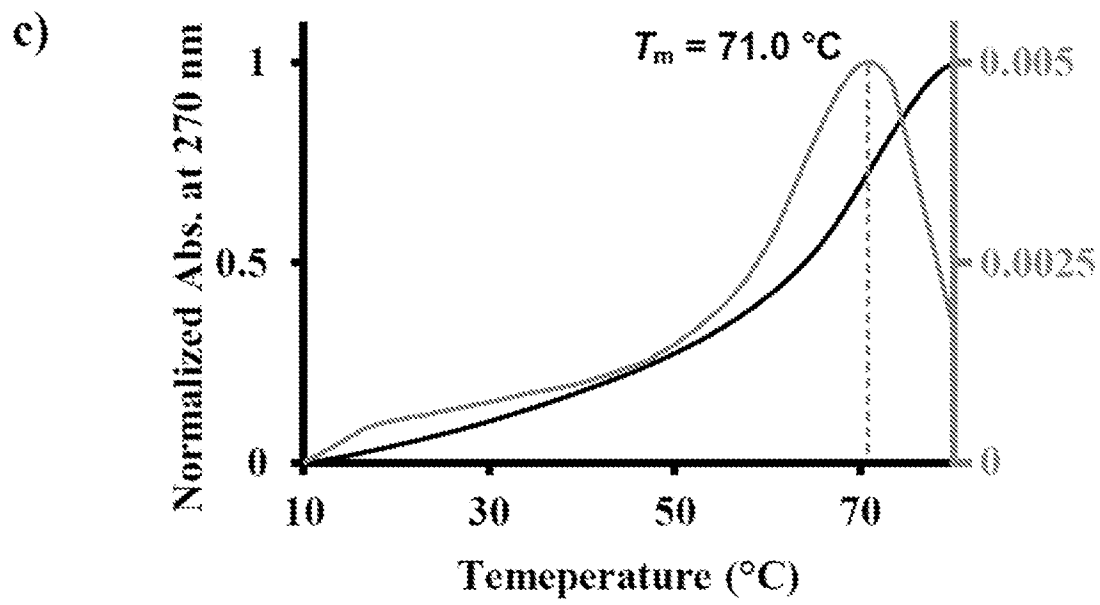
[図1A]



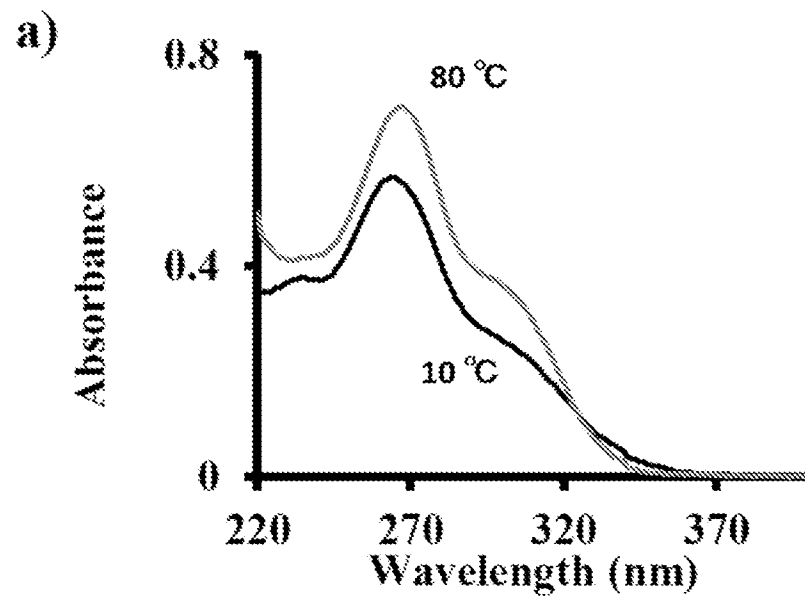
[図1B]



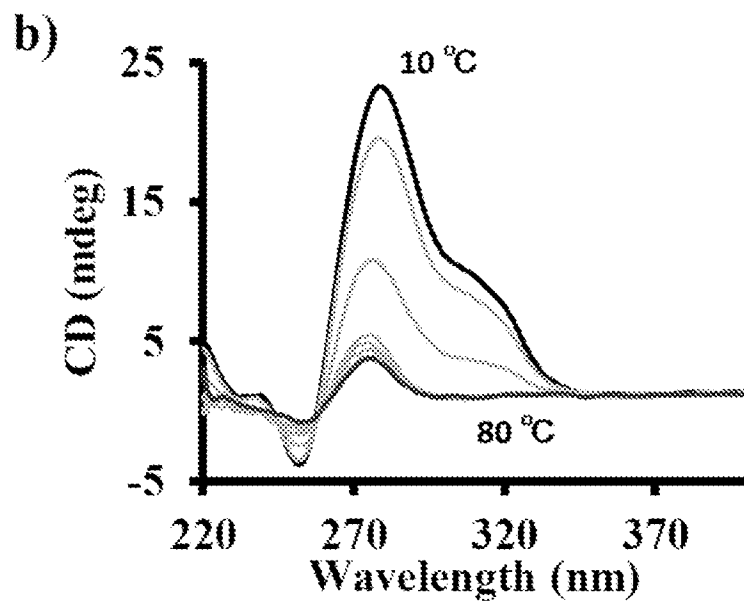
[図1C]



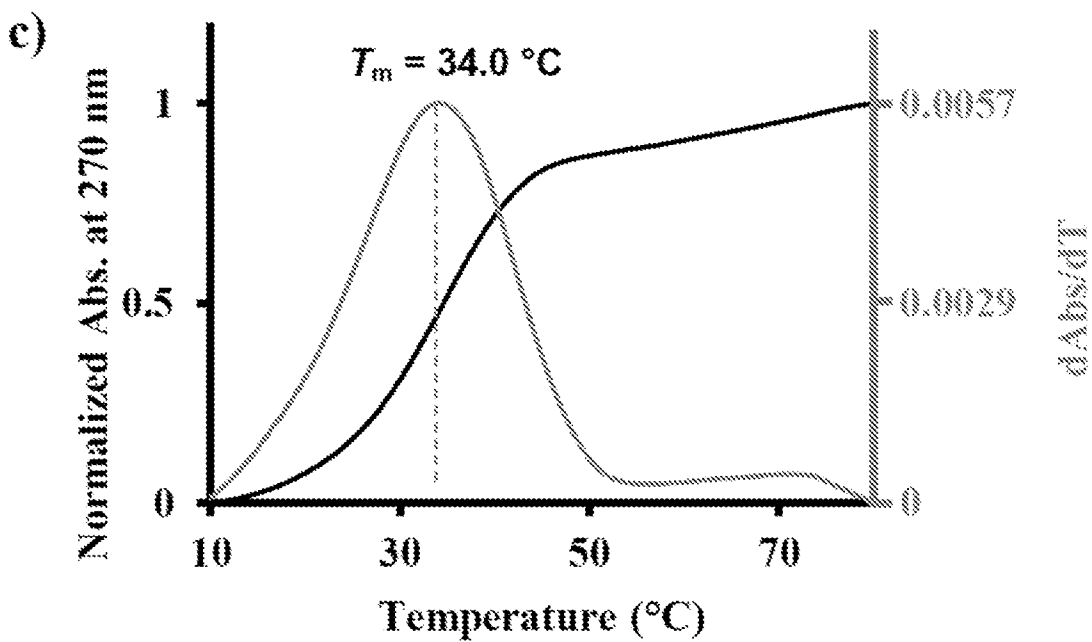
[図2A]



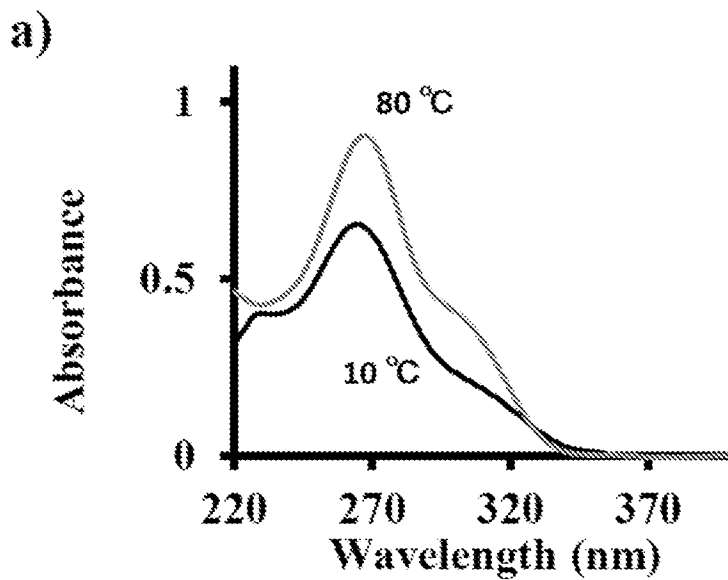
[圖2B]



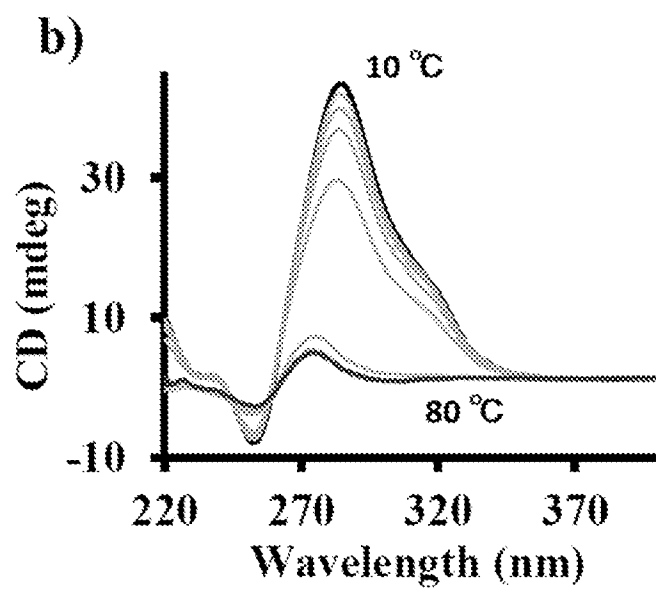
[圖2C]



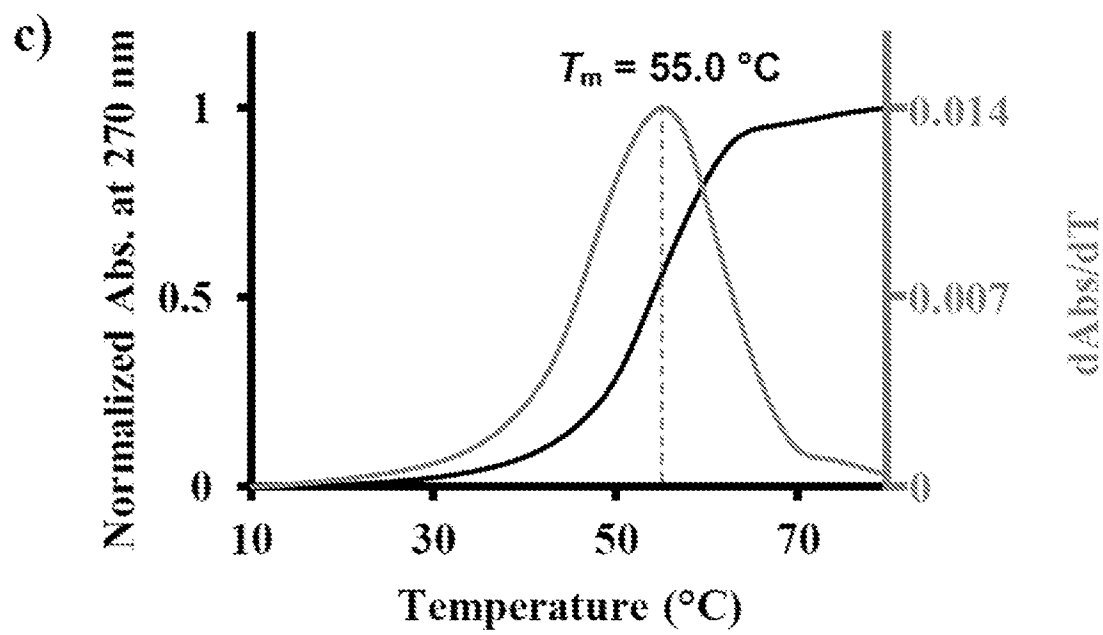
[圖3A]



[図3B]



[図3C]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/006992

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 405/06(2006.01)i; C07B 61/00(2006.01)i; C07F 7/18(2006.01)i; C07F 9/6558(2006.01)i

FI: C07D405/06; C07F7/18 A; C07F9/6558; C07B61/00 300; C07F7/18 U CSP

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D405/00; C07B01/00; C07F7/18; C07F9/6558

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996

Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2021

Registered utility model specifications of Japan 1996-2021

Published registered utility model applications of Japan 1994-2021

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAplus/REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2019/079261 A1 (BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY) 25 April 2019 (2019-04-25) entire text, in particular, page 1, lines 7-9, page 52, line 1 to page 66, line 9, pp. 91-111	1-5, 15
X	CN 101200467 A (XUZHOU NORMAL UNIVERSITY) 18 June 2008 (2008-06-18) entire text, in particular, page 5, examples 3, 4	1-5, 15
Y	DOI Y. et al., "Artificial DNA Made Exclusively of Nonnatural C-Nucleosides with Four Types of Nonnatural Bases.", Journal of the American Chemical Society, 2008, vol. 130, no. 27, pp. 8762-8768, doi:10.1021/ja801058h, fig. 1, table 1, scheme S1	1-15



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I"

later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&"

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

07 April 2021 (07.04.2021)

Date of mailing of the international search report

20 April 2021 (20.04.2021)

Name and mailing address of the ISA/

Japan Patent Office

3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,

Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/006992

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2017/104836 A1 (AJINOMOTO CO., INC.) 22 June 2017 (2017-06-22) entire text, in particular, paragraphs [0001], [0064], [0222]-[0224], [0227]-[0229], [0417]-[0554]	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2021/006992

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 2019/079261 A1	25 Apr. 2019	(Family: none)	
CN 101200467 A	18 Jun. 2008	(Family: none)	
WO 2017/104836 A1	22 Jun. 2017	US 2018/0282365 A1 paragraphs [0195], [0526]-[0533], [0536]-[0538], [0825]-[1059] EP 3398955 A1	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C07D 405/06(2006.01)i; C07B 61/00(2006.01)i; C07F 7/18(2006.01)i; C07F 9/6558(2006.01)i FI: C07D405/06; C07F7/18 A; C07F9/6558; C07B61/00 300; C07F7/18 U CSP														
B. 調査を行った分野														
調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） C07D405/06; C07B61/00; C07F7/18; C07F9/6558														
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの														
<table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2021年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2021年	日本国実用新案登録公報	1996-2021年	日本国登録実用新案公報	1994-2021年				
日本国実用新案公報	1922-1996年													
日本国公開実用新案公報	1971-2021年													
日本国実用新案登録公報	1996-2021年													
日本国登録実用新案公報	1994-2021年													
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） CAplus/REGISTRY (STN)														
C. 関連すると認められる文献														
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号												
X	WO 2019/079261 A1 (BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY) 25.04.2019 (2019-04-25) 文献全体、特に、1 ページ 7 ～ 9 行目、52 ページ 1 行目 ～ 66 ページ 9 行目、 91 ページ ～ 111 ページ	1-5, 15												
X	CN 101200467 A (XUZHOU NORMAL UNIVERSITY) 18.06.2008 (2008-06-18) 文献全体、特に、5 ページ、実施例 3、実施例 4	1-5, 15												
Y	DOI Y. et al., Artificial DNA Made Exclusively of Nonnatural C-Nucleosides with Four Types of Nonnatural Bases., Journal of the American Chemical Society, 2008, Vol.130, No.27, pages 8762 to 8768, doi:10.1021/ja801058h Figure 1、Table 1、Scheme S1	1-15												
Y	WO 2017/104836 A1 (味の素株式会社) 22.06.2017 (2017-06-22) 文献全体、特に、[0001]、[0064]、[0222] ～ [0224]、 [0227] ～ [0229]、[0417] ～ [0554]	1-15												
☐ C 欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。														
<table border="0"> <tr> <td>* 引用文献のカテゴリー</td> <td>“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</td> </tr> <tr> <td>“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの</td> <td>“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</td> </tr> <tr> <td>“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</td> <td>“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</td> </tr> <tr> <td>“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）</td> <td>“&” 同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td></td> </tr> <tr> <td>“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献</td> <td></td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリー	“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの	“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの	“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの	“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの	“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）	“&” 同一パテントファミリー文献	“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献	
* 引用文献のカテゴリー	“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの													
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの	“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの													
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの													
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）	“&” 同一パテントファミリー文献													
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献														
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献														
国際調査を完了した日 07.04.2021	国際調査報告の発送日 20.04.2021													
名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号	権限のある職員（特許庁審査官） 小森 潔 4P 3762 電話番号 03-3581-1101 内線 3492													

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2021/006992

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO	2019/079261	A1	25.04.2019	(ファミリーなし)	
CN	101200467	A	18.06.2008	(ファミリーなし)	
WO	2017/104836	A1	22.06.2017	US 2018/0282365 A1	
				[0195], [0526]-[0533],	
				[0536]-[0538], [0825]-[10	
				59]	
				EP 3398955 A1	