

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7266896号  
(P7266896)

(45)発行日 令和5年5月1日(2023.5.1)

(24)登録日 令和5年4月21日(2023.4.21)

(51)Int. Cl.

A 6 1 K 31/712 (2006.01)  
 A 6 1 P 43/00 (2006.01)  
 A 6 1 P 31/20 (2006.01)  
 A 6 1 P 31/18 (2006.01)  
 C 0 7 H 19/207 (2006.01)

F I

A 6 1 K 31/712  
 A 6 1 P 43/00 1 0 5  
 A 6 1 P 43/00 1 1 1  
 A 6 1 P 31/20  
 A 6 1 P 31/18

請求項の数 4 (全 41 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2020-505121(P2020-505121)

(86)(22)出願日 平成31年3月8日(2019.3.8)

(86)国際出願番号 PCT/JP2019/009213

(87)国際公開番号 W02019/172394

(87)国際公開日 令和1年9月12日(2019.9.12)

審査請求日 令和3年11月12日(2021.11.12)

(31)優先権主張番号 特願2018-43329(P2018-43329)

(32)優先日 平成30年3月9日(2018.3.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
日本国(JP)

(73)特許権者 503360115

国立研究開発法人科学技術振興機構  
埼玉県川口市本町四丁目1番8号

(74)代理人 110001612

弁理士法人きさらぎ国際特許事務所

(72)発明者 阿部 洋

愛知県名古屋市千種区不老町 国立大学法  
人名古屋大学 大学院理学研究科 物質理  
学専攻化学系内

(72)発明者 木村 康明

愛知県名古屋市千種区不老町 国立大学法  
人名古屋大学 大学院理学研究科 物質理  
学専攻化学系内

審査官 早川 裕之

最終頁に続く

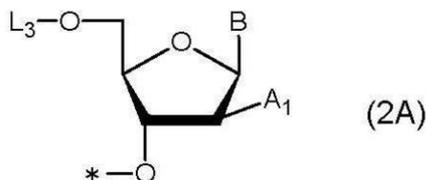
(54)【発明の名称】 $\beta$ 修飾リン酸化合物前駆体、 $\beta$ 修飾リン酸化合物、反応阻害剤及びこれを含む医薬並びに反応阻害方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

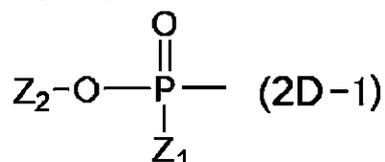
リン酸化を伴うDNAポリメラーゼによる核酸伸長反応におけるリン酸化後の核酸伸長反応の進行を阻害する反応阻害剤であって、前記式2Aで示されるヌクレオシド誘導体又は該ヌクレオシド誘導体を3'末端に有する核酸である。修飾リン酸化合物前駆体を含有し、DNAポリメラーゼの反応を阻害することを特徴とする反応阻害剤。

【化1】



(ここで、 $A_1$ は  $-SR_1$ 、 $-S-S-R_1$ 、 $-SeR_1$ 、又は  $-X$  (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、ヨウ素から選択されるハロゲンを意味する)を示し、 $R_1$ は水素、炭素数1~20のアルキル基、炭素数1~20のアリール基、又は炭素数1~20のアルケニル基である。 $L_3$ は水素、又は下記式2D-1で示されるモノリン酸基、若しくは下記式2Eで示されるトリリン酸基である。)

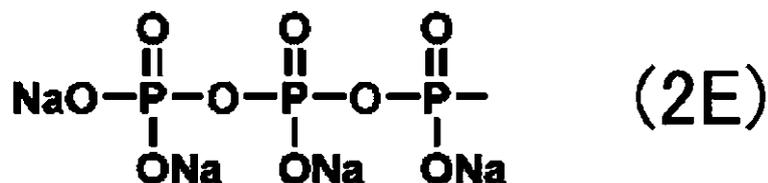
【化 2】



(ここで、 $\text{Z}_1$ は、ヒドロキシル基、又はグリシン、アラニン、バリン、ロイシン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン若しくはプロリンのメチルエステル、エチルエステル、イソプロピルエステル、 $n$ -ブチルエステル、ベンジルエステル若しくはフェニルエステルである。 $\text{Z}_2$ は、水素、炭素数1~4のアルキル基、ハロゲン、又はフェニル基である。)

10

【化 3】



Bはアデニン、グアニン、シトシン、チミン、ウラシル、 $N$ -メチルアデニン、 $N$ -ベンゾイルアデニン、2-メチルチオアデニン、2-アミノアデニン、7-メチルグアニン、 $N$ -イソブチリルグアニン、5-フルオロシトシン、5-プロモシトシン、5-メチルシトシン、4- $N$ -メチルシトシン、4- $N,N$ -ジメチルシトシン、5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、5-クロロウラシル、又は5,6-ジヒドロウラシルから選択される塩基である。\*はリン酸化を受けてリン酸基が結合する結合手であり、リン酸化前においては水素が結合していることを意味する。)

20

【請求項 2】

前記  $\text{A}_1$ は、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{S}-\text{S}-\text{C}_3\text{H}_5$ 、及び $-\text{S}-\text{e}-\text{C}_3\text{H}_3$ から選択され、

前記  $\text{Z}_1$ は、ヒドロキシル基及びアラニンのイソプロピルエステルから選択され、

前記  $\text{Z}_2$ は、水素及びフェニル基から選択され、

前記 Bは、アデニン、グアニン、シトシン、チミン及びウラシルから選択されることを特徴とする請求項 1 に記載の反応阻害剤。

30

【請求項 3】

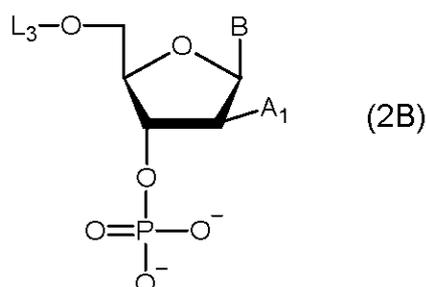
請求項 1 又は 2 に記載の反応阻害剤によってリン酸化を伴う DNA ポリメラーゼによる核酸伸長反応におけるリン酸化後の核酸伸長反応の進行を阻害する反応阻害方法(ただし人間を治療する方法を除く)であって、

前記式 2 A で示される 修飾リン酸化合物前駆体を用意する工程と、

前記 修飾リン酸化合物前駆体をリン酸化して下記式 2 B で示される 修飾リン酸化合物を生成させるとともに、前記 修飾リン酸化合物を部分開裂させて活性種を生成させる工程と、

40

【化 4】



(ここで、 $A_1$ 、 $L_3$ 、 $B$ は前記式2Aで定義したとおりである。)

を備えることを特徴とする反応阻害方法。

【請求項4】

前記 $A_1$ は、 $-SH$ 、 $-S-S-C_3H_5$ 、及び $-SeCH_3$ から選択され、  
 前記 $Z_1$ は、ヒドロキシル基及びアラニンのイソプロピルエステルから選択され、  
 前記 $Z_2$ は、水素及びフェニル基から選択され、  
 前記 $B$ は、アデニン、グアニン、シトシン、チミン及びウラシルから選択されることを特徴とする請求項3に記載の反応阻害方法。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本発明は、修飾リン酸化合物前駆体、修飾リン酸化合物、反応阻害剤及びこれを含む医薬並びに反応阻害方法に関し、特に、リン酸化を伴う反応におけるリン酸化後の反応の進行を阻害する修飾リン酸化合物前駆体、修飾リン酸化合物、反応阻害剤及びこれを含む医薬並びに反応阻害方法に関する。

【背景技術】

【0002】

リン酸化は、生体反応の重要なプロセスであり、生体内ではリン酸化を伴う様々な反応が行われている。例えば、DNAの複製では、DNAポリメラーゼがDNAのリン酸化を伴う反応を行っている。DNAポリメラーゼは、プライマー配列を起点とし、一本鎖DNAを鋳型としてこれに相補的なデオキシヌクレオチド三リン酸(dNTP)を3'末端側に順次結合することで、3' 5'方向に相補鎖DNAを伸長する。この反応では、DNAポリメラーゼによって、dNTPの三リン酸の2つのリン酸基が脱リン酸化されて残る1つのリン酸基が3'末端側の糖(デオキシリボース)の3位の水酸基(ヒドロキシル基)に結合する。その結果、3'末端側の糖はリン酸化され、相補鎖DNAが伸長する。ポリメラーゼは、DNAの複製や転写に関与し、癌やウイルスなどに起因する疾患の治療薬における重要な標的タンパク質でもある。

20

【0003】

また、メバロン酸は、テルペノイドやステロイドの合成に関与する化合物である。メバロン酸は、ATPを基質としてメバロン酸キナーゼによりリン酸化されて5-ホスホメバロン酸となり、その後のプロセスによってコレステロールなどに転化される。メバロン酸は、高脂血症などの治療薬における重要な標的物質としても知られている。

30

【0004】

このように、生体反応においてリン酸化は重要なプロセスであり、その後の反応を特異的かつ効率的に阻害できれば、種々の疾患の治療方法を提供できる可能性を秘めている。しかしながら、従来の技術では、リン酸化反応に起因する生体反応を選択的かつ効率的に阻害するには不十分であった。

【0005】

例えば、特許文献1には、DNAポリメラーゼの阻害剤としてアシクロビルが開示されている。アシクロビルは、ウイルスにおける一リン酸化と宿主(ヒト)における三リン酸化を受け、DNAポリメラーゼ反応において、伸長鎖の3'末端側に結合することで、ウイルスDNAポリメラーゼを拮抗阻害する。

40

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】特開平09-136842号公報(請求項1など)

【発明の概要】

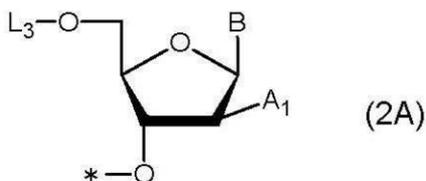
【発明が解決しようとする課題】

【0007】

50



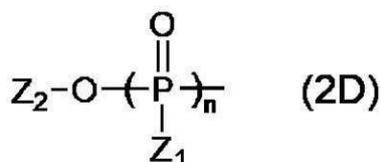
## 【化 2】



(ここで、 $A_1$ は  $-SR_1$ 、 $-S-S-R_1$ 、 $-SeR_1$ 、又は  $-X$  (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、ヨウ素から選択されるハロゲンを意味する)を示し、 $R_1$ は水素、炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、又は炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基である。  $L_3$ は水素、又は下記式 2 D で示されるモノリン酸基、ジリン酸基、又はトリリン酸基である。)

10

## 【化 3】



(ここで、 $n$ は 1 ~ 3 の整数を示す。  $Z_1$ は、ヒドロキシル基、又はグリシン、アラニン、バリン、ロイシン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン若しくはプロリンのメチルエステル、エチルエステル、イソプロピルエステル、 $n$ -ブチルエステル、ベンジルエステル若しくはフェニルエステルである。  $Z_2$ は、水素、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、ハロゲン、又はフェニル基である。  $n$ が 2 以上の場合においてそれぞれの  $Z_1$ は同一又は異なってもよい。)

20

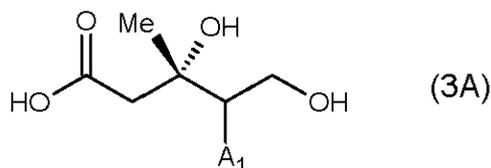
$B$ はアデニン、グアニン、シトシン、チミン、ウラシル、 $N$ -メチルアデニン、 $N$ -ベンゾイルアデニン、2-メチルチオアデニン、2-アミノアデニン、7-メチルグアニン、 $N$ -イソブチリルグアニン、5-フルオロシトシン、5-プロモシトシン、5-メチルシトシン、4- $N$ -メチルシトシン、4- $N,N$ -ジメチルシトシン、5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、5-クロロウラシル、又は 5,6-ジヒドロウラシルから選択される塩基である。\*はリン酸化を受けてリン酸基が結合する結合手であり、リン酸化前においては水素又はリン酸基以外の置換基が結合していることを意味する。)

30

## 【0012】

あるいは、上記の場合において、下記式 3 A で示されるメバロン酸誘導体であることが好ましい。

## 【化 4】



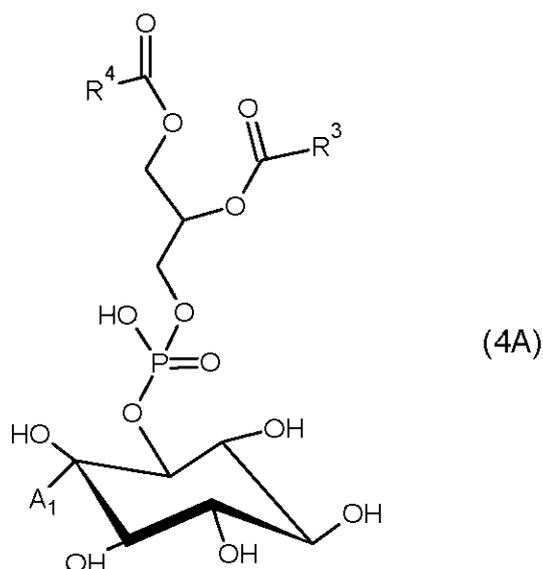
(ここで、 $A_1$ は  $-SR_1$ 、 $-S-S-R_1$ 、 $-SeR_1$ 、又は  $-X$  (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、ヨウ素から選択されるハロゲンを意味する)を示し、 $R_1$ は水素、炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、又は炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基である。)

## 【0013】

あるいはまた、上記の場合において、下記式 4 A で示されるホスファチジルイノシトール

ル誘導体であることを特徴とする請求項 1 に記載の 修飾リン酸化合物前駆体。

【化 5】



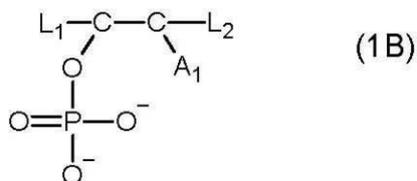
(ここで、 $A_1$ は  $-SR_1$ 、 $-S-S-R_1$ 、 $-SeR_1$ 、又は  $-X$  (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、ヨウ素から選択されるハロゲンを意味する)を示し、 $R_1$ は水素、炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、又は炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基である。 $R_3$ はアラキドン酸、リノール酸、及びリノレン酸から選択される不飽和脂肪酸であり、 $R_4$ はステアリン酸、パルミチン酸から選択される飽和脂肪酸である。)

20

【0014】

本発明は、下記式 1 B で示される部分構造を分子内に有することを特徴とする 修飾リン酸化合物である。

【化 6】



(ここで、 $A_1$ は  $-SR_1$ 、 $-S-S-R_1$ 、 $-SeR_1$ 、又は  $-X$  (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、及びヨウ素から選択されるハロゲンを意味する)を示し、 $R_1$ は水素、炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基から選択される。 $L_1$ は水素、炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、又は炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基を示し、 $L_2$ は炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、又は炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基を示す。 $L_1$ と $L_2$ は互いに連結して 4 ~ 6 員の環構造を形成してもよく、環構造は炭素、窒素、酸素、及び硫黄から選択される 1 種類以上の元素で構成される。 $L_1$ 及び $L_2$ は、それぞれヒドロキシル基、カルボキシル基、アミノ基、アルキル基、アリール基、炭素数 15 ~ 30 の飽和脂肪酸及び / 又は不飽和脂肪酸を 1 以上含むリン脂質、モノリン酸基、ジリン酸基、又はトリリン酸基、及び塩基 (ここで、塩基はアデニン、グアニン、シトシン、チミン、ウラシル、 $N$ -メチルアデニン、 $N$ -ベンゾイルアデニン、2-メチルチオアデニン、2-アミノアデニン、7-メチルグアニン、 $N$ -イソブチリルグアニン、5-フルオロシトシン、5-プロモシトシン、5-メチルシトシン、4- $N$ -メチルシトシン、4- $N,N$ -ジメチルシトシン、5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、5-クロロウラシル、又

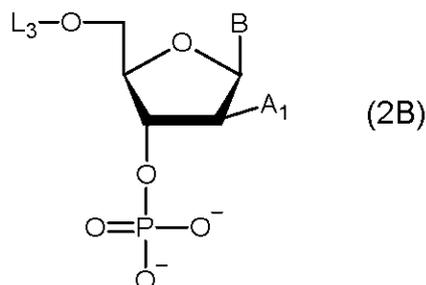
40

は 5 , 6 - ジヒドロウラシルを意味する ) から選択される 1 又は 2 以上の置換基を有していてもよい。)

【 0 0 1 5 】

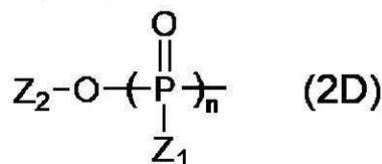
この場合において、下記式 2 B で示されるヌクレオシド誘導体又は該ヌクレオシド誘導体を 3 ' 末端に有する核酸であることが好ましい。

【 化 7 】



(ここで、 $A_1$ は  $-SR_1$ 、 $-S-S-R_1$ 、 $-SeR_1$ 、又は  $-X$  (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、ヨウ素から選択されるハロゲンを意味する) を示し、 $R_1$ は水素、炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、又は炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基である。 $L_3$ は水素、又は下記式 2 D で示されるモノリン酸基、ジリン酸基、又はトリリン酸基である。)

【 化 8 】



(ここで、 $n$ は 1 ~ 3 の整数を示す。 $Z_1$ は、ヒドロキシル基、又はグリシン、アラニン、バリン、ロイシン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン若しくはプロリンのメチルエステル、エチルエステル、イソプロピルエステル、 $n$ -ブチルエステル、ベンジルエステル若しくはフェニルエステルである。 $Z_2$ は、水素、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、ハロゲン、又はフェニル基である。 $n$ が 2 以上の場合においてそれぞれの  $Z_1$ は同一又は異なってもよい。)

$B$ はアデニン、グアニン、シトシン、チミン、ウラシル、 $N$ -メチルアデニン、 $N$ -ベンゾイルアデニン、2-メチルチオアデニン、2-アミノアデニン、7-メチルグアニン、 $N$ -イソブチリルグアニン、5-フルオロシトシン、5-プロモシトシン、5-メチルシトシン、4- $N$ -メチルシトシン、4- $N,N$ -ジメチルシトシン、5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、5-クロロウラシル、又は 5 , 6 - ジヒドロウラシルから選択される塩基である。)

【 0 0 1 6 】

本発明は、リン酸化を伴う反応におけるリン酸化後の反応の進行を阻害する反応阻害剤であって、上記のいずれかに記載の 修飾リン酸化合物前駆体を含有することを特徴とする反応阻害剤である。

【 0 0 1 7 】

この場合において、 修飾リン酸化合物前駆体が前記式 2 A で示されるヌクレオシド誘導体又は該ヌクレオシド誘導体を 3 ' 末端に有する核酸であり、DNAポリメラーゼの反応を阻害することが好ましい。

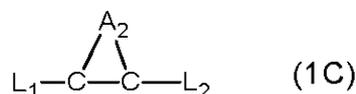
【 0 0 1 8 】

また、本発明は、上記の反応阻害剤を含有することを特徴とする医薬である。

【 0 0 1 9 】

本発明は、上記のいずれかに記載の反応阻害剤によってリン酸化を伴う反応におけるリン酸化後の反応の進行を阻害する反応阻害方法であって、前記式 1 A に記載の修飾リン酸化合物前駆体を用意する工程と、前記修飾リン酸化合物前駆体をリン酸化して前記式 1 B に記載の修飾リン酸化合物を生成させるとともに、前記修飾リン酸化合物を部分開裂させて下記式 1 C で示される活性種を生成させる工程と、を備えることを特徴とする反応阻害方法である。

## 【化 9】



(ここで、 $A_2$ は  $-S-$ 、 $-S^+(R_1)-$ 、 $-S^+(S-R_1)-$ 、 $-Se^+(R_1)-$ 、又は  $-X^+$  (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、及びヨウ素から選択されるハロゲンを意味する)を示し、 $R_1$ は水素、炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、又は炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基である。 $L_1$ は水素、炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、又は炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基を示し、 $L_2$ は炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、又は炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基を示す。 $L_1$ と $L_2$ は互いに連結して 4 ~ 6 員の環構造を形成してもよく、環構造は炭素、窒素、酸素、及び硫黄から選択される 1 種類以上の元素で構成される。 $L_1$ 及び $L_2$ は、それぞれヒドロキシル基、カルボキシル基、アミノ基、アルキル基、アリール基、炭素数 15 ~ 30 の飽和脂肪酸及び/又は不飽和脂肪酸を 1 以上含むリン脂質、モノリン酸基、ジリン酸基、又はトリリン酸基、及び塩基(ここで、塩基はアデニン、グアニン、シトシン、チミン、ウラシル、 $N$ -メチルアデニン、 $N$ -ベンゾイルアデニン、2-メチルチオアデニン、2-アミノアデニン、7-メチルグアニン、 $N$ -イソブチリルグアニン、5-フルオロシトシン、5-プロモシトシン、5-メチルシトシン、4- $N$ -メチルシトシン、4- $N$ ,  $N$ -ジメチルシトシン、5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、5-クロロウラシル、又は 5, 6-ジヒドロウラシルを意味する)から選択される 1 又は 2 以上の置換基を有していてもよい。)

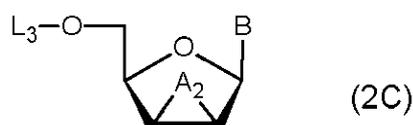
20

## 【0020】

この場合において、前記修飾リン酸化合物前駆体は前記式 2 A で示される化合物であり、前記修飾リン酸化合物は前記式 2 B で示される化合物であり、前記活性種は下記式 2 C で示される化合物であることが好ましい。

30

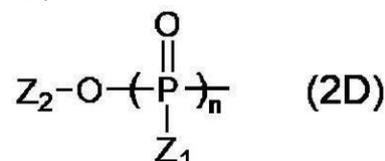
## 【化 10】



(ここで、 $A_2$ は  $-S-$ 、 $-S^+(R_1)-$ 、 $-S^+(S-R_1)-$ 、 $-Se^+(R_1)-$ 、又は  $-X^+$  (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、及びヨウ素から選択されるハロゲンを意味する)を示し、 $R_1$ は水素、炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、又は炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基である。 $L_3$ は水素、又は下記式 2 D で示されるモノリン酸基、ジリン酸基、又はトリリン酸基である。

40

## 【化 11】





、N - メチルアデニン、N - ベンゾイルアデニン、2 - メチルチオアデニン、2 - アミノアデニン、7 - メチルグアニン、N - イソブチリルグアニン、5 - フルオロシトシン、5 - プロモシトシン、5 - メチルシトシン、4 - N - メチルシトシン、4 - N , N - ジメチルシトシン、5 - フルオロウラシル、5 - プロモウラシル、5 - クロロウラシル、又は5 , 6 - ジヒドロウラシルを意味する) から選択される1又は2以上の置換基を有していてもよい。\* はリン酸化を受けてリン酸基が結合する結合手であり、リン酸化前においては水素又はリン酸基以外の置換基が結合していることを意味する。)

【0024】

ここで、R<sub>1</sub>は、水素、炭素数1～10のアルキル基、炭素数1～10のアリール基、炭素数1～10のアルケニル基から選択されることが好ましく、水素、炭素数1～6のアルキル基、炭素数1～6のアリール基、炭素数1～6のアルケニル基から選択されることが特に好ましい。

10

【0025】

炭素数1～10のアルキル基としては、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、2 - プロペニル基、ブチル基、ペンチル基、ヘキシル基、2 - エチルヘキシル基、ヘプチル基、オクチル基、ノニル基、デシル基などを挙げるができる。炭素数1～10のアリール基としては、フェニル基、o - トリル基、p - トリル基、2 , 3 - ジメチルフェニル基、2 , 4 - ジメチルフェニル基、2 , 5 - ジメチルフェニル基、2 , 6 - ジメチルフェニル基、メシチル基、o - クメニル基などを挙げるができる。炭素数1～6のアルケニル基としては、ビニル基、1 - プロペニル基、2 - プロペニル基、1 - ヘキセニル基などを挙げるができる。以下の説明においても同様である。

20

【0026】

また、L<sub>1</sub> , L<sub>2</sub>は、互いに同じであっても異なってもよく、それぞれ、水素、炭素数1～10のアルキル基、炭素数1～10のアリール基、又は炭素数1～10のアルケニル基から選択されることが好ましく、水素、炭素数1～6のアルキル基、炭素数1～6のアリール基、炭素数1～6のアルケニル基から選択されることが特に好ましい。

【0027】

L<sub>1</sub>とL<sub>2</sub>が互いに連結して環構造を形成する場合、シクロヘキサン、ベンゼン、五単糖、六単糖などを挙げるができる。L<sub>1</sub>及びL<sub>2</sub>は、それぞれ置換基を有していてもよく、置換基としては、ヒドロキシル基、カルボキシル基、アミノ基、アルキル基、アリール基、炭素数15～30の飽和脂肪酸及び/又は不飽和脂肪酸を1以上含むリン脂質、及び塩基から選択される。例えば、L<sub>1</sub>及びL<sub>2</sub>がリボース又はデオキシリボースの場合、置換基として1'位に塩基が結合するとヌクレオシド誘導体となる。

30

【0028】

塩基としては、天然の核酸塩基でもよく、非天然の(合成した)核酸塩基でもよい。天然の核酸塩基としては、アデニン、グアニン、シトシン、チミン、ウラシルを挙げるができる。非天然の核酸塩基としては、N - メチルアデニン、N - ベンゾイルアデニン、2 - メチルチオアデニン、2 - アミノアデニン、7 - メチルグアニン、N - イソブチリルグアニン、5 - フルオロシトシン、5 - プロモシトシン、5 - メチルシトシン、4 - N - メチルシトシン、4 - N , N - ジメチルシトシン、5 - フルオロウラシル、5 - プロモウラシル、5 - クロロウラシル、5 , 6 - ジヒドロウラシルなどを挙げるができる。

40

【0029】

\* は結合手であり、リン酸化前においては水素又はリン酸基以外の置換基が結合していることを意味している。リン酸化前において、特に、水素と結合していること(すなわち、\* - Oがヒドロキシル基であること)が好ましい。

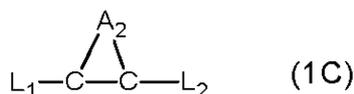
【0030】

上記式1Aで示される 修飾リン酸化合物前駆体は、リン酸化される化合物において、リン酸化を受ける酸素に結合した 位の炭素に対して、隣接する 位の炭素を上記A<sub>1</sub>で修飾した化合物ということができる。リン酸化は、生体内及び生体外のいずれの反応でもよいが、医薬用途としての 修飾リン酸化合物前駆体としては、生体内でリン酸化される

50



## 【化 1 4】



(ここで、 $A_2$ は  $-S-$ 、 $-S^+R_1-$ 、 $-S^+-S-R_1-$ 、 $-Se^+R_1-$ 、又は  $X^+$  (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、及びヨウ素から選択されるハロゲンを意味する)を示し、 $R_1$ は水素、炭素数1~20のアルキル基、炭素数1~20のアリール基、又は炭素数1~20のアルケニル基である。 $L_1$ は水素、炭素数1~20のアルキル基、炭素数1~20のアリール基、又は炭素数1~20のアルケニル基を示し、 $L_2$ は炭素数1~20のアルキル基、炭素数1~20のアリール基、又は炭素数1~20のアルケニル基を示す。 $L_1$ と $L_2$ は互いに連結して4~6員の環構造を形成してもよく、環構造は炭素、窒素、酸素、及び硫黄から選択される1種類以上の元素で構成される。 $L_1$ 及び $L_2$ は、それぞれヒドロキシル基、カルボキシル基、アミノ基、アルキル基、アリール基、炭素数15~30の飽和脂肪酸及び/又は不飽和脂肪酸を1以上含むリン脂質、モノリン酸基、ジリン酸基、又はトリリン酸基、及び塩基(ここで、塩基はアデニン、グアニン、シトシン、チミン、ウラシル、 $N$ -メチルアデニン、 $N$ -ベンゾイルアデニン、2-メチルチオアデニン、2-アミノアデニン、7-メチルグアニン、 $N$ -イソブチリルグアニン、5-フルオロシトシン、5-プロモシトシン、5-メチルシトシン、4- $N$ -メチルシトシン、4- $N,N$ -ジメチルシトシン、5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、5-クロロウラシル、又は5,6-ジヒドロウラシルを意味する)から選択される1又は2以上の置換基を有していてもよい。)

10

20

## 【0035】

この活性種は、反応性が高く、他の化合物を求核攻撃して共有結合を形成しやすい性質を有している。例えば $A_2$ が $-S-$ の場合、炭素と硫黄原子とがチラン環を分子内に形成する。このチラン環は、アミノ基、チオール基、ヒドロキシル基、イミダゾイル基などの官能基と反応して共有結合を形成しやすく、このため、タンパク質中の分子内にリシン、システイン、チロシン、ヒスチジン、トリプトファンなどのアミノ酸の側鎖の部分と共有結合しやすい。活性種がタンパク質と不可逆的に共有結合することで、その後の反応の進行が停止し、反応阻害作用を発揮すると推測される。

30

## 【0036】

修飾リン酸化合物前駆体が阻害する反応としては、リン酸化を伴う種々の反応を挙げることができる。特に、生体内での反応に対して効率的に阻害することができる。活性種が結合する分子は、タンパク質に限定されず、種々の分子に結合して反応を阻害する。

## 【0037】

このように、本発明では、修飾リン酸化合物前駆体を用いることで、リン酸化により活性種を生成させて共有結合により不可逆的に反応を阻害することが可能となる。また、リン酸化を受ける反応に特化して反応を阻害することができるため、副作用などが生じにくい。さらに、式1Aの部分構造に基づいて、特定の反応をターゲットにした反応阻害剤の化合物を設計できるという利点もある。

40

## 【0038】

## (4) 医薬

本発明の反応阻害剤は、上記のようにリン酸化後の反応を阻害することから、医薬、農薬などの薬剤における有効成分として有用であり、特に、医薬用途が好ましい。医薬の種類としては、錠剤、カプセル、丸剤、散剤、顆粒剤、細粒剤、ゼリー剤、液剤などを挙げることができる。

## 【0039】

上記の薬剤は、本発明の反応阻害剤のほかに、本発明の反応阻害効果を損なわない範囲内で、溶剤、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、安定剤、懸濁化剤などの添加物を含んで

いてもよい。製剤用溶剤としては、例えば、水、エタノール、グリセリンなどを挙げることができる。賦形剤としては、例えば、乳糖、白糖、ブドウ糖、マンニット、ソルビット、トウモロコシデンプン、馬鈴薯デンプン、 $\alpha$ -デンプン、デキストリン、カルボキシメチルデンプン、結晶セルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、アラビアゴム、デキストラン、プルラン、軽質無水珪酸、合成珪酸アルミニウム、メタ珪酸アルミン酸マグネシウムのような珪酸塩類；リン酸カルシウム、炭酸カルシウム、硫酸カルシウムなどを挙げることができる。結合剤としては、例えば、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、マクロゴールなどを挙げることができる。崩壊剤としては、例えば、クロスカルメロースナトリウム、カルボキシメチルスターチナトリウム、架橋ポリビニルピロリドンなどを挙げることができる。滑沢剤としては、例えば、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、コロイドシリカ、ビーガム、ビーズワックス、ゲイロウ、硼酸、グリコール、フマル酸、アジピン酸、安息香酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、ロイシン、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウム、無水珪酸、珪酸水和物などを挙げることができる。安定剤としては、例えば、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロロブタノール、ベンジルアルコール、フェニルエチルアルコール、塩化ベンザルコニウム、フェノール、クレゾール、チメロサル、無水酢酸、ソルビン酸などを挙げることができる。懸濁化剤としては、例えば、ポリソルベート 80、カルボキシメチルセルロースナトリウムなどを挙げることができる。

10

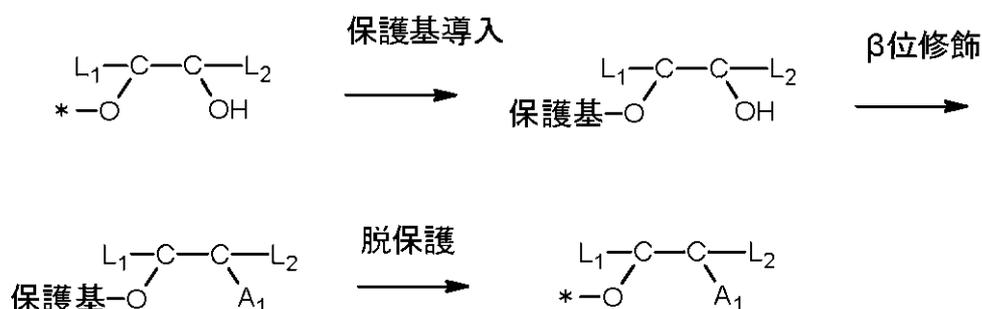
20

【0040】

## (5) 修飾リン酸化合物前駆体の製造方法

次に、修飾リン酸化合物前駆体の製造方法について説明する。式 1 A の修飾リン酸化合物前駆体は、下記式のスキームで合成することができる。具体的には、 $\beta$ 位の炭素にヒドロキシル基などが結合した化合物を出発物質とし、このヒドロキシル基以外のヒドロキシル基に保護基を結合して保護する。次に、 $\beta$ 炭素に結合したヒドロキシル基を  $A_1$  で置換し、最後に保護基を脱離させることで式 1 A の化合物を合成することができる。出発物質や保護基の種類、反応条件（濃度、温度等）などは、合成する修飾リン酸化合物前駆体によって異なる。

【化 15】



【0041】

修飾リン酸化合物前駆体としては、種々の具体的な化合物を挙げることができる。以下、ヌクレオシド誘導体、メパロン酸誘導体、ホスファチジルイノシトール誘導体についてそれぞれ詳細に説明する。

40

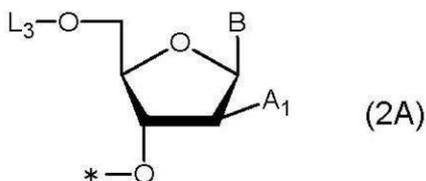
【0042】

## 2. ヌクレオシド誘導体

## (1) 修飾リン酸化合物前駆体

修飾リン酸化合物前駆体としては、下記式 2 A で示されるヌクレオシド誘導体を挙げることができる。

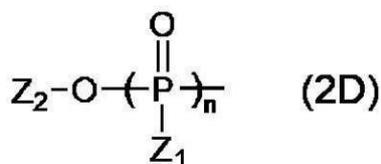
## 【化 1 6】



(ここで、 $A_1$ は  $-SR_1$ 、 $-S-S-R_1$ 、 $-SeR_1$ 、又は  $-X$  (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、ヨウ素から選択されるハロゲンを意味する)を示し、 $R_1$ は水素、炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、又は炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基である。 $L_3$ は水素、又は下記式 2 D で示されるモノリン酸基、ジリン酸基、又はトリリン酸基である。

10

## 【化 1 7】



(ここで、 $n$ は 1 ~ 3 の整数を示す。 $Z_1$ は、ヒドロキシル基、又はグリシン、アラニン、バリン、ロイシン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン若しくはプロリンのメチルエステル、エチルエステル、イソプロピルエステル、 $n$ -ブチルエステル、ベンジルエステル若しくはフェニルエステルである。 $Z_2$ は、水素、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、ハロゲン、又はフェニル基である。 $n$ が 2 以上の場合においてそれぞれの  $Z_1$ は同一又は異なってもよい。)

20

$B$ はアデニン、グアニン、シトシン、チミン、ウラシル、 $N$ -メチルアデニン、 $N$ -ベンゾイルアデニン、2-メチルチオアデニン、2-アミノアデニン、7-メチルグアニン、 $N$ -イソブチリルグアニン、5-フルオロシトシン、5-プロモシトシン、5-メチルシトシン、4- $N$ -メチルシトシン、4- $N,N$ -ジメチルシトシン、5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、5-クロロウラシル、又は 5,6-ジヒドロウラシルから選択される塩基である。 $*$ はリン酸化を受けてリン酸基が結合する結合手であり、リン酸化前においては水素又はリン酸基以外の置換基が結合していることを意味する。)

30

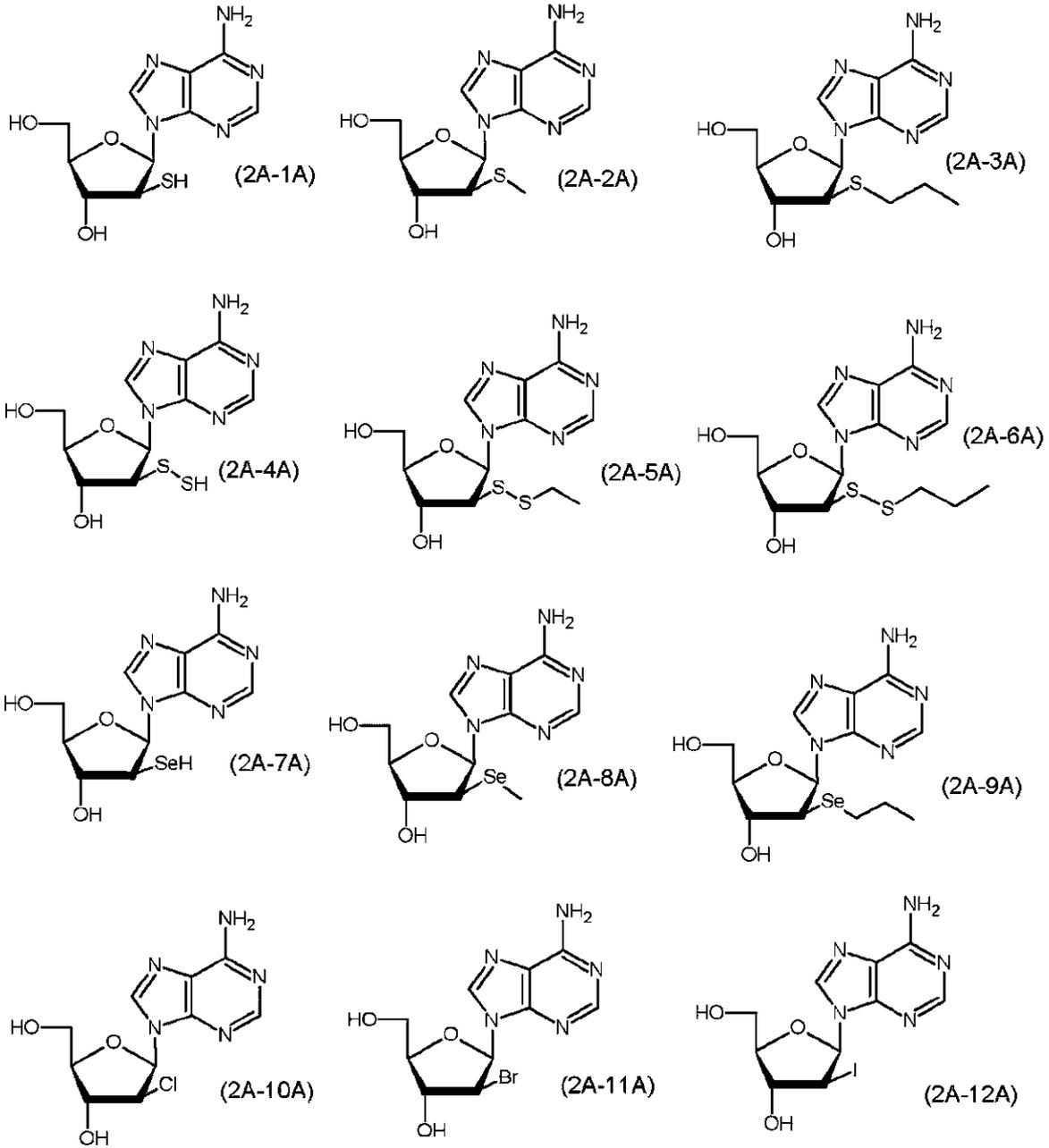
## 【0043】

ここで、ヌクレオシド誘導体としては、具体的には、以下に示される化合物を挙げることができるが、これらに限定されるものではない。

## 【0044】

塩基がアデニンであるアデノシン誘導体としては、下記式 (2A-1A) ~ (2A-12A) の化合物を例示することができる。

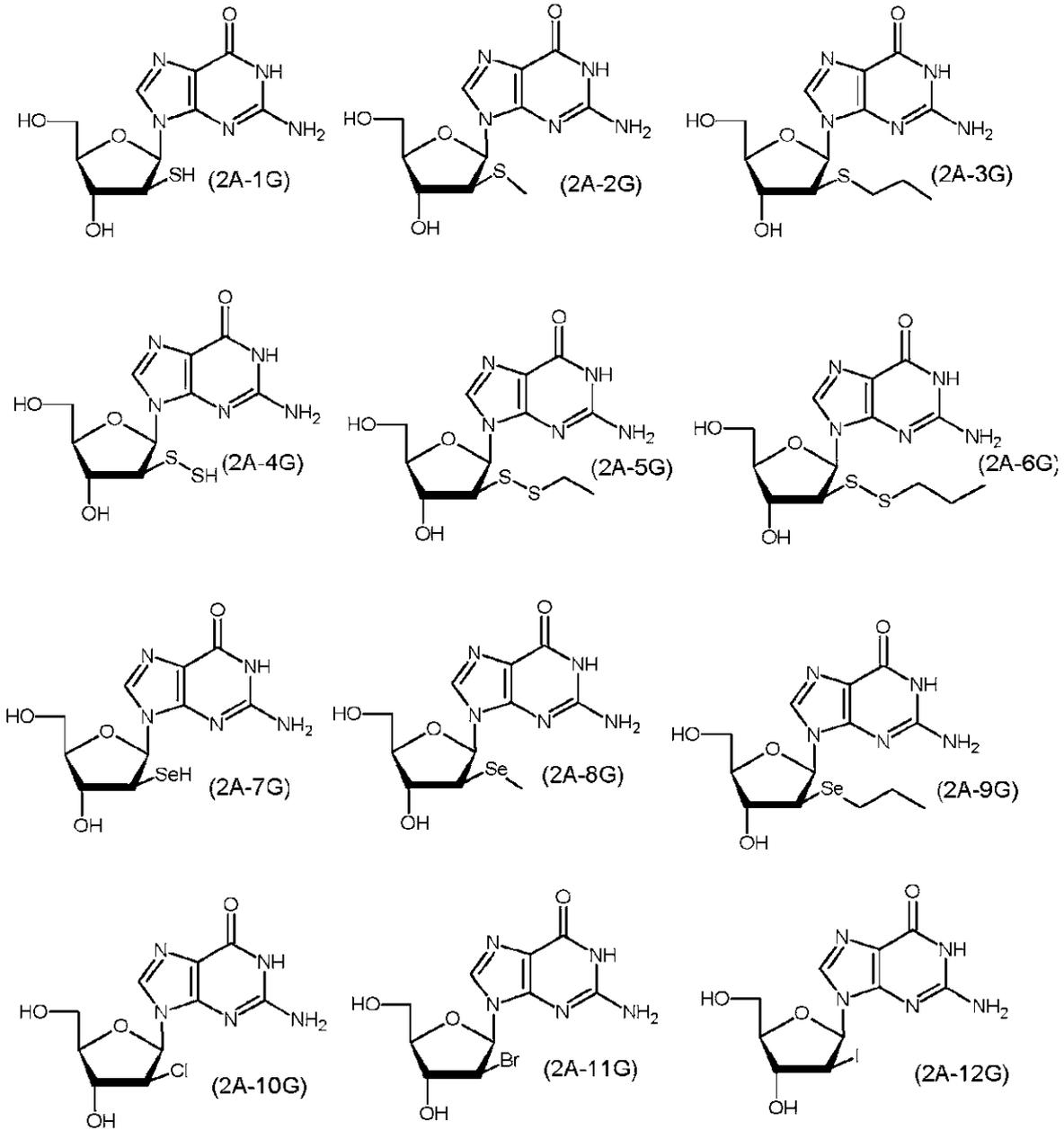
## 【化 1 8】



## 【0045】

塩基がグアニンであるグアノシン誘導体としては、下記式(2A-1G)~(2A-12G)の化合物を例示することができる。

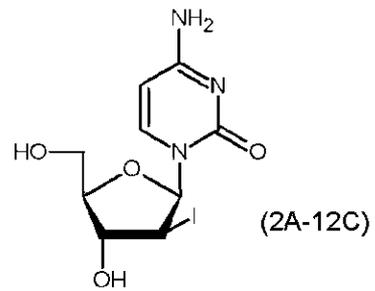
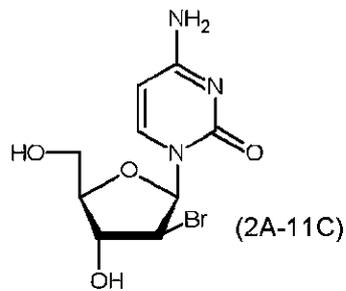
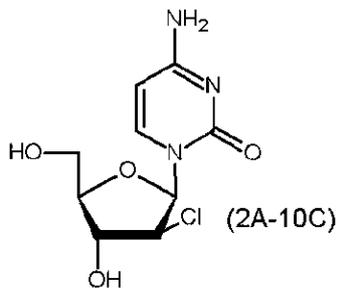
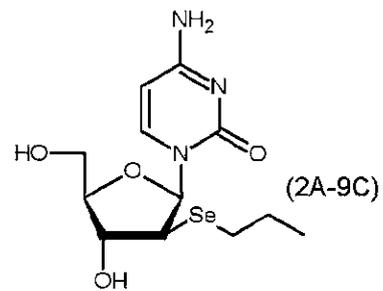
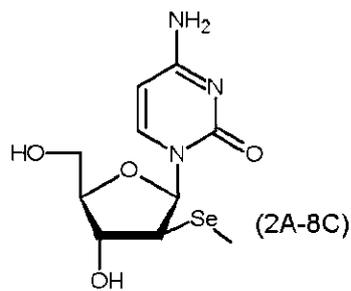
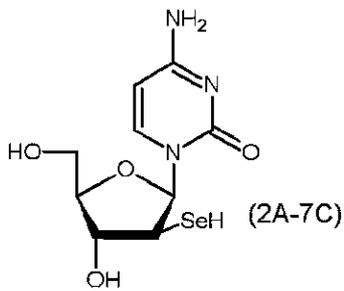
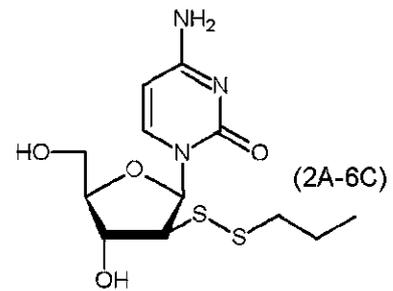
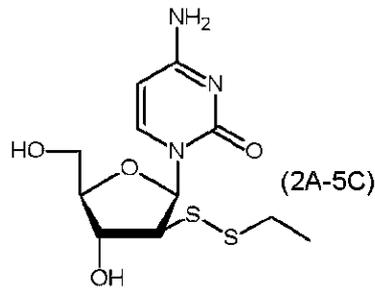
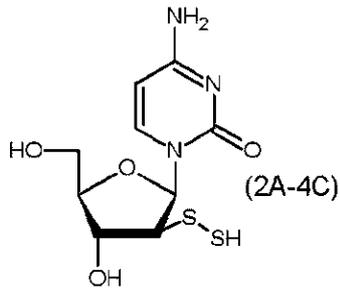
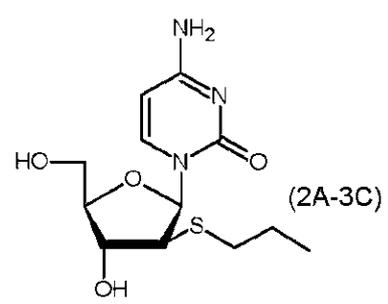
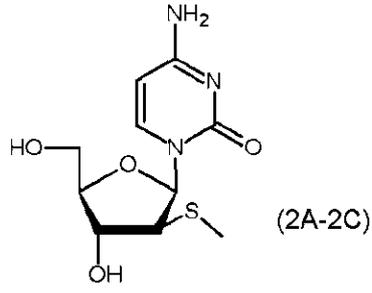
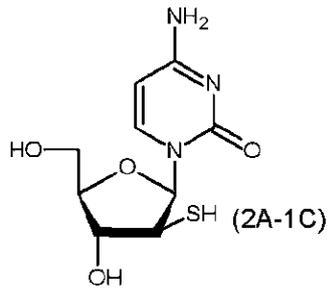
## 【化 19】



## 【0046】

塩基がシトシンであるシチジン誘導体としては、下記式(2A-1C)~(2A-12C)の化合物を例示することができる。

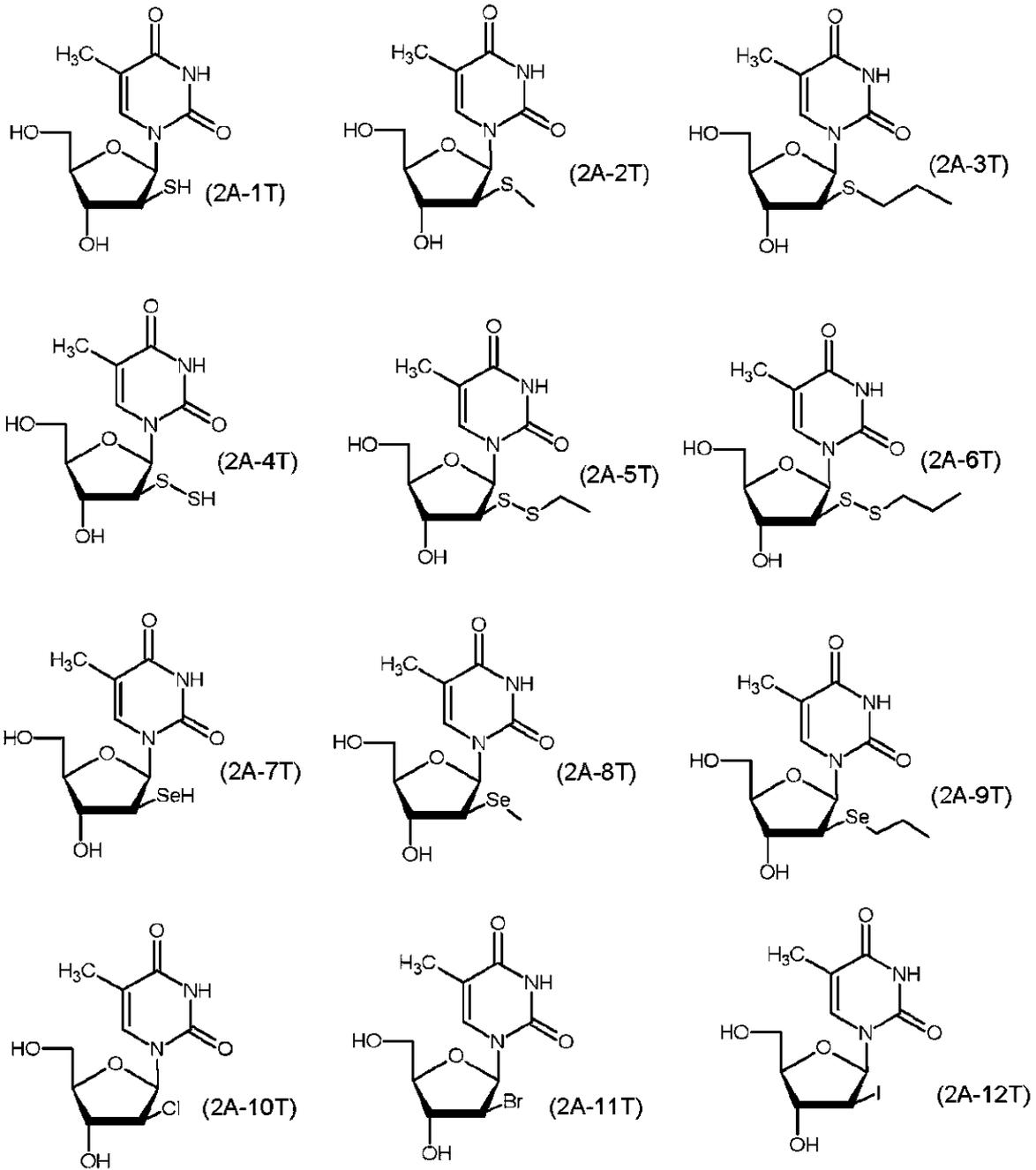
## 【化 2 0】



## 【 0 0 4 7】

塩基がチミンであるチミジン誘導体としては、下記式(2A-1T)~(2A-12T)の化合物を例示することができる。

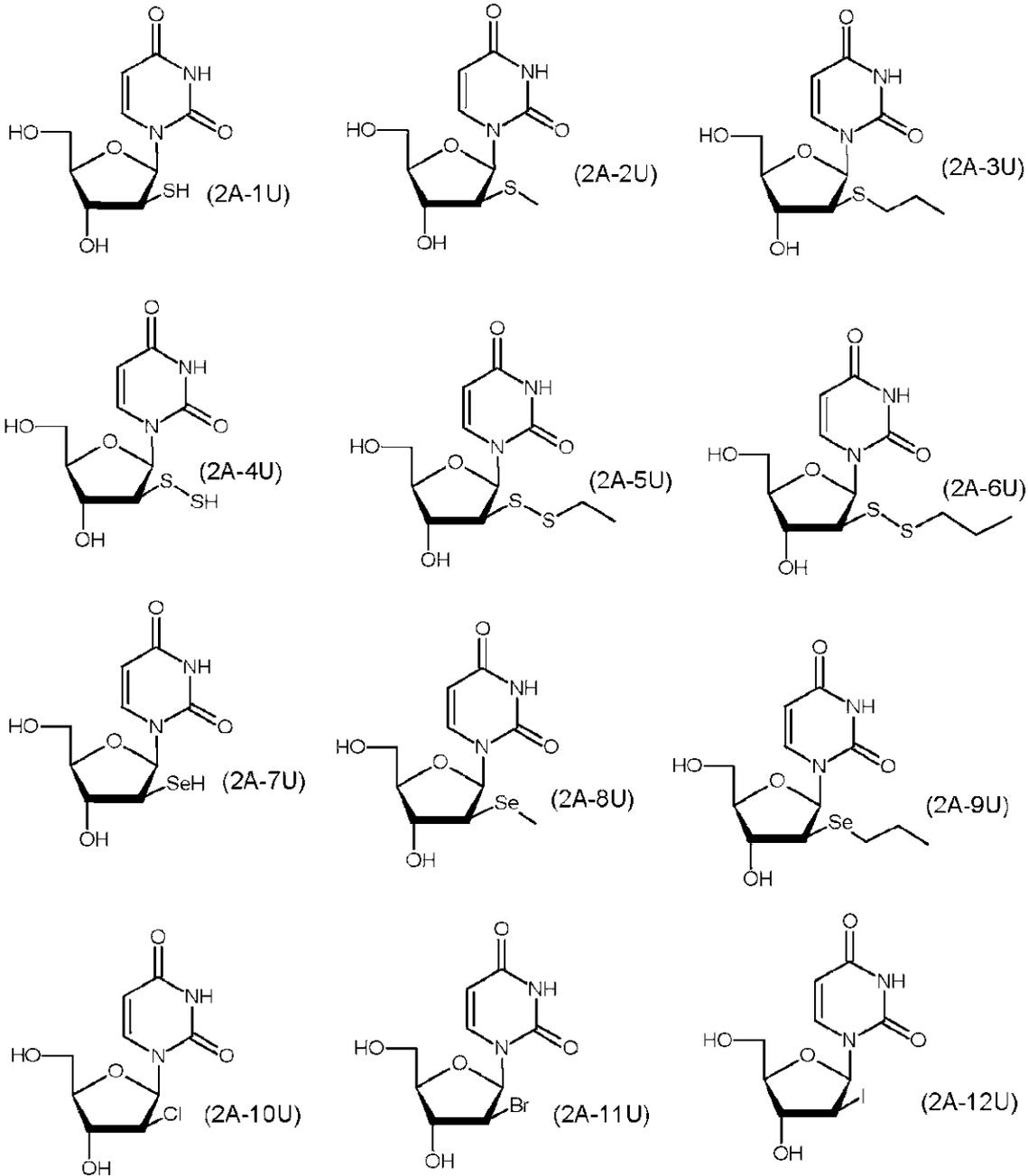
## 【化 2 1】



## 【 0 0 4 8】

塩基がウラシルであるウリジン誘導体としては、下記式(2A-1U)~(2A-12U)の化合物を例示することができる。

## 【化 2 2】



## 【0049】

本発明におけるヌクレオシド誘導体には、ヌクレオチド又はその誘導体（ $L_3$ がモノリン酸基、ジリン酸基、又はトリリン酸基、若しくはこれらの誘導体の場合）も含まれる。ヌクレオチド又はその誘導体としては、 $L_3$ が上記の式2Dの化合物を挙げることができる。ここで、ヌクレオシド誘導体がヌクレオチドである場合、式2Dにおいて、 $Z_1$ がヒドロキシル基、 $Z_2$ が水素の場合に該当する。また、ヌクレオシド誘導体がヌクレオチド誘導体である場合、式2Dにおいて、 $Z_1$ がグリシン、アラニン、バリン、ロイシン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン若しくはプロリンのメチルエステル、エチルエステル、イソプロピルエステル、*n*-ブチルエステル、ベンジルエステル若しくはフェニルエステル、 $Z_2$ が炭素数1~4のアルキル基、ハロゲン、又はフェニル基の場合に該当する。この場合において、 $Z_1$ としては、アラニンイソプロピルエステル、アラニンシクロヘキシルエステル、アラニンネオペンチルエステル、バリンイソプロピルエステル、又はロイシンイソプロピルエステルであることが好ましい。これらのエステル類は、グ

リシン等のアミノ酸由来の窒素を介してリンに結合する。また、 $Z_2$ としては、フェニル基であることが好ましい。

【0050】

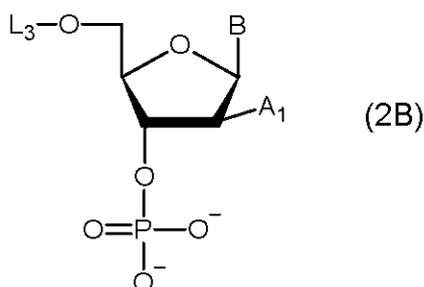
さらに、修飾リン酸化合物前駆体としては、上記式2Aのヌクレオシド誘導体を3'末端に有する核酸を挙げることができる。ここで、核酸としては、デオキシリボ核酸(DNA)、リボ核酸(RNA)のいずれでもよく、また、DNAの場合は二本鎖DNA、一本鎖DNAのいずれでもよい。核酸の構成単位数としては、特に制限はないが、通常は1~100塩基(二本鎖DNAの場合は塩基対)の範囲内であり、1~50塩基(塩基対)の範囲内が好ましく、1~10塩基(塩基対)の範囲内がより好ましい。

【0051】

(2) 修飾リン酸化合物

上記式2Aで示されるヌクレオシド誘導体がリン酸化を受けたあとの修飾リン酸化合物としては、下記式2Bで示される部分構造を有する修飾リン酸化合物を挙げることができる。

【化23】



(ここで、 $A_1$ は $-SR_1$ 、 $-S-S-R_1$ 、 $-SeR_1$ 、又は $-X$ (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、ヨウ素から選択されるハロゲンを意味する)を示し、 $R_1$ は水素、炭素数1~20のアルキル基、炭素数1~20のアリール基、又は炭素数1~20のアルケニル基である。 $L_3$ は水素、又は上記式2Dで示されるモノリン酸基、ジリン酸基、又はトリリン酸基である。 $B$ はアデニン、グアニン、シトシン、チミン、ウラシル、 $N$ -メチルアデニン、 $N$ -ベンゾイルアデニン、2-メチルチオアデニン、2-アミノアデニン、7-メチルグアニン、 $N$ -イソブチリルグアニン、5-フルオロシトシン、5-プロモシトシン、5-メチルシトシン、4- $N$ -メチルシトシン、4- $N,N$ -ジメチルシトシン、5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、5-クロロウラシル、又は5,6-ジヒドロウラシルから選択される塩基である。)

【0052】

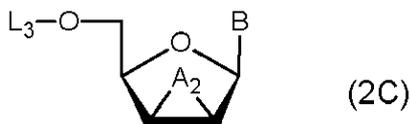
さらに、修飾リン酸化合物としては、上記式2Bのヌクレオシド誘導体を3'末端に有する核酸を挙げることができる。ここで、核酸としては、デオキシリボ核酸(DNA)、リボ核酸(RNA)のいずれでもよく、また、DNAの場合は二本鎖DNA、一本鎖DNAのいずれでもよい。核酸の構成単位数としては、特に制限はないが、通常は1~100塩基(二本鎖DNAの場合は塩基対)の範囲内であり、1~50塩基(塩基対)の範囲内が好ましく、1~10塩基(塩基対)の範囲内がより好ましい。

【0053】

(3) 反応阻害剤及び反応阻害方法

修飾リン酸化合物前駆体が式2Aで示されるヌクレオシド誘導体であり、修飾リン酸化合物が上記式2Bで示されるヌクレオシド誘導体である場合、中間体である活性種として下記式2Cで示される化合物が生成する。

## 【化 2 4】



(ここで、 $A_2$ は  $-S-$ 、 $-S^+(R_1)-$ 、 $-S^+(S-R_1)-$ 、 $-Se^+(R_1)-$ 、又は  $-X^+$  (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、及びヨウ素から選択されるハロゲンを意味する)を示し、 $R_1$ は水素、炭素数1~20のアルキル基、炭素数1~20のアリール基、又は炭素数1~20のアルケニル基である。 $L_3$ は水素、モノリン酸基、ジリン酸基、又はトリリン酸基である。 $B$ はアデニン、グアニン、シトシン、チミン、ウラシル、 $N$ -メチルアデニン、 $N$ -ベンゾイルアデニン、2-メチルチオアデニン、2-アミノアデニン、7-メチルグアニン、 $N$ -イソブチルグアニン、5-フルオロシトシン、5-プロモシトシン、5-メチルシトシン、4- $N$ -メチルシトシン、4- $N,N$ -ジメチルシトシン、5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、5-クロロウラシル、又は5,6-ジヒドロウラシルから選択される塩基である。)

10

## 【0054】

修飾リン酸化合物が式2Aで示されるヌクレオシド誘導体の場合、特にポリメラーゼ反応を効率的に阻害する。ポリメラーゼ反応は、DNAポリメラーゼとRNAポリメラーゼの両方が含まれるが、式2Aのヌクレオシド誘導体は、特にDNAポリメラーゼを好適に阻害することができる。以下、図面を参照して、DNAポリメラーゼ阻害作用について説明する。

20

## 【0055】

図1は、式2Aのヌクレオシド誘導体の一例として、 $A_1$ が  $-SR_1$  (チオアルキル基)の場合におけるDNAポリメラーゼ阻害作用を示す模式図である。生体内(細胞内)にヌクレオシド誘導体を投与すると、キナーゼによってヌクレオシド誘導体の5'ヒドロキシル基がリン酸化され、ヌクレオシド三リン酸誘導体となる。これは、DNAポリメラーゼ反応の基質となり、DNAポリメラーゼによって伸長する一本鎖DNAの3'末端側に結合する。次に、このヌクレオシド誘導体の3'ヒドロキシル基に次のヌクレオシドの5'リン酸基が結合する(図の下段左側)。この状態の反応中間体では、2'のチオアルキル基の求核攻撃によって3'のリン酸基が解離するとともに、2'位の炭素、3'位の炭素、チオアルキル基の硫黄の3つでチラン環が形成される(図の下段中央)。このチラン環は反応性が高く、DNAポリメラーゼを構成する特定のアミノ酸の側鎖と反応して共有結合する(図の下段右側)と推測される。この反応は不可逆的であり、これ以降にポリメラーゼ反応が進行することがない。このように、ヌクレオシド誘導体を用いることで、従来のアシクロビルなどを用いた伸長阻害反応とは異なり、ポリメラーゼに共有結合して反応を阻害するという新規なメカニズムで効率的に反応を阻害することができる。

30

## 【0056】

ポリメラーゼ反応の阻害を行うには、まず、式2Aのヌクレオシド誘導体を標的とする生体試料(細胞、ウイルスなど)に添加する。ヌクレオシド誘導体は、緩衝液など適当な溶媒に溶解して添加する。添加時のヌクレオシド誘導体の濃度は、標的とする反応の特性等に応じて適宜設定することができる。例えば、後述するB型肝炎ウイルスの場合、ヌクレオシド誘導体の濃度は、通常は $1\ \mu\text{M}$ ~ $1\ \text{mM}$ の範囲内であり、 $10\ \mu\text{M}$ ~ $500\ \mu\text{M}$ の範囲内が好ましく、 $50$ ~ $200\ \mu\text{M}$ の範囲内が特に好ましい。反応時間も適宜設定することができるが、例えばB型肝炎ウイルスの場合、通常は1~30日の範囲内であり、5~10日の範囲内がより好ましい。

40

## 【0057】

修飾リン酸化合物前駆体により、リン酸化を伴う反応において、リン酸化より後の反応が阻害される。修飾リン酸化合物前駆体による反応阻害活性は、リン酸化により生成する化合物(ポリメラーゼ反応の場合はDNAやRNA)や、さらには細胞、ウイルスな

ど生体試料そのものを定量することで評価することができる。

【0058】

(4) 医薬

ヌクレオシド誘導体は、ポリメラーゼ阻害剤であり、DNAの複製やRNAの転写反応を阻害するため、細胞やウイルスの増殖などを抑制する。このため、式2Aで示されるヌクレオシド誘導体は、増殖阻害剤であり、ウイルス性疾患や癌などの治療薬として有用である。

【0059】

(5) ヌクレオシド誘導体前駆体の製造方法

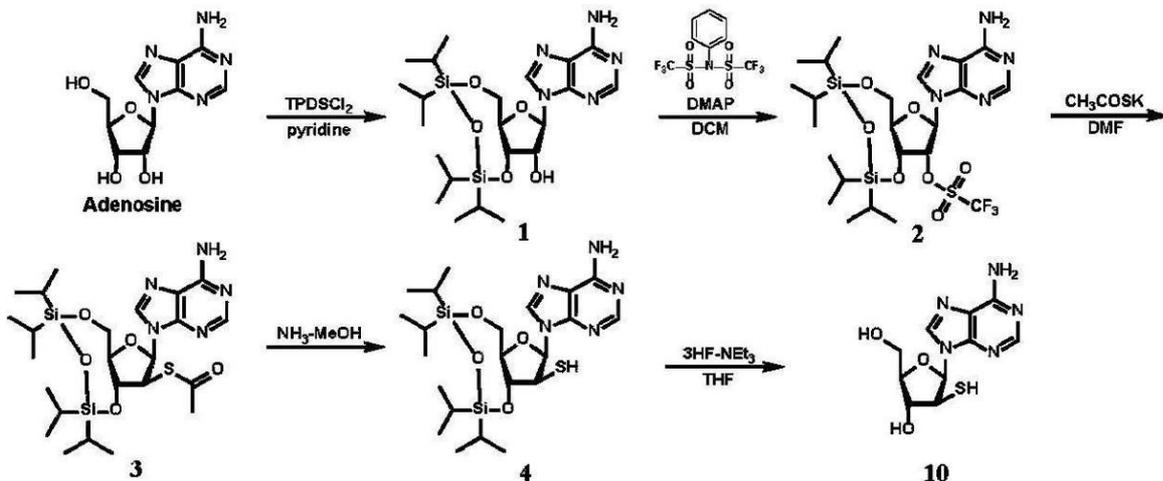
以下、ヌクレオシド誘導体の製造方法について説明する。具体的な反応条件などは、後述する実施例において詳細に説明するため、ここでは、いくつかのヌクレオシド誘導体について、合成方法（製造方法）の概略を説明する。

【0060】

(a) 式(2A-1A)の化合物の合成 ( $A_1$ が-SHの化合物)

下記の合成スキームに沿って説明する。以下で説明する合成スキームにおいて、数字は化合物の番号を表す。まず、ヌクレオシド（下記スキームではアデノシン）を出発物質とし、1,3-ジクロロ-1,1,3,3-テトライソプロピルジシロキサン(TPDSCl<sub>2</sub>)をピリジンなどの溶媒中で反応させる。これにより、リボースの3'ヒドロキシル基と5'ヒドロキシル基との間でシロキサン結合の環状構造を形成させ、3'位と5'位のヒドロキシル基を保護する(化合物1)。次に、N-フェニルトリフルオロメタンスルホンイミドを添加して、N,N-ジメチル-4-アミノピリジン(DMAP)などの求核剤をジクロロメタン(DCM)などの溶媒中で反応させて、リボースの2'位をトリフルオロスルホン酸基とする(化合物2)。次に、N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)などの存在下でチオ酢酸カリウムなどのチオール基を有する化合物を反応させて、リボースの2'位にチオエステルを形成させる(化合物3)。さらにアンモニア/メタノール溶液中で反応させることでチオエステル基をチオール基に変換する(化合物4)。続いて、トリエチルアミン三フッ化水素酸塩(3HF-Et<sub>3</sub>N)とテトラヒドロフラン(THF)とを添加してリボースの3'位と5'位の保護基を脱離させてヒドロキシル基にする。

【化25】



【0061】

(b) 式(2A-6A)の化合物の合成 ( $A_1$ が-S-S-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>の化合物)

化合物4までの合成スキームは上記の式(2A-1A)の化合物の合成の場合と同じである。続いて、テトラヒドロフラン(THF)とアゾジカルボン酸ジイソプロピル(DIAD)の混合溶媒などの溶媒中で1-プロパンチオールなどのチオアルキル化合物と反応させてリボースの2'位をジスルフィドアルキル基に変換する(化合物5)。次に、溶媒中で塩化ベンゾイル(BzCl)と反応させて、塩基のアミノ基をベンゾイル基で保護す

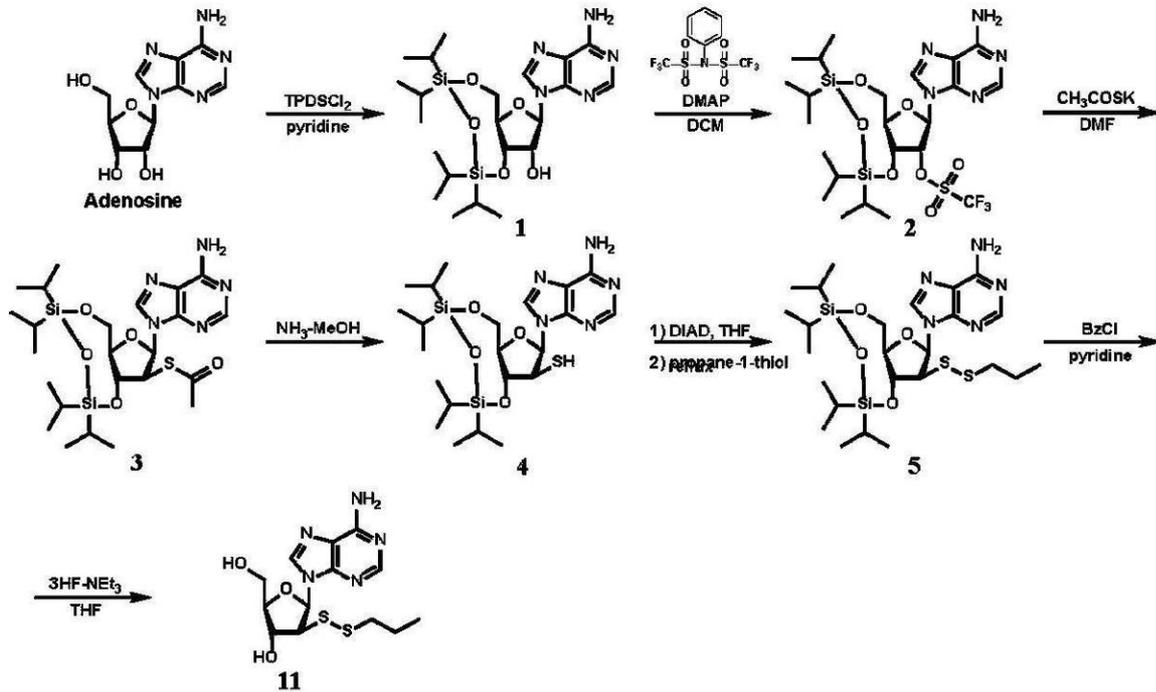
10

20

50

る。続いて、トリエチルアミン三フッ化水素酸塩 ( $3\text{HF} \cdot \text{Et}_3\text{N}$ ) と THF とを添加してリボースの 3' 位と 5' 位の保護基を脱離させてヒドロキシル基にする (化合物 11)。

## 【化 26】



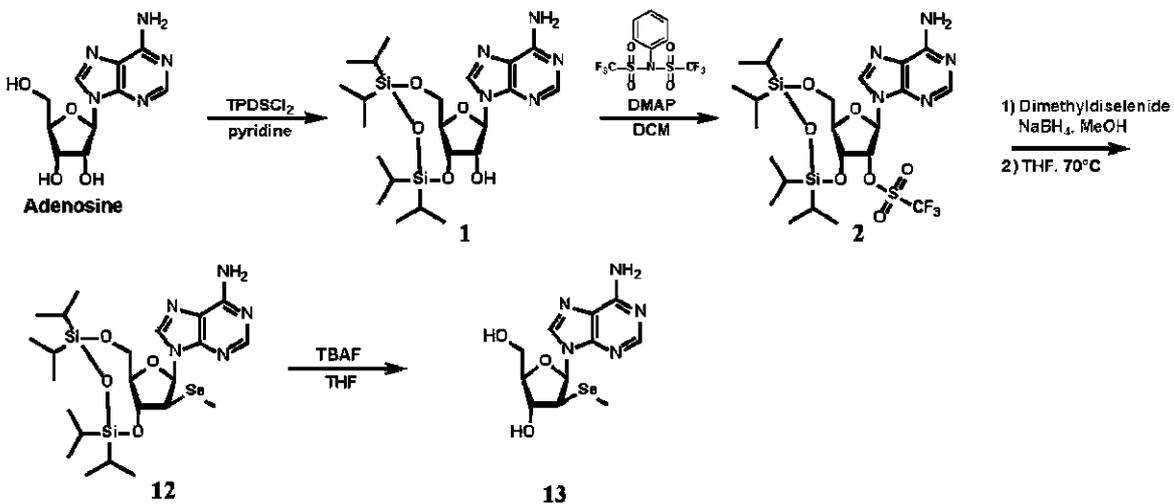
## 【0062】

(c) 式 (2A - 8A) の化合物の合成 ( $A_1$  が  $-\text{Se}-\text{CH}_3$  の化合物)

化合物 2 までの合成スキームは上記の式 (2A - 1A) の化合物の合成の場合と同じである。次に、ジメチルジセレニド、水素化ホウ素ナトリウム、さらには THF 等の溶媒中で反応させる (化合物 12)。さらに、フッ化テトラ-*n*-ブチルアンモニウム (TBAF)、THF などを添加してリボースの 3' 位と 5' 位の保護基を脱離させてヒドロキシル基にする (化合物 13)。

30

## 【化 27】



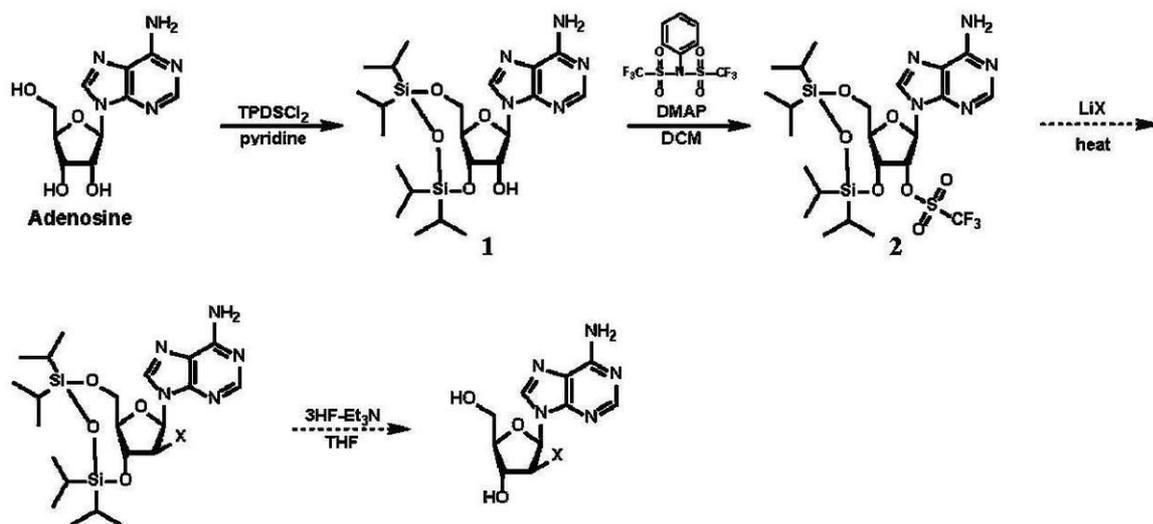
## 【0063】

(d) 式 (2A - 10A) ~ (2A - 12A) の化合物の合成 ( $A_1$  がハロゲンの化合物)

50

次に、ハロゲン化合物の合成スキームについて説明する。化合物 2 までの合成スキームは上記の式 (2A - 1A) の化合物の合成の場合と同じである。次に、ハロゲン化リチウムを添加して加熱してハロゲンを導入する。ハロゲン化リチウムとしては、フッ化リチウム、塩化リチウム、臭化リチウム、ヨウ化リチウムを挙げることができる。続いて、トリエチルアミン三フッ化水素酸塩 (3HF-Et<sub>3</sub>N) と THF とを添加してリポースの 3' 位と 5' 位の保護基を脱離させてヒドロキシル基にする。

【化 28】



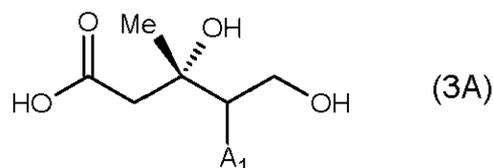
【0064】

### 3. メバロン酸誘導体

#### (1) 修飾リン酸化合物前駆体

修飾リン酸化合物前駆体としては、下記式 3A で示されるメバロン酸誘導体を挙げることができる。

【化 29】



(ここで、A<sub>1</sub>は -SR<sub>1</sub>、-S-S-R<sub>1</sub>、-SeR<sub>1</sub>、又は -X (ここで、Xはフッ素、塩素、臭素、ヨウ素から選択されるハロゲンを意味する) を示し、R<sub>1</sub>は水素、炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、又は炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基である。)

【0065】

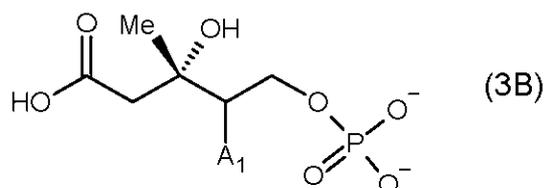
特に、A<sub>1</sub>が -SH、-SCH<sub>3</sub>、-S-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、-S-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>、-S-SH、-S-S-CH<sub>3</sub>、-S-S-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、-S-S-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>などの化合物が好ましい。

【0066】

#### (2) 修飾リン酸化合物

また、上記式 3A で示されるメバロン酸誘導体がリン酸化を受けたあとの修飾リン酸化合物としては、下記式 3B で示される部分構造を有する修飾リン酸化合物を挙げることができる。

## 【化 3 0】



(ここで、 $A_1$ は  $-SR_1$ 、 $-S-S-R_1$ 、 $-SeR_1$ 、又は  $-X$  (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、ヨウ素から選択されるハロゲン) を示し、 $R_1$ は水素、炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、又は炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基である。)

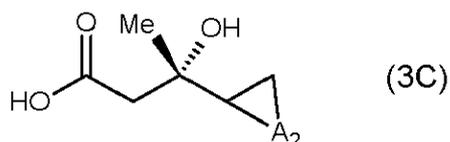
10

## 【0067】

(3) 反応阻害剤及び反応阻害方法

特に、修飾リン酸化合物前駆体が式 3 A で示されるメバロン酸誘導体であり、修飾リン酸化合物が上記式 3 B で示されるメバロン酸誘導体である場合、中間体である活性種として下記式 3 C で示される化合物が生成する。

## 【化 3 1】



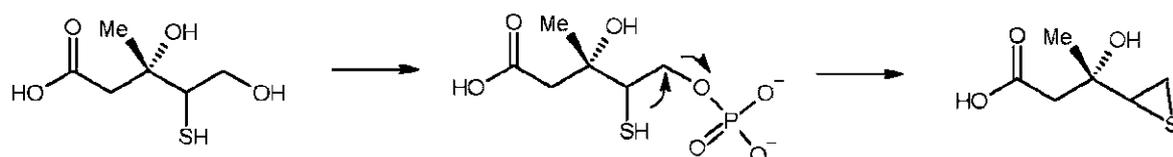
(ここで、 $A_2$ は  $-S-$ 、 $-S^+(R_1)-$ 、 $-S^+(S-R_1)-$ 、 $-Se^+(R_1)-$ 、又は  $-X^+$  (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、及びヨウ素から選択されるハロゲン) を示し、 $R_1$ は水素、炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、又は炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基である。)

## 【0068】

以下、3 A で示されるメバロン酸誘導体の活性種生成反応について具体例 ( $A_1$ が  $-SH$  の化合物) を示して説明する。下記式に示されるメバロン酸誘導体は、リン酸化により  $A_1$  の硫黄が骨格の炭素-炭素結合とチラン環を形成する。この環構造は非常に不安定であり、他の化合物と容易に共有結合する性質を有している

30

## 【化 3 2】



## 【0069】

修飾リン酸化合物が式 3 A で示されるメバロン酸誘導体の場合、特にメバロン酸キナーゼや 5 - ホスホメバロン酸キナーゼを効率的に阻害する。メバロン酸は、テルペンを合成するメバロン酸経路に関与する物質であり、メバロン酸キナーゼによってメバロン酸と ATP から 5 - ホスホメバロン酸が生成し、さらに 5 - ホスホメバロン酸キナーゼによって 5 - ホスホメバロン酸と ATP から 5 - ジホスホメバロン酸が生成する。式 3 A で示されるメバロン酸誘導体は、このメバロン酸のアナログとしてメバロン酸経路の効率的な反応阻害剤となる。すなわち、式 3 A で示されるメバロン酸誘導体がリン酸化されて式 3 B の化合物を経て式 3 C の活性種が生成し、これがメバロン酸キナーゼや 5 - ホスホメバロン酸キナーゼなどに共有結合することで、リン酸化後の反応を阻害すると推測される。

40

## 【0070】

50

## (4) 医薬

式3Aで示されるメバロン酸誘導体は、メバロン酸経路を阻害するため、コレステロールの生成を抑制する。このため、式3Aで示されるメバロン酸誘導体は、コレステロール生成阻害剤であり、高脂血症や高コレステロール血症などの治療薬として有用である。

## 【0071】

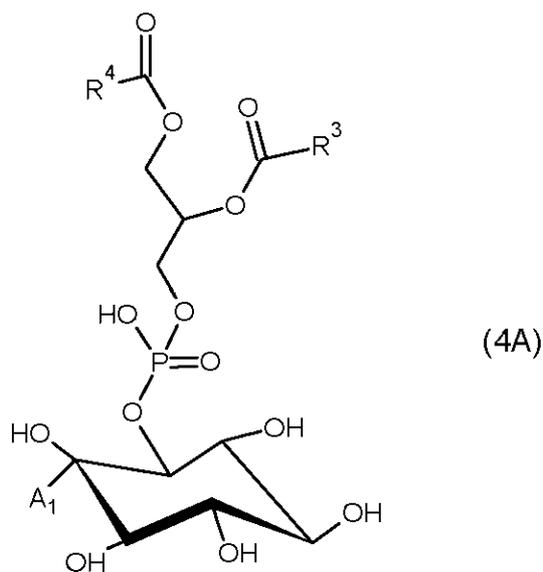
## 4. ホスファチジルイノシトール誘導体

## (1) 修飾リン酸化合物前駆体

修飾リン酸化合物前駆体としては、下記式4Aで示されるホスファチジルイノシトール誘導体を挙げることができる。

## 【化33】

10



(ここで、 $A_1$ は  $-SR_1$ 、 $-S-S-R_1$ 、 $-SeR_1$ 、又は  $-X$  (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、ヨウ素から選択されるハロゲンを意味する)を示し、 $R_1$ は水素、炭素数1~20のアルキル基、炭素数1~20のアリール基、又は炭素数1~20のアルケニル基である。 $R_3$ はアラキドン酸、リノール酸、及びリノレン酸から選択される不飽和脂肪酸であり、 $R_4$ はステアリン酸、パルミチン酸から選択される飽和脂肪酸である。)

30

## 【0072】

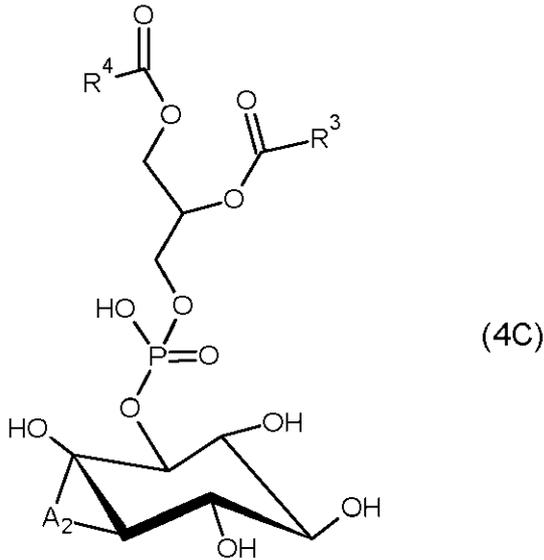
特に、 $A_1$ が  $-SH$ 、 $-SCH_3$ 、 $-SC_2H_5$ 、 $-SC_3H_7$ 、 $-SSH$ 、 $-S-S-CH_3$ 、 $-S-S-C_2H_5$ 、 $-S-S-C_3H_7$ などの化合物が好ましい。

## 【0073】

## (3) 反応阻害剤及び反応阻害方法

特に、修飾リン酸化合物前駆体が式4Aで示されるホスファチジルイノシトール誘導体であり、修飾リン酸化合物が上記式4Bで示されるホスファチジルイノシトール誘導体である場合、中間体である活性種として下記式4Cで示される化合物が生成する。

## 【化 3 4】



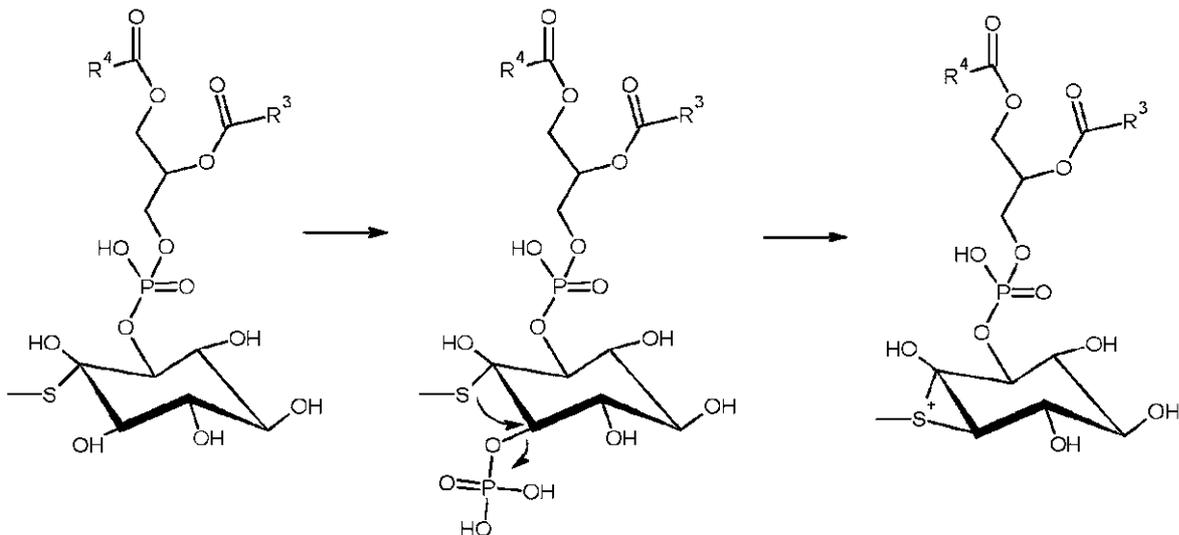
(ここで、 $A_2$ は  $-S-$ 、 $-S^+(R_1)-$ 、 $-S^+(S-R_1)-$ 、 $-Se^+(R_1)-$ 、又は  $-X^+$  (ここで、 $X$ はフッ素、塩素、臭素、及びヨウ素から選択されるハロゲンの意味する) を示し、 $R_1$ は水素、炭素数 1 ~ 20 のアルキル基、炭素数 1 ~ 20 のアリール基、又は炭素数 1 ~ 20 のアルケニル基である。 $R_3$ はアラキドン酸、リノール酸、及びリノレン酸から選択される不飽和脂肪酸であり、 $R_4$ はステアリン酸、パルミチン酸から選択される飽和脂肪酸である。)

20

## 【0074】

以下、4Aで示されるホスファチジルイノシトールの活性種生成反応について具体例 ( $A_1$ が  $-SCH_3$  の化合物) を示して説明する。下記式に示されるホスファチジルイノシトールは、リン酸化により  $A_1$  の硫黄がイノシトール骨格の炭素-炭素結合と環構造を形成する。この環構造の硫黄はプラスの電荷を有している。この環構造も非常に不安定であり、他の化合物と容易に共有結合する性質を有している

## 【化 3 5】



30

## 【0075】

修飾リン酸化合物が式 4A で示されるホスファチジルイノシトールの場合、特にホスホイノシチド - 3 - キナーゼ (PI3K) の反応を効率的に阻害する。PI3K は、イノシトールリン脂質をリン酸化することにより、ホスファチジルイノシトール 3, 4, 5 - 三リン酸を生成する。これらの化合物は、PI3K/Akt 経路に關与する物質であり、

50

Aktはがん遺伝子産物でもある。式4Aで示されるホスファチジルイノシトールがリン酸化されて式4Bの化合物を経て式4Cの活性種が生成し、これがPI3Kに共有結合することで反応を阻害すると推測される。

【0076】

(4) 医薬

式4Aで示されるホスファチジルイノシトールは、PI3K活性阻害剤であり、癌、悪性リンパ腫、白血病、リウマチなどの治療薬として有用である。

【0077】

(5) ホスファチジルイノシトールの製造方法

式4Aで示されるホスファチジルイノシトールの製造方法は、式2Aで示されるヌクレオシド誘導体と同様の方法で製造することができる。すなわち、式4Aのホスファチジルイノシトールは、以下の手順で合成することができる。まず、シロキサン類を保護基としてイノシトールの2'以外のヒドロキシル基を保護する。次に、2'位にトリフルオロスルホン酸基を導入したのち、チオエステルからチオール基に変換する。最後に保護基をイノシトールから脱離させる。

【実施例】

【0078】

以下、本発明を実施例に基づいて具体的に説明するが、これらは本発明の目的を限定するものではない。また、以下の実施例において「%」表示は特に規定しない限り質量基準（質量パーセント）である。

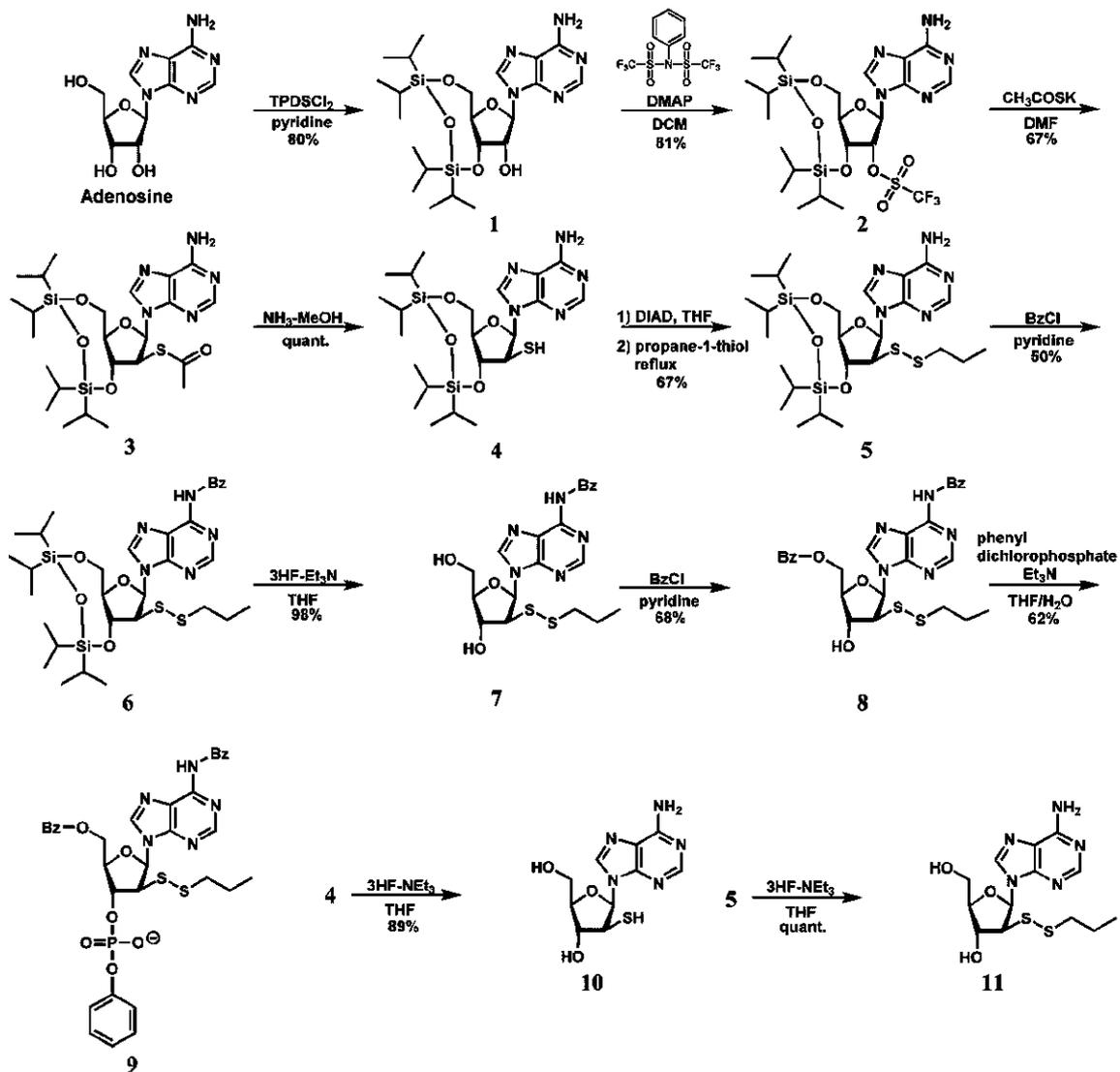
【0079】

以下の実施例におけるヌクレオシド誘導体の合成スキームの全体を下記に示す。以下、この合成スキームに沿ってヌクレオシド誘導体の合成方法を説明する（なお、合成スキーム中の番号は化合物の番号と一致している）。また、「%」の数字は収率を意味する。

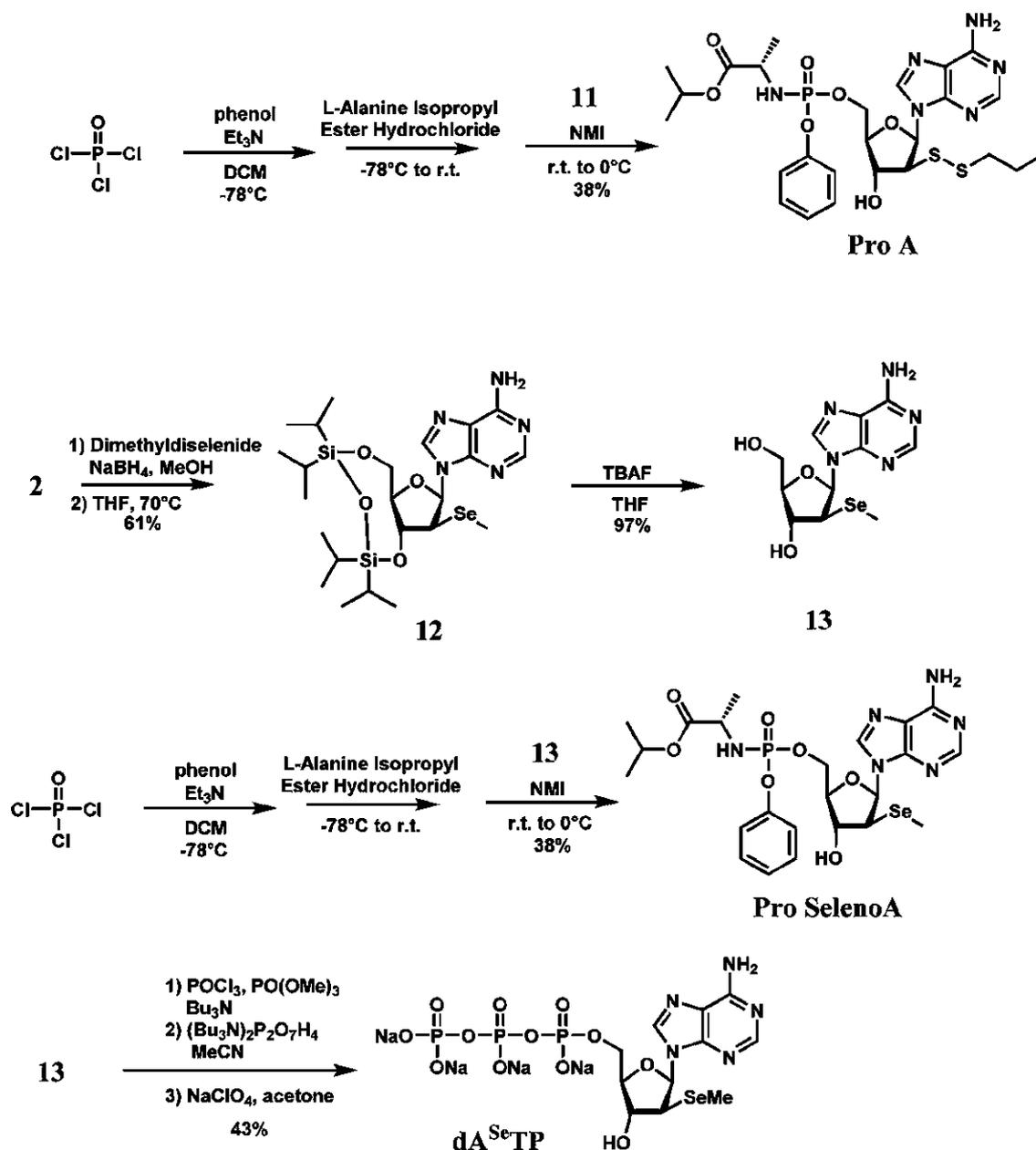
10

20

## 【化 3 6】



【化 3 7】



【 0 0 8 0 】

1.ヌクレオシド誘導体の合成

(1)化合物1の合成

アルゴン (Ar) 雰囲気下で、pyridine (65 mL) に adenosine (3.01 g, 10.1 mmol, 1.0 eq.) を溶かし、TPDSCl<sub>2</sub> (3.2 mL, 10.1 mmol, 1.0 eq.) を加え、室温で46時間攪拌した。減圧下で溶媒を留去し、酢酸エチルと水 (0.1 M HCl aq., H<sub>2</sub>O, sat. NaHCO<sub>3</sub> aq., brine) で分液した。無水硫酸ナトリウムを加えて乾燥した後、綿栓ろ過し、減圧下で溶媒を留去した。中性フラッシュカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub> (MeOH 0-4%)) にて精製し、化合物1 (4.14 g, 80%) を得た。得られた化合物の<sup>1</sup>H-NMR情報は以下のとおりである。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.06 - 1.13 (m, 28H), 3.31 (s, 1H), 4.01 - 4.16 (m, 3H), 4.56 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.07 - 5.11 (m, 1H), 5.79 (s, 2H), 5.97 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 8.28 (s, 1H).

## 【0081】

## (2) 化合物2の合成

Ar 雰囲気下、氷冷下で化合物1 (1.00 g, 1.83 mmol, 1.0 eq.) と DMAP (650 mg, 5.5 mmol, 3 eq.) を脱水DCM (17 mL) に溶かし、N-Phenyltrifluoromethanesulfonimide (803 mg, 2.2 mmol, 1.2 eq.) を加えて2時間攪拌した。氷冷したジクロロメタンと水 (0.1 M AcOH aq., sat. NaHCO<sub>3</sub> aq., brine) で分液した。無水硫酸ナトリウムを加えて乾燥した後、綿栓ろ過し、減圧下で溶媒を留去した。中性フラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル = 1/1) で精製し、化合物2 (946 mg, 81%) を得た。得られた化合物の<sup>1</sup>H-NMR情報は以下のとおりである。

10

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.06 - 1.11 (m, 28 H), 4.02 - 4.20 (m, 3 H), 5.26 - 5.29 (m, 1 H), 5.72 (s, 2 H), 5.78 (d, J = 4.8 Hz, 1 H), 6.10 (s, 1 H), 7.96 (s, 1 H), 8.26 (s, 1 H).

## 【0082】

## (3) 化合物3の合成

Ar 雰囲気下で化合物2 (2.80 g, 4.36 mmol, 1.0 eq.) 及び、脱水アセトニトリルで共沸したチオ酢酸カリウム (1.06 g, 9.28 mmol, 2.1 eq.) を脱水DMF (9 mL) に溶かし、14.5時間攪拌した。減圧下で溶媒を留去し、ヘキサン/酢酸エチル = 1/5 混合溶媒と水 (sat. NaHCO<sub>3</sub> aq., brine) で分液した。無水硫酸ナトリウムを加えて乾燥した後、綿栓ろ過し、減圧下で溶媒を留去した。中性フラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル = 2/3) で精製し、化合物3 (1.72 g, 67%) を得た。得られた化合物の<sup>1</sup>H-NMR情報は以下のとおりである。

20

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.01 - 1.18 (m, 28 H), 2.15 (s, 3 H), 3.97 - 4.03 (m, 2 H), 4.23 - 4.27 (m, 1 H), 4.54 - 4.58 (m, 1 H), 5.01 - 5.06 (m, 1 H), 6.12 (s, 1 H), 6.40 (d, J = 7.6 Hz, 1 H), 7.90 (s, 1 H), 8.23 (s, 1 H).

30

## 【0083】

## (4) 化合物4の合成

Ar 雰囲気下、氷冷下で化合物3 (1.42 g, 2.50 mmol) を7 M NH<sub>3</sub>-MeOH (25 mL) に溶かし1時間攪拌した。減圧下で溶媒を留去し、酢酸エチルと水 (sat. NaHCO<sub>3</sub> aq., brine) で分液した。無水硫酸ナトリウムを加えて乾燥した後、綿栓ろ過し、減圧下で溶媒を留去し、化合物4 (1.75 g, quant.) を得た。得られた化合物の<sup>1</sup>H-NMR情報は以下のとおりである。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.00 - 1.18 (m, 28 H), 1.44 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 3.81 - 3.91 (m, 2 H), 4.03 - 4.07 (m, 1 H), 4.20 - 4.24 (m, 1 H), 4.58 - 4.63 (m, 1 H), 5.76 (s, 1 H), 6.40 (d, J = 7.6 Hz, 1 H), 8.11 (s, 1 H), 8.33 (s, 1 H).

40

## 【0084】

## (5) 化合物5の合成

化合物4 (304 mg, 0.571 mmol, 1.0 eq.) をTHF (1.9 mL, 0.3 M to 化合物4) に溶かし、DIAD (124 µL, 0.628 mmol, 1.1 eq.) を加えて18時間攪拌した。1-propanethiol (3.1 mL, 33.7 mmol, 59 eq.) を加え、80 に加熱して29時間攪拌し、室温まで放冷した。減圧下で溶媒を留去し、中性フラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル = 1/1) で精製し、化合物5 (230 mg, 67%) を得た。得られた化合

50

物の<sup>1</sup>H-NMR情報は以下のとおりである。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 0.88 - 0.92 (m, 3H), 1.06 - 1.17 (m, 28H), 1.53 - 1.58 (m, 2H), 2.53 (t, J = 14.4 Hz, 2H), 3.88 - 3.94 (m, 2H), 4.01 - 4.05 (m, 1H), 4.15 - 4.20 (m, 1H), 4.74 (t, J = 9.2 Hz, 1H), 5.68 (s, 1H), 6.49 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 8.32 (s, 1H).

【0085】

(6) 化合物6の合成

Ar 雰囲気下、氷冷下で化合物5 (314 mg, 0.523 mmol, 1.0 eq.) を pyridine (2.1 mL, 0.25 M to 化合物5) に溶かし、そこに BzCl (91 μL, 0.785 mmol, 1.5 eq.) を加えて3時間30分撹拌した。BzCl (60 μL, 0.523 mmol, 1.0 eq.) を加え、さらに1時間撹拌した。BzCl (30 μL, 0.262 mmol, 0.5 eq.) を加え、さらに40分撹拌した。BzCl (60 μL, 0.523 mmol, 1.0 eq.) を加え、さらに40分撹拌した。4 mLの水を加え、5分撹拌した後、28%アンモニア水溶液を8 mL加えて15分撹拌した。酢酸エチルと水 (sat. NaHCO<sub>3</sub> aq., brine) で分液した。無水硫酸ナトリウムを加えて乾燥した後、綿栓ろ過し、減圧下で溶媒を留去した。中性フラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル = 1/1) で精製し、化合物6 (183 mg, 50%) を得た。得られた化合物の<sup>1</sup>H-NMR情報は以下のとおりである。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 0.88 - 0.92 (m, 3H), 1.01 - 1.18 (m, 28H), 1.55 - 1.61 (m, 2H), 2.57 (t, J = 15.2 Hz, 2H), 3.91 - 3.97 (m, 2H), 4.03 - 4.07 (m, 1H), 4.18 - 4.22 (m, 1H), 4.74 (t, J = 9.2 Hz, 1H), 6.57 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.52 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 7.61 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 8.02 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 9.08 (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 12.5, 12.9, 13.0, 13.1, 13.6, 17.1, 17.4, 17.5, 22.1, 41.3, 61.7, 63.3, 73.9, 83.9, 84.8, 123.0, 127.9, 128.9, 132.8, 133.9, 142.0, 149.6, 151.6, 152.6, 164.7; HRMS (ESI<sup>+</sup>) calc. m/z 704.28 (M+H<sup>+</sup>), 726.26 (M+Na<sup>+</sup>), found m/z 704.2821 (M+H<sup>+</sup>), 726.2623 (M+Na<sup>+</sup>).

【0086】

(7) 化合物7の合成

Ar 雰囲気下で、化合物6 (241 mg, 0.342 mmol, 1.0 eq.) を THF (3.4 mL) に溶かし、3 HF-Et<sub>3</sub>N (139 μL, 0.855 mmol, 2.5 eq.) を加えて2時間20分撹拌した。減圧下で溶媒を留去し、中性フラッシュカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub> (MeOH 0-5%)) で分離し、化合物7 (154 mg, 98%) を得た。得られた化合物の<sup>1</sup>H-NMR情報は以下のとおりである。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>SOCD<sub>3</sub>): 0.78 - 0.81 (m, 3H), 1.40 - 1.45 (m, 2H), 2.49 - 2.55 (m, 2H), 3.66 - 3.77 (m, 2H), 3.82 - 3.84 (m, 1H), 3.96 - 3.99 (m, 1H), 4.41 - 4.45 (m, 1H), 5.14 (t, J = 3.6 Hz, 1H), 5.92 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 6.66 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 7.55 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.64 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 8.03 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 11.21 (br, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 13.1, 22.9, 41.9, 61.2, 63.2, 72.8, 86.0, 86.4, 124.6, 129.4

, 129.7, 133.8, 134.9, 144.8, 151.0, 153.1, 153.3, 168.0; HRMS (ESI<sup>+</sup>) calc. m/z 462.13 (M+H<sup>+</sup>), 484.11 (M+Na<sup>+</sup>), found m/z 462.1288 (M+H<sup>+</sup>), 484.1121 (M+Na<sup>+</sup>).

【0087】

(8) 化合物8の合成

アルゴン雰囲気下、0 にてSM (154 mg, 0.344 mmol, 1.0 eq.) を pyridine (3.4 ml, 0.1 M to 化合物7) に溶かし、攪拌しながら、BzCl (46 μl, 0.401 mmol, 1.2 eq.) を加えた。TLCにて反応を追跡しながら、攪拌開始から2 h, 4 h, 7 h, 10 h後にそれぞれBzClを0.6 eq., 0.6 eq., 1.2 eq., 1.2 eq. ずつ加えて、反応開始から11 h後にMeOH (5 ml) を加えて10 min攪拌した。溶媒を減圧留去した後、EtOAc-水 (sat. NaHCO<sub>3</sub> aq., brine) にて分液を行った。芒硝乾燥したのち溶媒留去を行い、中性フラッシュカラム (H/A = 1/1) にて精製して化合物8 (133 mg, 68%) を得た。得られた化合物の<sup>1</sup>H-NMR情報は以下のとおりである。

10

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 0.738 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.38 (m, 2H), 2.42 (m, 2H), 3.96 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 4.30 (m, 1H), 4.70 - 4.72 (m, 2H), 4.82 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 5.44 (brs, 1H), 6.59 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.37 - 7.50 (m, 6H), 7.97 - 8.00 (m, 4H), 8.15 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 9.51 (brs, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 12.8, 14.2, 21.1, 21.9, 41.1, 60.5, 61.3, 63.8, 74.4, 82.3, 85.5, 122.7, 128.0, 128.5, 128.8, 129.4, 129.7, 129.8, 132.8, 133.4, 133.6, 142.2, 149.5, 151.3, 152.6, 165.0, 166.5, 171.3; HRMS (ESI<sup>+</sup>) calc. m/z 566.15 (M+H<sup>+</sup>), 588.14 (M+Na<sup>+</sup>), 604.11 (M+K<sup>+</sup>), found m/z 544.1461 (M+H<sup>+</sup>), 588.1327 (M+Na<sup>+</sup>), 604.1017 (M+K<sup>+</sup>).

20

30

【0088】

(9) 化合物9 (修飾リン酸化合物) の合成

Ar 雰囲気下、0 にてphenylphosphorodichloride (9 μl, 0.06 mmol, 1.5 eq. in 150 μl THF)、脱水TEA (28 μl, 0.2 mmol, 5.0 eq. in 150 μl THF)、化合物8 (23 mg, 0.04 mmol, 1.0 eq. in 200 μl THF and 28 μl TEA) を加え、1.5 h攪拌した後、反応系を室温に戻し、2.5 h攪拌した。その後MQを150 μl加え、overnight攪拌した後、HPLCにて精製した。反応収率はHPLCで計算し62%であった。HRMS (ESI) calc. m/z 720.14 (M), found m/z 719.7807 (M), HRMS (ESI<sup>+</sup>) calc. m/z 722.15 (M+H<sup>+</sup>), found m/z 722.1443 (M + H<sup>+</sup>).

40

【0089】

(10) 化合物10 (修飾リン酸化合物前駆体A-1) の合成

Ar 雰囲気下で、化合物4 (549 mg, 1.04 mmol, 1.0 eq.) をTHF (10 mL) に溶かし、3HF-Et<sub>3</sub>N (424 μL, 2.6 mmol, 2.5 eq.) を加えて2時間40分攪拌した。減圧下で溶媒を留去し、DCMで吸引ろ過、洗浄し、化合物10 (266 mg, 89%) を得た。得られた化合物の<sup>1</sup>H-NMR情報は以下のとおりである。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>SOCD<sub>3</sub>): 3.31 - 3.39 (m, 2H), 3.73 - 3.76 (m, 4H), 4.24 - 4.29 (m, 1H), 5.78 (d,

50

$J = 6.0 \text{ Hz}$  ,  $1 \text{ H}$  ) ,  $6.36 \text{ (d, } J = 7.6 \text{ Hz, } 1 \text{ H)}$  ,  $7.29 \text{ (s, } 2 \text{ H)}$  ) ,  $8.12 \text{ (s, } 1 \text{ H)}$  ,  $8.30 \text{ (s, } 1 \text{ H)}$  .

【0090】

(11) 化合物11 ( 修飾リン酸化合物前駆体A-2 ) の合成

Ar 雰囲気下で、化合物5 (  $553 \text{ mg}$  ,  $0.920 \text{ mmol}$  ,  $1.0 \text{ eq.}$  ) を THF (  $9.2 \text{ mL}$  ) に溶かし、 $3 \text{ HF} \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (  $375 \mu\text{L}$  ,  $2.30 \text{ mmol}$  ,  $2.5 \text{ eq.}$  ) を加えて2時間攪拌した。減圧下で溶媒を留去し、中性フラッシュカラムクロマトグラフィー (  $\text{CHCl}_3$  (  $\text{MeOH } 0-5\%$  ) ) で分離し、化合物11 (  $337 \text{ mg}$  , *quant.* ) を得た。得られた化合物の $^1\text{H-NMR}$ 情報は以下のとおりである。

$^1\text{H-NMR}$  (  $400 \text{ MHz}$  ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  ) :  $0.74-0.78 \text{ (m, } 3 \text{ H)}$  ,  $1.36-1.43 \text{ (m, } 2 \text{ H)}$  ,  $2.44-2.47 \text{ (m, } 2 \text{ H)}$  ,  $3.84-3.91 \text{ (m, } 4 \text{ H)}$  ,  $4.51 \text{ (t, } J = 8.8 \text{ Hz, } 1 \text{ H)}$  ,  $6.54 \text{ (d, } J = 7.2 \text{ Hz, } 1 \text{ H)}$  ,  $8.16 \text{ (s, } 1 \text{ H)}$  ,  $8.32 \text{ (s, } 1 \text{ H)}$  .

10

【0091】

(12) Pro A の合成

78 で、無水DCM (  $4.2 \text{ mL}$  ) 中の塩化ホスホリル (  $130 \mu\text{L}$  ,  $1.4 \text{ mmol}$  ,  $1.0 \text{ eq.}$  ) の溶液に、フェノール (  $132 \text{ mg}$  ,  $1.4 \text{ mmol}$  ,  $1.0 \text{ eq.}$  ) 及びトリエチルアミン (  $132 \text{ mg}$  ) の溶液を加えた。無水DCM (  $1.4 \text{ mL}$  ) 中の  $195 \mu\text{L}$  ,  $1.4 \text{ mmol}$  ,  $1.0 \text{ eq.}$  ) を滴下した。同じ温度で3時間攪拌した後、反応混合物をL-アラニンイソプロピルエステル塩酸塩 (  $235 \text{ mg}$  ,  $1.4 \text{ mmol}$  ,  $1.0 \text{ eq.}$  ) で一度に処理し、続いてトリエチルアミン (  $390 \mu\text{L}$  ,  $2.8 \text{ mmol}$  ,  $2.0 \text{ eq.}$  ) を滴下した。それを78 でさらに1時間攪拌し、次いで1時間かけて室温まで温めた。0 に冷却した後、上記混合物を、無水DCM (  $1.4 \text{ mL}$  ) 中の化合物11 (  $94.2 \text{ mg}$  ,  $0.280 \text{ mmol}$  ,  $0.2$  当量 ) 及びNMI (  $111 \mu\text{L}$  ,  $1.4 \text{ mmol}$  ,  $1.0$  当量 ) の溶液でさらに処理し、0 で16時間攪拌した。反応混合物を $\text{H}_2\text{O}$  (  $7.0 \text{ mL}$  ) で処理し、DCMで抽出した。有機層を0.5Mの希HCl及び食塩水で順次洗浄した。無水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥した後、それを濃縮し、次いでシリカゲルカラムクロマトグラフィー (  $\text{DCM}/\text{MeOH} = 10/1$  ) 及びHPLCで精製して所望の生成物Pro Aを得た (  $48 \text{ mg}$  ,  $38\%$  ) 。得られた化合物のNMR情報は以下のとおりである。

20

30

$^1\text{H-NMR}$  (  $400 \text{ MHz}$  ,  $\text{DMSO}$  ) :  $-0.06 \text{ (t, } J = 7.6 \text{ Hz, } 3 \text{ H)}$  ,  $0.18 \text{ (d, } J = 6.4 \text{ Hz, } 2 \text{ H)}$  ,  $0.23-0.27 \text{ (m, } 4 \text{ H)}$  ,  $0.30 \text{ (d, } J = 6.8 \text{ Hz, } 3 \text{ H)}$  ,  $0.49-0.59 \text{ (m, } 2 \text{ H)}$  ,  $1.64-1.66 \text{ (m, } 2 \text{ H)}$  ,  $2.78-2.91 \text{ (m, } 1 \text{ H)}$  ,  $3.06-3.13 \text{ (m, } 2 \text{ H)}$  ,  $3.36-3.50 \text{ (m, } 2 \text{ H)}$  ,  $3.64-3.70 \text{ (m, } 1 \text{ H)}$  ,  $3.83-3.89 \text{ (m, } 1 \text{ H)}$  ,  $5.08-5.21 \text{ (m, } 2 \text{ H)}$  ,  $5.68 \text{ (d, } J = 8.0 \text{ Hz, } 1 \text{ H)}$  ,  $6.29-6.33 \text{ (m, } 3 \text{ H)}$  ,  $6.45-6.49 \text{ (m, } 4 \text{ H)}$  ,  $7.28 \text{ (s, } 1 \text{ H)}$  ,  $7.35 \text{ (s, } 1 \text{ H)}$  ;  $^{13}\text{C-NMR}$  (  $100 \text{ MHz}$  ,  $\text{DMSO}$  ) :  $12.5$  ,  $19.6$  ,  $21.2$  ,  $21.3$  ,  $49.7$  ,  $62.4$  ,  $67.8$  ,  $72.6$  ,  $83.6$  ,  $118.8$  ,  $120.0$  ,  $120.1$  ,  $124.4$  ,  $129.5$  ,  $140.0$  ,  $149.0$  ,  $150.7$  ,  $152.5$  ,  $156.0$  ,  $172.5$  ;  $^{31}\text{P-NMR}$  (  $162 \text{ MHz}$  ,  $\text{CDCl}_3$  ) :  $4.27 \text{ (P(R))}$  ,  $4.67 \text{ (P(S))}$  ; HRMS (  $\text{ESI}^+$  ) *calc.* *m/z*  $627.18 \text{ (M+H}^+)$  ,  $649.16 \text{ (M+Na}^+)$  ,  $665.14 \text{ (M+K}^+)$  , *found* *m/z*  $627.1786 \text{ (M+H}^+)$  ,  $649.1611 \text{ (M+Na}^+)$  ,  $665.1328 \text{ (M+K}^+)$  .

40

【0092】

(13) 化合物12 ( 修飾リン酸化合物前駆体 ( セレン ) ) の合成

氷冷下でジメチルジセレニド (  $300 \mu\text{L}$  ,  $3.17 \text{ mmol}$  ) を溶解したエタノール (  $5 \text{ mL}$  ) に水素化ホウ素ナトリウム (  $289 \text{ mg}$  ,  $7.64 \text{ mmol}$  ) を加えた。化合物2 (  $3.36 \text{ g}$  ,  $5.30 \text{ mmol}$  ) をTHF (  $20 \text{ mL}$  ) に溶解し、反応溶液に加え

50

、70 で3.5時間撈拌した。ジメチルジセレニド(100  $\mu$ L, 1.06 mmol)と水素化ホウ素ナトリウム(62.3 mg, 1.64 mmol)を加え、60 で2.5時間撈拌した。1 M塩酸で中和した後、溶媒を留去した。残渣を酢酸エチル(50 mL)に溶解し水で3回、飽和食塩水1回で洗浄し、有機層を芒硝乾燥した。溶媒を留去した後、中性フラッシュカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル=1/1 9/1 酢酸エチル/メタノール=9/1)により精製し、化合物12(1.90 g, 61%)を得た。本反応には耐圧容器を用いた。得られた化合物の<sup>1</sup>H-NMR情報は以下のとおりである。

<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 0.89-1.22(m, 28H), 1.95(s, 3H), 3.72-3.90(m, 2H), 4.04-4.23(m, 2H), 4.73(dd, J=8.4 Hz, 10.4 Hz, 1H), 5.64(br, s, 2H), 6.49(d, J=7.6 Hz, 1H), 8.26(s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, DMSO): 5.801, 12.70, 13.15, 13.16, 13.86, 17.13, 17.21, 17.25, 17.27, 17.48, 17.51, 17.57, 17.64, 49.87, 61.23, 74.94, 84.23, 84.58, 119.56, 139.32, 149.93, 152.754; HRMS(ESI<sup>+</sup>) calc. m/z 588.19(M+H<sup>+</sup>), 610.18(M+Na<sup>+</sup>), found m/z 588.1945(M+H<sup>+</sup>), 610.1768(M+Na<sup>+</sup>).

10

### 【0093】

(14) 化合物13(Seleno A: 修飾リン酸化合物前駆体(セレン))の合成  
氷冷下で化合物12(1.83 g, 3.12 mmol)をTHF(18 mL)に溶解し、TBAF(1 M in THF, 7.8 mL, 7.80 mmol)を加え、17.5時間撈拌した。溶媒を留去し、中性フラッシュカラムクロマトグラフィー(ジクロロメタン/メタノール=95/5 85/15)で精製し、化合物13(1.04 g, 97%)を得た。得られた化合物の<sup>1</sup>H-NMR情報は以下のとおりである。

20

<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 1.85(s, 3H), 3.64-3.83(m, 4H), 4.43(m, 1H), 5.73(dd, J=4.0 Hz, 6.0 Hz, 1H), 6.45(dd, J=3.6 Hz, 7.6 Hz, 1H), 7.28(s, 2H), 8.28(s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, DMSO): 4.17, 49.1, 59.8, 73.3, 84.1, 85.0, 118.3, 139.3, 149.2, 152.5, 156.0; HRMS(ESI<sup>+</sup>) calc. m/z 346.04(M+H<sup>+</sup>), 368.02(M+Na<sup>+</sup>), found m/z 346.0402(M+H<sup>+</sup>), 368.0214(M+Na<sup>+</sup>).

30

### 【0094】

(15) Pro Seleno Aの合成

POCl<sub>3</sub>(134  $\mu$ L, 1.50 mmol)をジクロロメタン(4.5 mL)に溶解し、-78 で撈拌した。フェノール(132.6 mg, 1.46 mmol)とトリエチルアミン(201  $\mu$ L, 1.50 mmol)をジクロロメタン(1.5 mL)に溶解し、滴下し、3時間撈拌した。L-イソプロピルアラニン塩酸塩(248.4 mg, 1.54 mmol)とトリエチルアミン(201  $\mu$ L, 3.00 mmol)を加え、更に1時間撈拌し、室温まで上昇させた。化合物13(94.2 mg, 0.27 mmol)とNMI(114  $\mu$ L, 1.50 mmol)をジクロロメタン(1.5 mL)に溶解し滴下した。0 で20.5時間撈拌した後、水でクエンチした。RP-HPLC(MilliQ/ACN=20/80 50/50)により精製を行い、Pro Seleno A(33.5 mg, 19%)を得た。得られた化合物のNMR情報は以下のとおりである。

40

<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 1.01-1.25(m, 9H), 1.88(s, 3H), 3.64-3.89(m, 3H), 4.20-4.83(m, 4H), 5.82-6.04(m, 2H), 6.45(d, 1H), 7.05-7.43(m, 7H), 8.13(d, 2H); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 4.95, 20.24, 21.84, 48.93, 50.26, 66.50, 79.71

50

, 83.39, 84.81, 119.2, 120.7, 125.0, 130.1, 140.1, 149.5, 151.2, 153.0, 156.6, 173.1; HRMS (ESI+) calc. m/z 615.11 (M+H<sup>+</sup>), found m/z 615.1244 (M+H<sup>+</sup>);

【0095】

(16) dA<sup>5'</sup>TPの合成

リン酸トリメチル (84.1 mg) にセレノアデノシン (化合物 13: 101 mg, 0.30 mmol) とトリブチルアミン (643 μL, 2.70 mmol) を加え、-30 で攪拌しながら、塩化ホスホリル (84 μL, 0.90 mmol) を滴下し、16時間攪拌した。アセトニトリル (1.6 mL) にビス(トリブチルアンモニウム)ピロリン酸 (993.5 mg, 1.51 mmol) とトリブチルアミン (600 μL) を加え、24時間攪拌した。1 M TEAB (5 mL) を加え、凍結乾燥をした。HPLC (DEAE-2 SW, 1 Mギ酸アンモニウム/MQ = 0/100 50/50) で反応の進行を分析し、HPLC (C18 Hydrosphere, 50 mM TEAB/ACN = 100/0 70/30) で精製をし、三リン酸体のトリエチルアンモニウム塩を得た。0.1 M過塩素酸ナトリウムのアセトン溶液を加え、吸引ろ過により三リン酸体のナトリウム塩 (93.9 mg, 43%) を得た。得られた化合物のNMR情報は以下のとおりである。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 8.28 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 6.40 (d, J = 8 MHz, 1H), 4.42 (t, J = 10 MHz, 1H), 4.23 (d, J = 1.6 MHz, 2H), 3.98 (m, 1H), 3.74 (q, J = 7.2 MHz, 1H), 1.64 (s, 3H); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, D<sub>2</sub>O): 4.26, 48.19, 63.43, 71.78, 82.69, 85.85, 118.1, 140.6, 148.6, 152.7, 155.6; <sup>31</sup>P-NMR (160 MHz, D<sub>2</sub>O): ?5.39 (br, 1P), ?10.28 (d, J = 17 MHz, 1P), ?20.81 (br, 1P); HRMS (ESI<sup>-</sup>) calc. m/z 583.92 (M<sup>-</sup>H<sup>-</sup>), found m/z 583.9202 (M<sup>-</sup>H<sup>-</sup>);

【0096】

2. 鎖切断反応 (Chain cleavage reaction)

化合物 9 の溶液 (MeCN: H<sub>2</sub>O = 2:1, 35 mM, 100 μL)、HEPES Buffer (50 μL, pH = 9.0, 500 mM)、H<sub>2</sub>O (332.5 μL)、DTT水溶液 (1 M, 17.5 μL) を加え、混合した後、25 で20時間インキュベートした。HPLC (条件は下記に記載) で分析し、ピークの同定はHRMS (ESI) で行った。その結果のグラフを図 2 に示す。

<HPLC condition>

Column: Hydrosphere C18 250 × 4.6 mm S-5 μm 12 nm

Eluent: A) 50 mM TEAA buffer, 5% ACN  
B) ACN

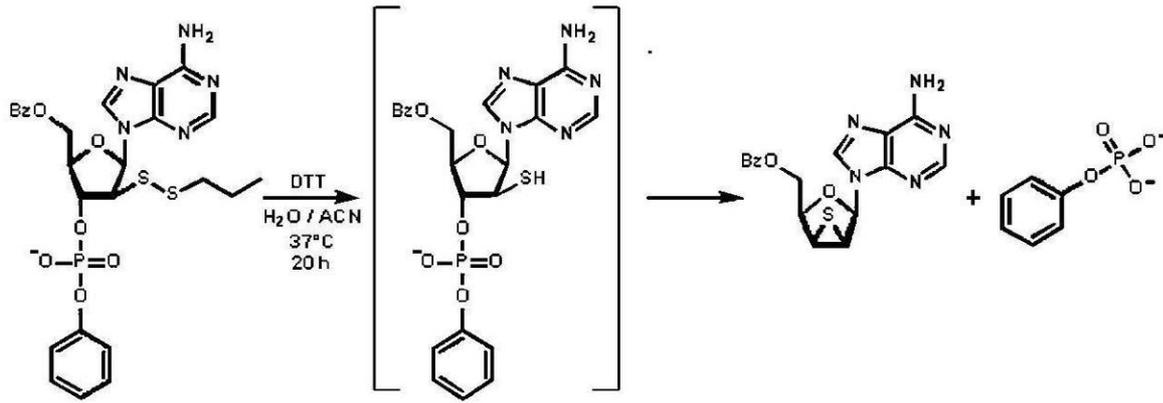
Gradient: B conc. 0 - 10% (0 - 10 min), 10 - 100% (10 - 22.5 min), 100% (22.5 - 30 min)

Flow rate: 1 mL/min Detection: 260 nm

【0097】

図 2 の HPLC の結果から、ヌクレオシド誘導体のピーク (compound A) と、リン酸フェニルのピーク (compound B) が確認された。このことから、リボースの 3' 位がリン酸化された状態で、DTTにより 2' 位のジスルフィド基を脱保護すると、以下の反応によって 3' 位のリン酸部が切断され、チラン構造を有する活性化されたヌクレオシド誘導体とリン酸フェニルとに分解されることが確認できた。

## 【化38】



## 【0098】

## 3. B型肝炎ウイルス(HBV)の増殖抑制効果

ヒト肝がん細胞HuH-7由来でHBVゲノム(遺伝子型C)が恒常的に複製する細胞株EB-HBCEを24ウェルプレートに播種し、化合物A-1(化合物10)及びA-2(化合物11)を終濃度10又は100 $\mu$ Mで添加し9日間培養した。その間、3日毎に培地を交換するとともに同濃度の化合物を添加した。培養した細胞からTRI Reagent(Molecular Research Center社)によってtotal RNAを抽出し、DNase I及びRNase阻害剤の処理を行った。SuperScript VIL0 cDNA synthesis kit(Invitrogen社)によりcDNAを合成し、SYBR qPCR Mix Kit(東洋紡社)を用いた定量PCRによってHBV複製中間体であるウイルスRNA(pgRNA)を定量した。その結果を図3に示す。左側のグラフから順に、コントロール、化合物A-1を10 $\mu$ M、化合物A-1を100 $\mu$ M、化合物A-2を10 $\mu$ M、化合物A-2を100 $\mu$ M添加した結果である。また、最も右側のグラフは、肝炎の治療薬であるETV(エンテカビル)を10 $\mu$ M添加した結果である。

20

## 【0099】

この図から、化合物A-1と化合物A-2のいずれも100 $\mu$ M添加した場合に、ウイルスRNAの低下がみられた。このことから、いずれの化合物もB型肝炎ウイルスの増殖を抑制できることがわかった。特に濃度100 $\mu$ Mにおける化合物A-1と化合物A-2の結果を比較すると、化合物A-2のほうが化合物A-1よりも若干、ウイルスRNAの量が少なかった。このことから、同じ濃度であれば化合物A-2のほうが化合物A-1よりもウイルス増殖抑制効果が高いことがわかった。

30

## 【0100】

## 4. 不可逆阻害実験

下記の鋳型RNA(0.2 $\mu$ M, 最終濃度, 以下同様), 下記のプライマーDNA(0.2 $\mu$ M), dCTP, dGTP, dTTP(各100 $\mu$ M), Tris-HCl(pH 8.3, 5mM), KCl(5mM), DTT(0.2mM), MgCl<sub>2</sub>(0.5mM)を含む溶液に、AMV逆転写酵素(20U/ $\mu$ L)を0.25 $\mu$ Lと、dATPあるいはddATPあるいはdA<sup>Se</sup>TTP(100 $\mu$ M)を加え、42 $^{\circ}$ Cで3時間インキュベートした。Microcon 100Kを用いて、限外ろ過を3回行った後、Amicon 3Kを用いてタンパク溶液を濃縮した。タンパク溶液を用いて、再度鎖伸長反応を行った(鋳型RNA 0.2 $\mu$ M, プライマーDNA 0.2 $\mu$ M, 100 $\mu$ M each dNTP, Tris-HCl(pH 8.3) 2.5mM, KCl 5mM, DTT 0.2mM, 0.5mM MgCl<sub>2</sub>, AMV逆転写酵素 0.1U/ $\mu$ L)。

40

反応時間5分、30分、60分において10 $\mu$ Lのサンプルを取り、2 $\times$ 変性バッファーに加えて、反応を停止した。各サンプルを20% dPAGE(7.5M Urea, 1 $\times$ TBE, 7.5% formamide, 20mA const.)で電気泳動を

50

行い、蛍光発光で伸長核酸を定量検出した。その結果を図4に示す。

プライマーDNA：5' - (FAM) - GGTGGACTTTTCGC - 3'

鋳型RNA：5' - ACGACGUGCGAAGUCCACC - 3'

【0101】

この図から、 $dA^{5'}$ TPは、逆転写酵素による核酸伸長反応を阻害することがわかった。

【0102】

#### 5. 抗HBV活性

ヒト肝がん細胞HuH-7由来でHBVゲノム(遺伝子型C)が恒常的に複製する細胞株EB-HB Ceを24ウェルプレートに播種し、各化合物を種々の終濃度で添加し9日間培養した。その間、3日毎に培地を交換するとともに同濃度の化合物を添加した。

培養上清を回収しPNE溶液(8.45% PEG6000, 0.445M NaCl, 13mM EDTA)添加によってウイルス粒子を沈殿させた後、DNase I(タカラバイオ社)及びRNase A(タカラバイオ社)で37、1時間処理することによって粒子外の核酸を除いた。さらに、Proteinase Kで一晩処理した後、DNAをフェノール/クロロホルム抽出しエタノール沈殿を行った。沈殿を可溶化した後、SYBR qPCR Mix Kit(東洋紡社)を用いてHBV DNAの定量測定を行った。その結果を図5に示す。図中の「SelenoA」は化合物13を、「entecavir」はエンテカビルを、それぞれ添加した結果を表す。

【0103】

この図から、SelenoA(化合物13)、Pro SelenoA、Pro Aのいずれも抗HBV活性を示し、添加濃度が増えるほど活性が高くなることがわかった。特に、Pro SelenoAは、添加濃度が10  $\mu$ Mでは、これらの3種類の中で最も高い抗HBV活性を示すことがわかった。

【0104】

#### 7. 抗HIV活性

##### (1) 抗HIV活性測定

Dulbecco's modified Eagle's Medium(DMEM)(SIGMA/Cat.No.D5796)に、最終濃度10%のfetal bovine serum(Japan Bio Serum社)を添加した培地で、37、5% CO<sub>2</sub>の条件でTZM-bl細胞を培養した。TZM-bl細胞を96well microplateに播種した(1.3  $\times$  10<sup>4</sup> cells / 100  $\mu$ L DMEM + 10% FBS)。翌日、薬剤溶液とHIV-1(NL4-3, 10ng)をこの順に培養液に添加した。2日後、培養上清200  $\mu$ Lを除去し、1  $\times$  Steady Glo(Promega/Cat.No.E2510)を100  $\mu$ L加え、かきとった80  $\mu$ Lの細胞破砕液を専用のプレート(Coster/Cat.No.3912) IESEL, VERITAS Microplate Luminometer(Promega)でLuciferaseを定量し、薬剤の抗HIV-1活性(EC<sub>50</sub>)を算出した。異なるタイプのウイルスを用い、複数の化合物について実験を行った。その結果を下記表(A)に示す。表中、「AZT」はアジドチミジン、「Lamivudine」はラミブジン、「Didanosine」はジダノシンを意味する。

【0105】

##### (2) 細胞毒性評価

MTT assayは、Celltiter 96 Non-radioactive Cell Proliferation Assay(Promega)を使用した。

MT-4細胞にHIV-1 NL4-3をMOI=0.001で感染させた。(37、1-1.5時間) HIV-1感染又は非感染MT-4細胞(2.5  $\times$  10<sup>5</sup> / ml, 100  $\mu$ L)を96ウェルマイクロプレートに分注し(最終DMSO濃度; 0.5%)、37、5% CO<sub>2</sub>で培養を開始した。培養5日目に培養上清(100  $\mu$ L)を除去し、dye solution(MTT試薬)15  $\mu$ Lを各ウェルに添加し、CO<sub>2</sub>インキュ

10

20

30

40

50

ベーター内で1時間培養した。続いてsolubilization solution / stop mixを100  $\mu$ L 各ウェルに添加し、よく混和し4 で一晩静置した。プレートを室温に戻してからDD570/690を分光光度計(BIO-TEK ELx808)で測定した(CC<sub>50</sub>)。その結果を下記表(B)に示す。

【0106】

【表1】

(A) EC<sub>50</sub> for HIV

Virus Types	AZT	Lamivudine	Didanosine	Pro Seleno A
WT	0.042	1.2	3.2	0.98
M184V	0.033	> 100	8.3	2.0
M41L/T215Y	0.12	1.7	5.6	1.3
M41L/T69SSG/T215Y	18	24	17	1.4

( $\mu$ M)

(B) CC<sub>50</sub>

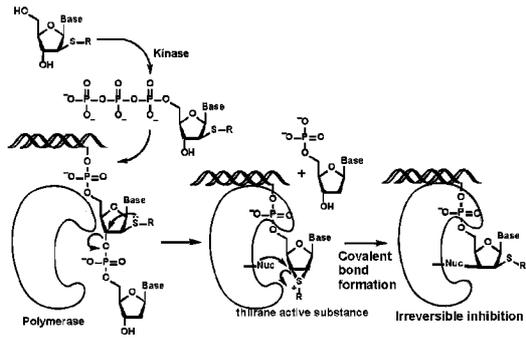
AZT	Pro Seleno A
45	> 100

( $\mu$ M)

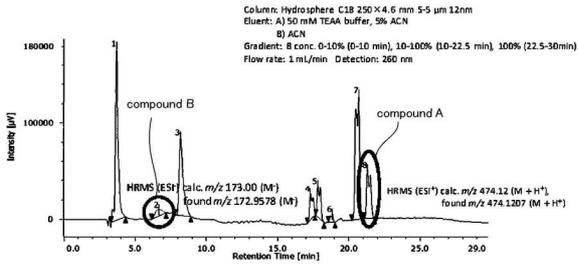
【0107】

表において、(A)の結果から、Pro Seleno AはLamivudine、Didanosineと比べると高い抗HIV活性を示した。また、HIVタイプM41L/T69SSG/T215Yに対しては、AZTよりも優れた抗HIV活性を示した。また、(B)の結果から、Pro Seleno AはAZTよりも毒性が低いことが分かった。

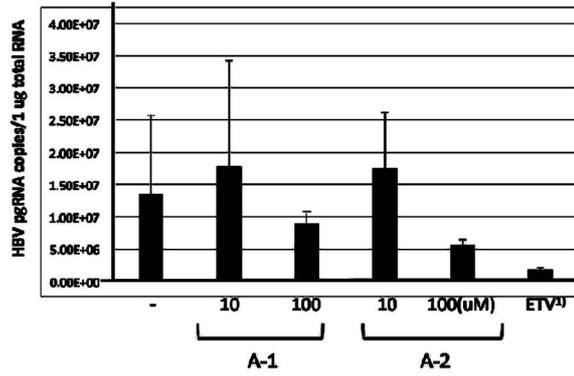
【 図 1 】



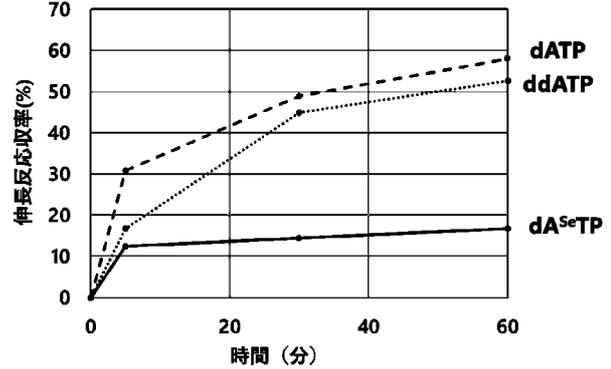
【 図 2 】



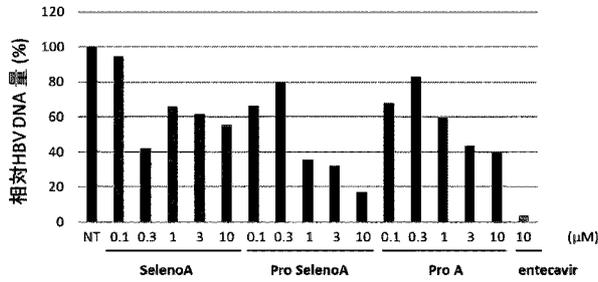
【 図 3 】



【 図 4 】



【 図 5 】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
C 0 7 H 19/19 (2006.01) C 0 7 H 19/207  
C 0 7 H 19/19

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 4 / 0 0 3 9 5 0 ( W O , A 1 )  
国際公開第 2 0 1 6 / 1 4 5 1 0 2 ( W O , A 1 )  
国際公開第 2 0 1 5 / 0 3 8 5 9 6 ( W O , A 1 )  
国際公開第 2 0 1 4 / 1 6 0 4 8 4 ( W O , A 1 )  
国際公開第 2 0 1 2 / 1 1 7 2 4 6 ( W O , A 1 )  
中国特許出願公開第 1 0 5 6 4 6 6 2 9 ( C N , A )  
Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters , 2012年 , 2 2 , 4 2 0 3 - 4 2 0 5  
Organic & Biomolecular Chemistry , 2004年 , 2 , 1 2 0 - 1 2 6  
Journal of Organic Chemistry , 2010年 , 7 5 , 6 3 7 - 6 4 1  
Nucleic Acids Research , 2008年 , 3 6 , 9 7 0 - 9 8 3  
Journal of Organic Chemistry , 1980年 , 4 5 , 4 8 3 0 - 4 8 3 4  
Biochimica et Biophysica Acta , 1979年 , 5 6 1 , 2 2 3 - 2 3 1  
Biochemistry , 1982年 , 2 1 , 5 8 7 0 - 5 8 7 7  
Biochemistry , 1981年 , 2 0 , 3 0 5 6 - 3 0 6 2  
European Journal of Biochemistry , 1978年 , 8 7 , 4 5 - 5 4  
Journal of the American Chemical Society , 1996年 , 1 1 8 , 1 1 7 1 5 - 1 1 7 1 9  
Bioorganic & Medicinal Chemistry , 2012年 , 2 0 , 2 4 1 6 - 2 4 1 8  
Chemical & Pharmaceutical Bulletin , 1981年 , 2 9 , 2 4 0 8 - 2 4 1 2  
Tetrahedron Letters , 1960年 , n . 8 , 2 0 - 2 2

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C 0 7 H 1 9 /  
A 6 1 K 3 1 /  
A 6 1 P  
C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )