

崇城大学 博士論文

抗 HBV 薬を目指した  
新規 4'位修飾ヌクレオシド誘導体の  
設計と合成

Design and synthesis of novel  
4'-modified nucleoside analogues as  
anti-HBV drugs

令和元年度

鬼塚 健吾



# 目次

第1章	緒論	
第1節	B型肝炎	
第1項	HBV感染.....	1
第2項	HBV感染後の自然経過.....	2
第3項	HBV感染症治療.....	4
第2節	HBV	
第1項	HBVのライフサイクル.....	6
第2項	薬剤耐性HBV.....	8
第3節	NAs	
第1項	現在承認されているNAsの特徴.....	9
第2項	4'-置換NAs.....	11
第3項	4'-置換NAsの立体配座.....	14
第4項	抗HBV活性を有する4'-置換NAs.....	15
第2章	4'-アジド-5-メチル-4-置換ピリミジンヌクレオシドに関する検討	
第1節	序.....	17
第2節	4'-アジド-5-メチル-4-置換ピリミジンヌクレオシドの 合成.....	19
第3節	4'-アジド-5-メチル-4-置換ピリミジンヌクレオシドの 抗HBV活性及び細胞毒性評価.....	22
第4節	考察.....	23
第3章	4'-置換イソヌクレオシドに関する検討	
第1節	序.....	24
第2節	4'-置換イソヌクレオシドの合成に関する検討	
第1項	4'-置換イソヌクレオシドの合成計画.....	27
第2項	4'-エチニル-3'-エキソメチレンイソジデオキシグアノシンの 合成.....	27
第3項	4'-シアノイソジデオキシアデノシンの合成.....	30
第4項	2-アミノ-4'-シアノイソジデオキシアデノシンの合成.....	33
第5項	4'-シアノイソジデオキシアデノシンリン酸プロドラッグ の合成.....	34
第3節	4'-置換イソヌクレオシドの抗ウイルス活性及び	

細胞毒性評価.....	35
第4節 考察.....	36
第4章 総括.....	39
謝辞.....	41
実験の部.....	43
参考文献.....	71

## 略語表

### [A]

Ac	: acetyl
ADV	: Adefovir
AIBN	: 2,2'-azobis (isobutyronitrile)
APCI	: atmospheric aressure chemical ionization
<i>aq</i>	: aqua
AZT	: 3'-azido-3'-dehydroxythymidine

### [B]

Bz	: benzoyl
----	-----------

### [C]

calcd.	: calculated
cccDNA	: covalently closed circular DNA
CC <sub>50</sub>	: 50% cytotoxic concentration
CDI	: 1,1'-carbonyldiimidazole

### [D]

dATP	: 2'-deoxy adenosine triphosphate
DABCO	: 1,4-diazabicyclo [2.2.2] octane
DBU	: 1,8-diazabicyclo [5.4.0] undec-7-ene
DCM	: dichloromethane
dCTP	: 2'-deoxy cytidine triphosphate
ddC	: 2',3'-dideoxycytidine
ddI	: 2',3'-dideoxyinosine
DDQ	: 2,3-dichloro-5,6-dicyano- <i>p</i> -benzoquinone
dGTP	: 2'-deoxy guanosine triphosphate
DIAD	: diisopropyl azodicarboxylate
DMAP	: <i>N,N</i> -dimethyl-4-aminopyridine
DMF	: <i>N,N</i> -dimethylformamide
DMP	: Dess-Martin periodinane
DMSO	: dimethyl sulfoxide
DMTr	: 4,4'-dimethoxytrityl
d4T	: 2',3'-didehydro-2'-deoxythymidine

[E]

EC <sub>50</sub>	: half maximal (50%) effective concentration
EDC	: 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide
ESI	: electrospray ionization
Et	: ethyl
ETV	: Entecavir

[H]

HBe	: hepatitis B virus envelope
HBs	: hepatitis B virus surface
HBV	: hepatitis B virus
HCV	: hepatitis C virus
HIV	: human immunodeficiency virus

[I]

IFN	: interferon
<i>isoddA</i>	: 2',3'-dideoxy <i>iso</i> adenosine

[L]

LAM	: Lamivudine
LP	: lone pair

[M]

<i>mCBA</i>	: <i>m</i> -chlorobenzoic acid
<i>mCPBA</i>	: <i>m</i> -chloroperoxybenzoic acid
Me	: methyl
mRNA	: messenger RNA
MS 3A	: molecular sieve 3 Å
MS	: mass spectrometry
MTT	: 3-(4,5-di-methylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide

[N]

Nap	: (2-naphthalenyl) methyl
NAs	: nucleoside analogues
<i>n</i> -BuLi	: <i>n</i> -butyllithium
NMR	: nuclear magnetic resonance
nor-AZADO	: 9-azanoradamantane- <i>N</i> -oxyl
NTCP	: Na <sup>+</sup> -taurocholate cotransporting polypeptide

[P]

PCR : polymerase chain reaction

pgRNA : pregenomicRNA

PMB : *p*-methoxybenzyl

PPh<sub>3</sub> : triphenylphosphine

PTSA : *p*-toluenesulfonic acid

[Q]

QOL : quality of life

[R]

rcDNA : relaxed circular DNA

[T]

TAF : Tenofovir alafenamide

TBAF : tetrabutylammonium fluoride

TBA-HS : tetrabutylammonium hydrogen sulfate

TBDPS : *tert*-butyldiphenylsilyl

TBS : *tert*-butyldimethylsilyl

TCDI : 1,1'-thiocarbonyldiimidazole

TCID<sub>50</sub> : tissue culture infectious dose 50%

TDF : Tenofovir disoproxyl

TEA : triethylamine

TFA : trifluoroacetic acid

THF : tetrahydrofuran

TIPS : triisopropylsilyl

TTP : thymidine triphosphate

## 第1章 緒論

### 第1節 B型肝炎

#### 第1項 HBV感染

HBV(B型肝炎ウイルス)の感染者数は世界で約2億5,700万人いると推定されており,<sup>[1]</sup>本邦では人口の約1%が感染していると考えられている。<sup>[2]</sup>HBVに感染し、慢性肝炎を引き起こした場合、肝硬変や肝がんへと進展することが知られ、2010年における世界の肝がんの約半数はHBV感染に起因していることが報告された。<sup>[3]</sup>さらに、2015年には世界で887,000人がB型肝炎の合併症によって死亡していることが報告された。<sup>[1]</sup>特に、アフリカや南米、日本を除くアジアでは高い有病率が確認されており、HBV感染対策は全世界的な課題となっている。<sup>[4]</sup>HBVの感染経路は感染者の血液や精液との接触であり、出産による垂直感染と性交渉や輸血、透析による水平感染が主な原因となる。

本邦では、垂直感染対策として1985年にB型肝炎ワクチンの使用が開始され、その翌年からグロブリン製剤の併用が行われるようになった。現在は妊婦健診にてHBVのスクリーニング検査が行われ、HBVの垂直感染は著しく減少した。<sup>[4]</sup>しかしながら、水平感染は減少せず、近年では持続感染となりやすいゲノタイプAのHBV感染が増加傾向にある。<sup>[5]-[7]</sup>このような事態を憂慮し、WHOは全乳児がHBVワクチンを接種する「ユニバーサルワクチネーション」を行うように勧告しており、議論が行われている。<sup>[8]</sup>しかしながら、すべての感染を事前に防ぐことは現実的ではない。そのため、HBV感染における自然経過を知り、感染者の診断及び治療法の確立・改良を行うことは感染者のQOLを改善する上で重要である。



## 第2項 HBV 感染後の自然経過

HBV に感染した場合、一過性感染を引き起こす場合と、持続感染となる場合がある。一過性感染の多くは予後良好であるが、稀に劇症肝炎を引き起こすことがあり、その場合、致死率は 70-80%である。<sup>[9]</sup> 一方、持続感染となった場合、慢性肝炎を経て肝がんとなり、予後不良となることも少なくない。持続感染を引き起こす確率は年齢によって大きく異なっており、新生児の場合は約 95%、1-5 歳の場合 20-30%、成人の場合 5%未満の確率で持続感染を引き起こす。<sup>[10]</sup> 持続感染者の多くは症状のない無症候性キャリアとなる。この無症候性キャリアの期間を①免疫寛容期と呼ぶ。免疫寛容期の期間は個人差が大きく、数年～十数年の幅がある。免疫寛容期が終わると肝炎の症状を呈し始める。この肝炎を発症している期間を②免疫応答期、もしくは③低増殖期と呼ぶ。免疫応答期と低増殖期の違いは HBV マーカーの状態で区別される。その後、一旦慢性肝炎が終息し、肝炎の症状を呈さなくなった期間を④寛解期と呼ぶ。(Fig.1)

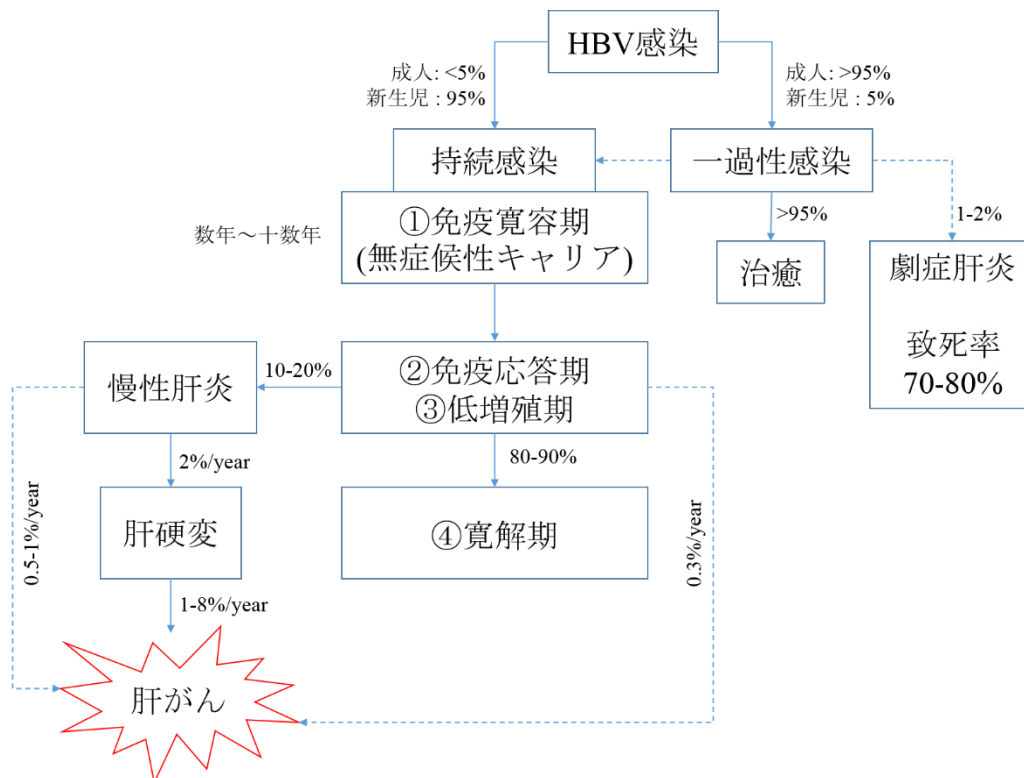


Fig.1 Natural history of HBV infection

持続感染の状態は大きく分けてこの 4 段階に分類されるが、感染者がどの段階にあるのかを判断する上で重要なマーカーが HBe 抗原, HBe 抗体,

HBs 抗原, HBe 抗体である. これらのマーカーの臨床的意味を **Table 1** にまとめた.

マーカー	陽性の場合の臨床的意味	陰性の場合の臨床的意味
HBe抗原	HBVの増殖が活発である 感染力が高い	HBVの増殖が抑制されている 感染力は低い
HBe抗体	肝炎が終息しつつある	
HBs抗原	HBVが体内に存在する	HBVがほぼ存在しない
HBs抗体	HBVに対する免疫を獲得	

**Table 1** HBV markers and their clinical implications

HBe 抗原は HBV における増殖の活発さを表す. HBe 抗原が陽性である場合, HBV が活発に増殖しており, 感染力が高く, 肝炎は増悪する. 一方, HBe 抗原が陰性の場合, HBV の増殖が抑制されていることが示唆される. また, HBs 抗原は HBV に感染しているか否かを表す. つまり, HBs 抗原が陽性であれば, 感染者の体内に HBV が存在することを表し, HBs 抗原が陰性であれば, 体内から HBV が除去されていることを表す. また, HBe 抗体及び, HBs 抗体は感染者由来の抗体である. HBe 抗体の陽性は HBV の増殖が低下し, 感染力が低いことを表し, HBs 抗体陽性は HBV に対する免疫を獲得していることを表す.[6]

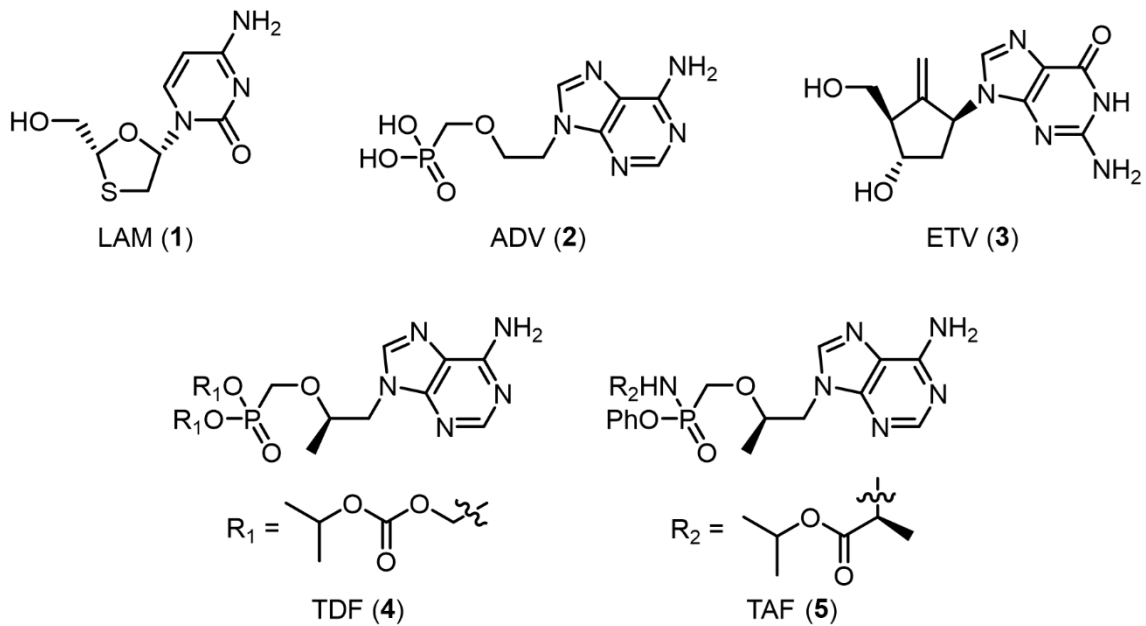
そして, HBe 抗原と HBe 抗体は特殊な関係にあることが知られている. HBe 抗原陽性の際には HBe 抗体は陽性にならず, HBe 抗原が陰性になった後に HBe 抗体は陽性となる. この現象のことをセロコンバージョンと呼ぶ. 先述したように, HBe 抗原陽性は HBV が活発に増殖していることを表し, 肝病変が進行していることを示唆する. そのため, 持続感染者にとってセロコンバージョンがいかに早く生じるかが予後を改善する上で, 非常に重要となる. [4],[6],[11]-[14]

すなわち, HBV に感染した場合, 早期に検査を行い, 適した治療を行うことが患者の QOL 向上において非常に重要となる.

### 第3項 HBV 感染症治療

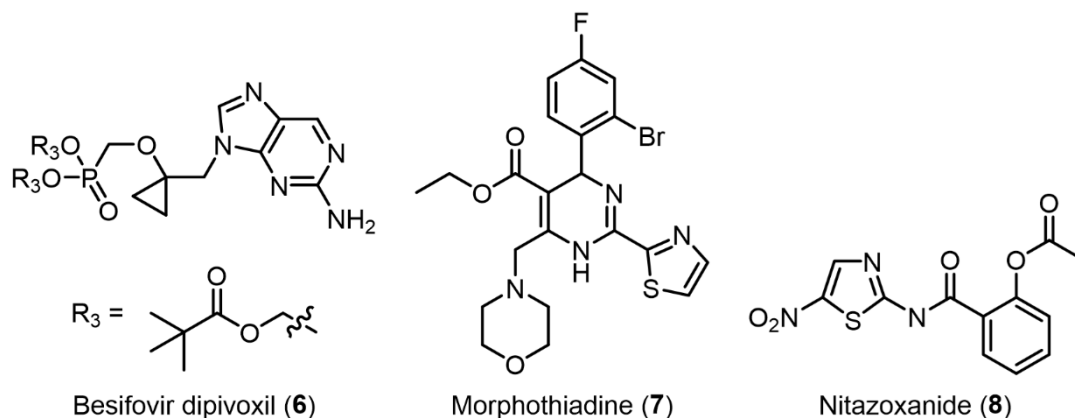
現在、HBV 感染症の治療には NAs (核酸アナログ) と IFN (インターフェロン) 製剤が使用されている。本邦では最初に IFN 製剤の使用が開始された。しかしながら、IFN 製剤は投与経路が皮下注射となってしまう他、副作用が多岐にわたり、間質性肺炎などの重篤な副作用も報告されていた。<sup>[15]</sup>

そのため、副作用が比較的少なく、経口投与が可能な治療薬が望まれていた。こうした中、HIV (ヒト免疫不全ウイルス) に対して使用されていた NAs である LAM (1) が HBV の逆転写を阻害することが発見され、本邦では 2000 年から LAM の使用が開始された。しかし、LAM は長期投与が必要であり、その結果、耐性株の出現に伴うブレイクスルーが報告された。<sup>[16]</sup> その後、ADV (2) の使用が 2004 年に開始され、ADV は LAM 耐性株に対しても有効であった。<sup>[17]</sup> さらに LAM 耐性株に対し、LAM と ADV を併用することで、より高い抗 HBV 効果を発揮し、両剤に対する耐性株の出現リスクが低下することが報告された。<sup>[18]-[19]</sup> しかしながら、ADV の副作用として腎障害が確認されており、腎機能が低下している場合、投与量を調整する必要があった。<sup>[20]</sup> その後、2006 年に現在の第一選択薬である ETV (3) の使用が開始された。ETV は単剤で非常に抗 HBV 活性が高く、0.5 mg/day という極微量で強力に HBV の増殖を抑制する (LAM:100 mg/day, ADV:10 mg/day)。さらに、ETV は耐性株が出現しにくく、副作用が非常に少ないという優れた特長がある。ただし、耐性株が生じにくいのは ETV を HBV 感染症治療の初期から使用開始した場合であり、既に LAM で治療を開始し、LAM 耐性株が生じている状態で長期投与を行った場合、ETV 耐性株の出現が確認されている。<sup>[21]</sup> その後、TDF (4) が 2014 年に使用が開始されたが、TDF は肝臓への吸収効率が悪く、300 mg/day の投与が必要であった。<sup>[22]</sup> この課題を解決するため、Tenofovir をホスホンアミデートで修飾した TAF (5) が開発され、2017 年に使用が開始された。TAF は TDF よりも肝臓に効率的に取り込まれるため、25 mg/day の投与で TDF と同等の効果を示す。<sup>[23]</sup> そのため血中濃度を低く抑えることが可能であり、副作用の低減が期待されている。(Fig.2)



**Fig.2** Structure of NAs used for HBV

最近報告された新規 NAs としては、シクロプロパン環の導入により、アシクロヌクレオシドの配座固定化を行って抗ウイルス活性を増強した Besifovir dipivoxil (6)<sup>[24]-[25]</sup> が 2019 年から韓国で使用開始されている。さらに、NAs や IFN と異なる作用機序を持つ抗 HBV 薬の開発が進んでいる。<sup>[26]</sup> 後述する NTCP 受容体への Dane 粒子の結合を阻害する Myrcludex-B は 2019 年から Phase2 の臨床試験が行われている。<sup>[27]-[29]</sup> さらに、HBV カプシド重合を阻害する Morphothiadine (7)<sup>[30]</sup> や HBV DNA 転写因子を阻害する Nitazoxanide (8)<sup>[31]-[33]</sup> も 2019 年から Phase2 の臨床試験が進行中である。(Fig.3)



**Fig.3** New drug and drug candidates for HBV treatment

## 第2節 HBV

### 第1項 HBV のライフサイクル

HBV はヘパドナウイルス科に属しており、HBV ビリオンは Dane 粒子と呼ばれている。Dane 粒子は 3.2kbp の不完全な二本鎖 DNA (relaxed circular DNA, rcDNA) がヌクレオカプシドに封入され、さらにその周囲をエンベロープが覆った構造をしている。<sup>[34]</sup>

HBV は 1964 年に発見されてから長い期間、HBV に感染する培養細胞がなかったため、研究が阻まれていた。しかしながら、2012 年に HBV が肝細胞に侵入し、感染を成立させるための受容体「NTCP (Na<sup>+</sup>依存性胆汁酸トランスポーター)」が発見された。<sup>[35]</sup> このことにより、NTCP を発現した細胞株が樹立され、抗 HBV 活性を有する化合物のスクリーニングや詳細な HBV 増殖過程の研究が可能となり、HBV に関する研究は急速に発展した。<sup>[36]-[37]</sup>

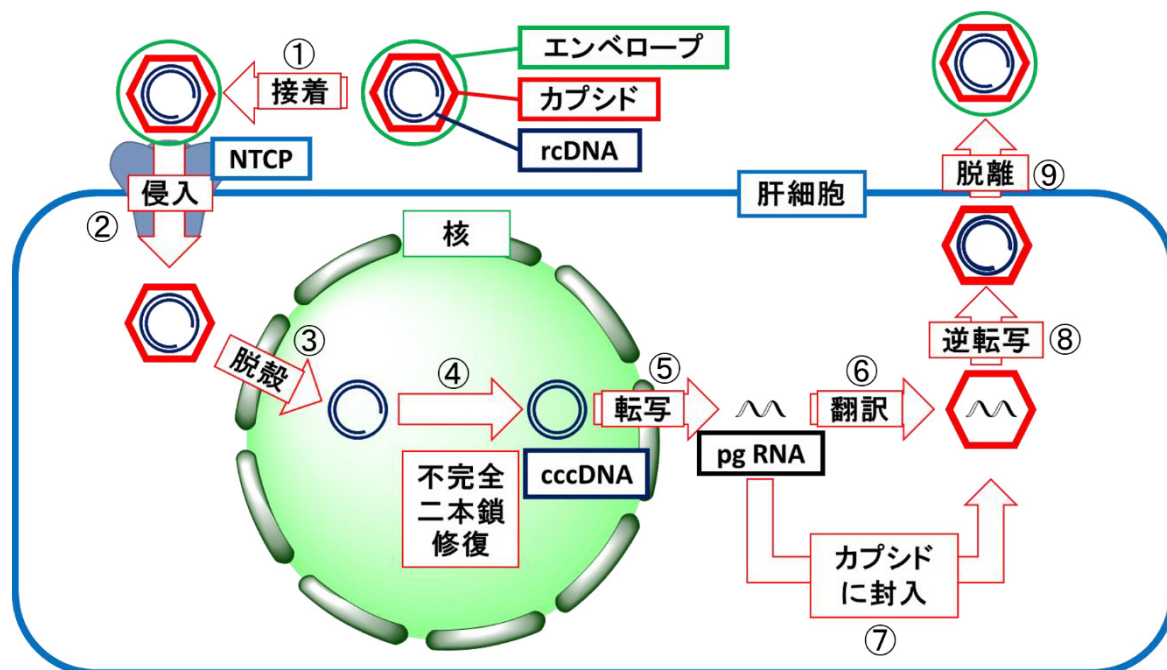


Fig.4 Life cycle of HBV

HBV は特異なライフサイクルを形成していることが知られており、Dane 粒子は NTCP に接着し (Fig.4, ①)、侵入する (Fig.4, ②)。その後、脱殻を経て rcDNA が核内へと移行する (Fig.4, ③)。核内に移行した rcDNA は宿主の持つ酵素によって covalently closed circular DNA (cccDNA) と呼ばれる

非常に安定な DNA へと変換される (Fig.4, ④). その後, cccDNA から宿主の DNA 依存性 RNA ポリメラーゼによって 3.5 kb の pgRNA と呼ばれる mRNA へ転写される (Fig.4, ⑤). さらに cccDNA からの転写では, pgRNA に加え, 3 種類の mRNA が転写され, mRNA から逆転写酵素やカプシド等のウイルス由来のタンパク質が翻訳される (Fig.4, ⑥). その後, pgRNA は翻訳されたカプシド内に封入され (Fig.4, ⑦), カプシド内に存在する逆転写酵素によって逆転写を受け rcDNA が合成される (Fig.4, ⑧). rcDNA を含むヌクレオカプシドは, エンベロープを形成しつつ Dane 粒子となり脱離する (Fig.4, ⑨). この cccDNA からの一連の流れ (Fig.4, ⑤-⑨)を繰り返すことで HBV は増殖する.<sup>[38]-[41]</sup> そのため, B 型肝炎を根治するには cccDNA を排除する必要があるが, cccDNA の排除は困難であり, 現在の治療法では HBV の増殖を抑制するにとどまっている.

## 第2項 薬剤耐性 HBV

前項で示したように HBV は逆転写を行うため、遺伝子変異が生じやすい。したがって、遺伝子変異を通じて薬剤耐性株が出現しやすく、特に、NAs に対する薬剤耐性株の出現が問題となっている。NAs は HBV の逆転写の過程を阻害することで抗 HBV 作用を示すが、この作用は HBV の増殖を抑制するものであり、根治には至らない。そのため、NAs の使用を中止した場合、再び HBV が増殖し、治療前の状態に戻ることが報告されている。このことから長期的な予後改善のために NAs の投与は原則として中止せず、継続投与によって HBV の増殖を抑制し続ける必要がある。<sup>[42]</sup> しかしながら、長期投与は薬剤耐性株の出現リスクを高めてしまい、薬剤耐性株が出現した場合、ブレイクスルーを引き起こす。

薬剤耐性獲得の機序に関する研究は盛んにおこなわれており、NAs に対する耐性株において逆転写酵素のアミノ酸変異箇所が報告されている。<sup>[41]</sup><sup>[46]</sup> 最も高い頻度で生じる LAM 耐性株は逆転写酵素の 204 番目のメチオニンがバリンもしくはイソロイシンに変異し、さらに 180 番目のロイシンがメチオニンに変異することで生じる。<sup>[41]</sup><sup>[42]</sup> さらに、LAM 耐性株は ETV に対する感受性が低下し、逆転写酵素の 184 番目トレオニン、202 番目のセリンもしくは 250 番目のメチオニンが変異することで ETV に対する薬剤耐性を獲得することが報告されている。<sup>[45]</sup> また、TDF 及び TAF に対して耐性を獲得した症例の報告は少ないものの、LAM 及び ETV 両剤耐性ウイルスに対して TDF の投与中に薬剤耐性株の出現を起こした症例が報告された。<sup>[46]</sup>

このように、薬剤耐性株の出現は治療に使用できる薬剤の選択肢が少なくなってしまうことから、HBV 感染者の予後に直結する問題である。そのため、薬剤耐性株に対しても効果を示し、かつ、強力な抗 HBV 作用によって薬剤耐性の獲得を許さず、低細胞毒性の新規 NAs の開発が求められている。

### 第3節 NAs

#### 第1項 現在承認されている NAs の特徴

NAs は HBV のライフサイクルにおいて pgRNA から rcDNA を合成する逆転写を阻害する。逆転写はヒトの細胞ではほとんど行われていないため、逆転写を阻害することで正常な細胞の活動を害することなく、HBV のライフサイクルのみを阻害できる。また、逆転写酵素は一般的な DNA ポリメラーゼと比較して基質特異性が低いことが知られている。<sup>[47]-[48]</sup> このことは、逆転写酵素がヌクレオチドに類似している化合物を誤って取り込み、DNA 内に組み込むことを示唆する。

NAs は細胞に取り込まれた後に三リン酸体 (もしくは二リン酸体) となって作用を示す。リン酸化された NAs は dATP, dGTP, dCTP, TTP のいずれかと競合して逆転写酵素に取り込まれ、HBV DNA に組み込まれる。DNA に組み込まれた NAs は 5' から 3' 方向への DNA 伸長を阻害する。(Fig.5)

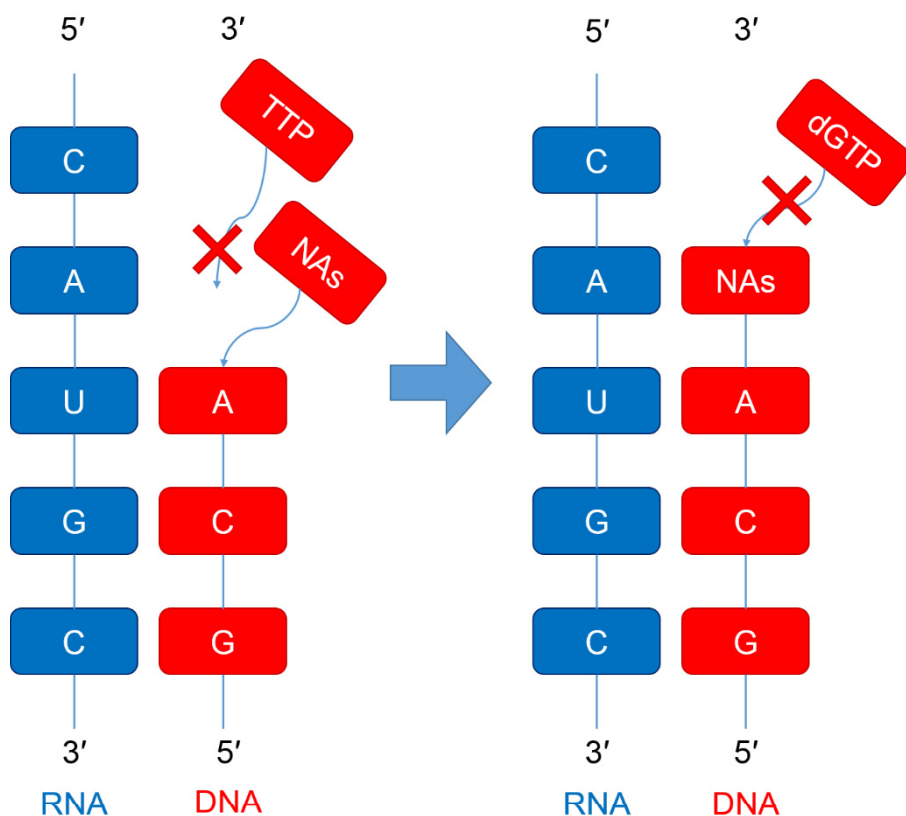


Fig.5 Mechanism of NAs action

このように逆転写酵素を阻害して抗ウイルス作用を示す NAs は、HIV 治



療の分野において大きく研究・開発が進展してきた。1985年、当時は不治の病であった HIV 感染症に対して最初の NAs である AZT (9) が満屋らによって開発され、HIV 感染症の予後は劇的に改善した。<sup>[49]-[50]</sup> その後、AZT の構造的特徴から多くの NAs が開発され、HIV の死亡率は顕著に低下した。HIV 治療に適応がある代表的な NAs を Fig.6 にまとめた。

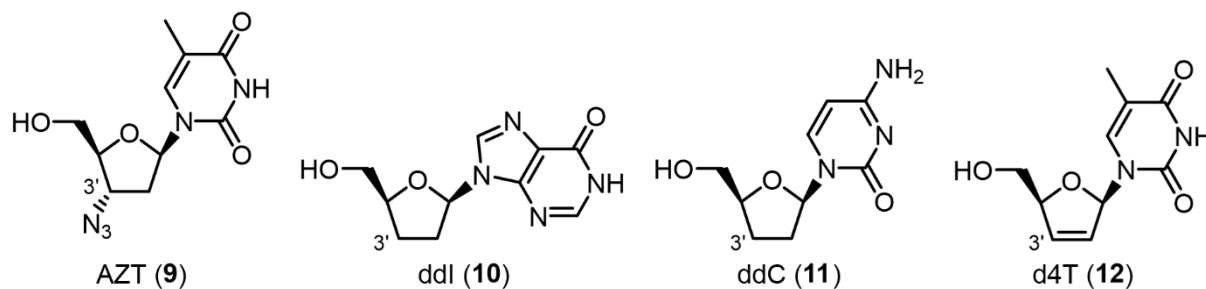


Fig.6 NAs for HIV treatment

最初に開発された AZT はチミジンの 3'位の水酸基をアジド基に置換した NAs である。AZT は HIV が逆転写によって DNA を伸長する際、TTP と競合して逆転写酵素に取り込まれ、HIV の DNA に組み込まれる。そして、次の伸長において、3'位の水酸基が存在しないため DNA の伸長が停止し、逆転写が阻害される。<sup>[51]</sup> この阻害形式は AZT 以降の NAs においても用いられており、ddI (10) はイノシンの 2'位と 3'位の水酸基が水素に置換された NAs である。ddI は細胞内に取り込まれた後、三リン酸化体となり、さらに細胞内の酵素によってプリン 6 位がアミノ基に置換されて ddATP となる。ddATP は dATP と競合して逆転写酵素に取り込まれ、AZT と同様に DNA の伸長を停止して逆転写を阻害する。<sup>[52]</sup> また、ddC (11) はデオキシシチジンの 3'位の水酸基を水素に置換した NAs であり、活性体は dCTP と競合し、DNA の伸長を停止する。続いて使用が開始された 2',3'-endo-olefin 構造を有する d4T (12) は TTP と競合し、DNA 伸長を停止する。

また、先述したように HBV に対して使用される NAs である LAM や ADV, TDF, TAF も 3'位に相当する位置の水酸基を有していないため、DNA 伸長を抑制し、逆転写阻害作用を示す。しかし、ETV は 3'位に相当する位置の水酸基を有しているにもかかわらず逆転写阻害作用を有している。ETV は逆転写によって HBV の DNA 内に取り込まれた後、数塩基伸長し、DNA の伸長が停止する。このことは ETV によって DNA の立体配座が変化し、逆転写酵素が認識できなくなることに起因すると考えられる。<sup>[53]-[54]</sup>

この ETV のように 3'位の水酸基を有するにも関わらず逆転写酵素を阻害する NAs として、4'-置換 NAs が知られている。4'-置換 NAs は、強い抗ウイルス作用を示し、薬剤耐性株への効果を有している化合物が数多く報告されていることから注目を集めている。

## 第2項 4'-置換 NAs

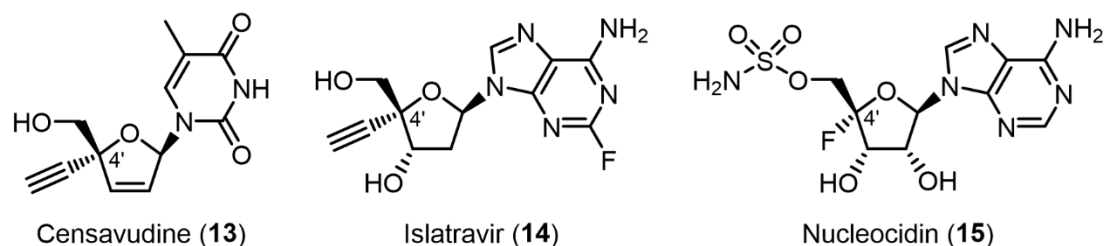
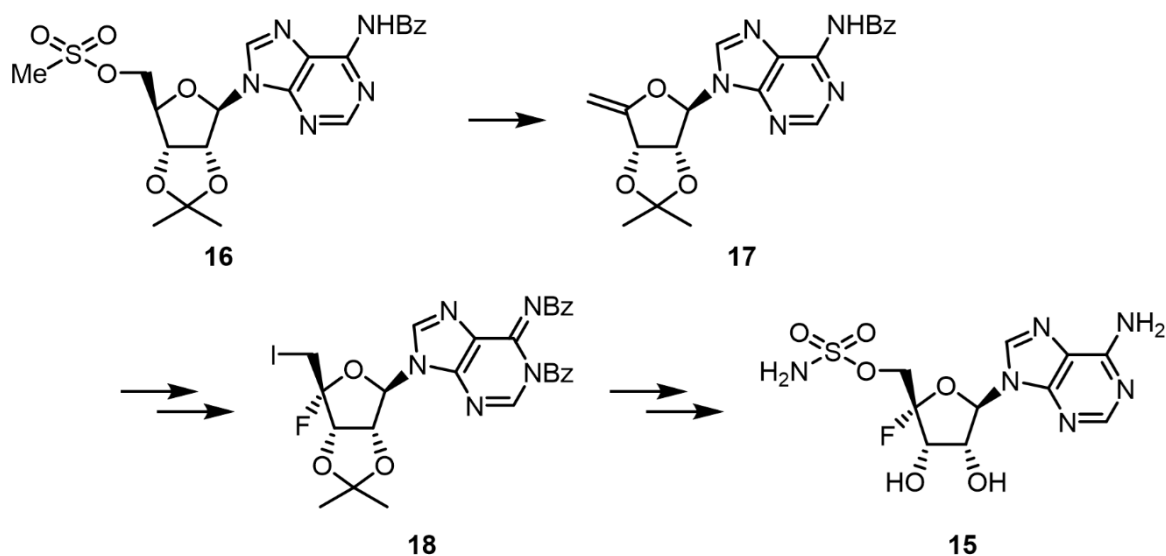


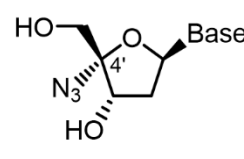
Fig.7 Structure of 4'-substituted NAs 13-15

4'-置換 NAs は糖の 4'位にエチニル基、アジド基及びシアノ基などの置換基を導入したヌクレオシドである。(Fig.7) 現在、欧米で抗 HIV 薬として使用されている Censavudine (13) は 4'位にエチニル基を持つ 4'-置換 NAs である。また、現在 Phase2 の臨床試験が行われている Islatravir (14) は 4'位にエチニル基を有するヌクレオシドであり、3'位に水酸基を持つにもかかわらず、逆転写酵素阻害作用を示す。4'-置換 NAs 研究の歴史は 1956 年に *Streptomyces calvus* から Nucleocidin (15) が単離されたことに始まる。<sup>[55]</sup> 1971 年には Moffatt らによって 16 から 4',5'-*exo*-olefin 構造 17 を経由し、付加反応にて 4'位にフッ素を導入し 18 とした後、さらに数工程を経て 15 の合成が達成された。(Scheme 1)<sup>[55]</sup>



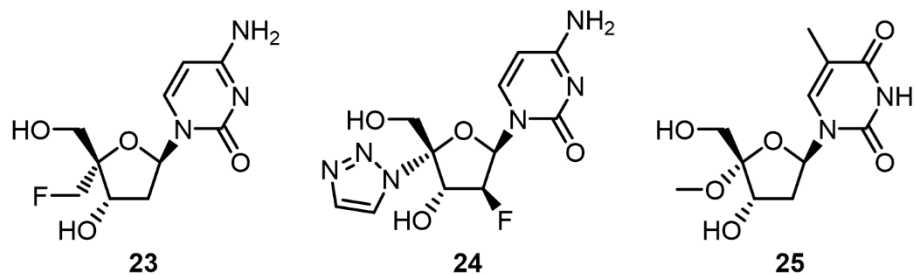
**Scheme 1** Synthesis of Nucleocidin

その後、1992年には、Maagらによって4'位にアジド基を導入した4'-アジド NAs (**19-22**) が合成され、抗 HIV 活性が見出された。(Table 2)<sup>[56]</sup>

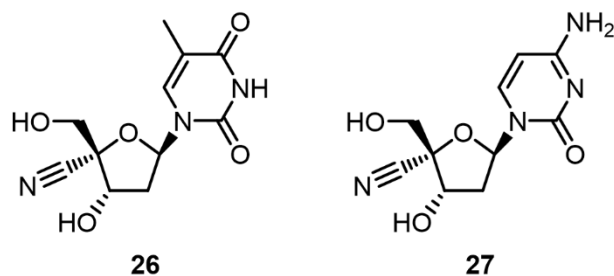
	Base	EC <sub>50</sub> <sup>HIV</sup> (μM)	CC <sub>25</sub> <sup>MT-2</sup> (μM)
 4'-azido NAs ( <b>19-22</b> )	Thymine ( <b>19</b> )	0.01	8
	Uracil ( <b>20</b> )	73	>200
	Adenine ( <b>21</b> )	0.13	50
	Guanine ( <b>22</b> )	0.003	0.21

**Table 2** EC<sub>50</sub><sup>HIV</sup> and CC<sub>25</sub><sup>MT-2</sup> of 4'-azido NAs **19-22**

以降、様々な置換基を持つ4'-置換 NAs の合成及び、抗ウイルス活性の評価が行われ、4'位にフルオロメチル基を有する **23** やトリアゾール基を有する **24**、メトキシ基を有する **25**、シアノ基を有する **26**, **27** 等が抗 HIV 作用を持つことが報告された。(Fig.8)<sup>[56]-[61]</sup> これら 4'-置換 NAs が 3'位に水酸基を持つにもかかわらず、抗ウイルス活性を示す機序は、糖の立体配座の変化に起因すると考えられる。



$EC_{50}^{HIV} = 0.0068 \mu M$	$EC_{50}^{HIV} = 0.09 \mu M$	$EC_{50}^{HIV} = 8.49 \mu M$
$CC_{50} = 0.12 \mu M$	$CC_{50} > 25 \mu M$	$CC_{50} = 200 \mu M$



$EC_{50}^{HIV} = 0.002 \mu M$	$EC_{50}^{HIV} = 0.0012 \mu M$
$CC_{50} = 1 \mu M$	$CC_{50} = 0.17 \mu M$

**Fig.8** Structure and anti-HIV activity of 4'-substituted NAs **23-27**

### 第3項 4'-置換 NAs の立体配座

ヌクレオシドにおける糖の立体配座は C2'-endo/C3'-exo 型 (South 型) と C2'-exo/C3'-endo 型 (North 型) が存在し, 立体障害の大きい塩基部がエクアトリアル位となる South 型が安定となる. しかし, 4'位にアジド基やエチニル基, シアノ基を有している構造の場合, North 型が安定となる. (Fig.9)

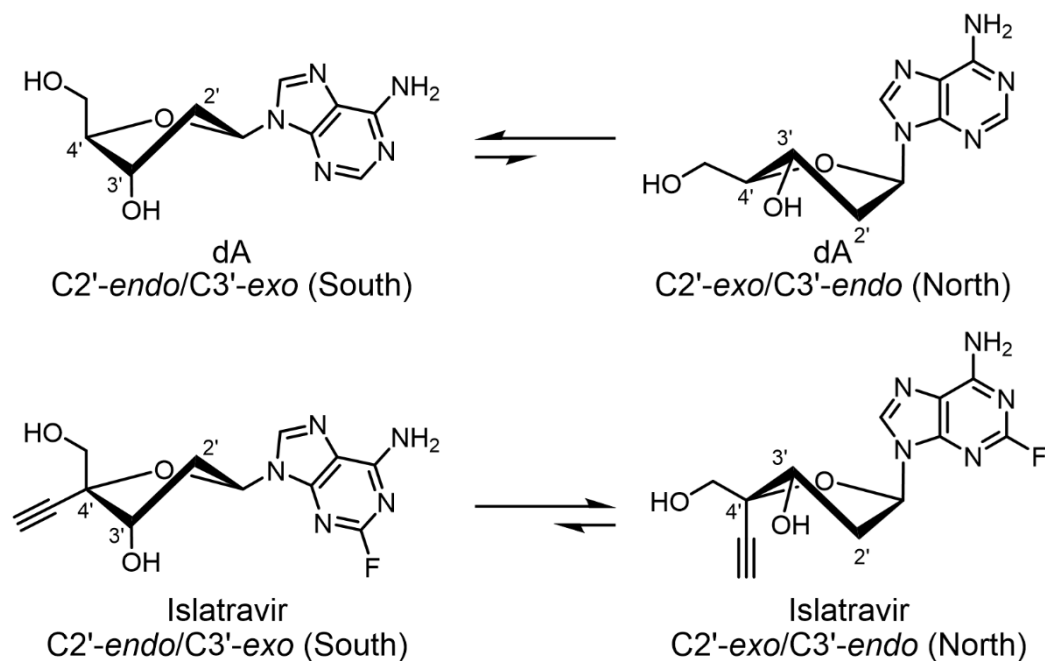
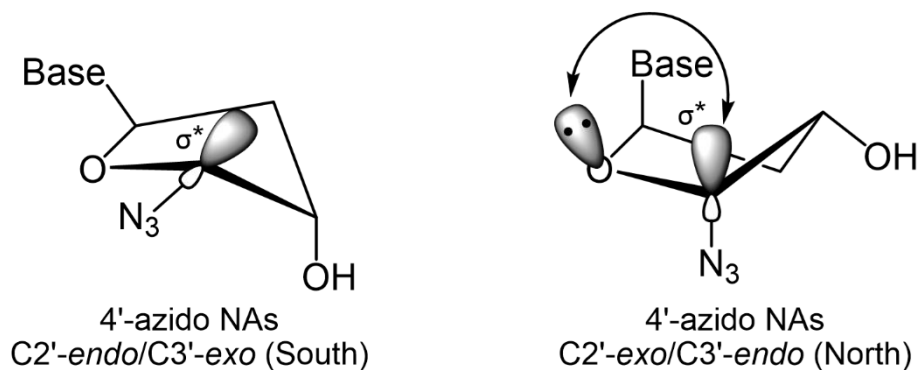


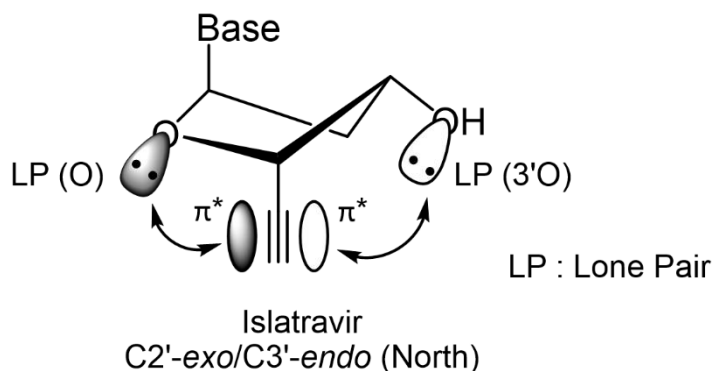
Fig.9 Sugar pucker of NAs

4'-置換 NAs が North 型配座をとる場合, 塩基部と 4'位の置換基がともにアキシアル位を占めるため, 大きな立体反発が生じ, 不安定となる. しかしながら North 型が安定となるのはアノマー効果に関与している.<sup>[62]</sup> アノマー効果は, 五員環を形成する酸素の非共有電子対と 4'位の電子求引性置換基の  $\sigma^*$ 結合との相互作用によって非共有電子対が非局在化し, 安定化することで生じる. (Fig.10) したがって, 4'位に窒素原子や酸素原子, ハロゲンなどが結合している場合, アノマー効果によって North 型配座が安定となる.



**Fig.10** Anomeric effect

しかし、電子求引性基ではないエチニル基においては同様のアノマー効果は期待できない。にもかかわらず、4'位にエチニル基を有する Islatravir の場合も North 型が安定であると Kirby らによって報告された。<sup>[63]</sup> その理由としては五員環を形成する酸素及び、3'位の酸素とエチニル基の  $\pi^*$ 軌道の相互作用によるものだと説明されている。(Fig.11)

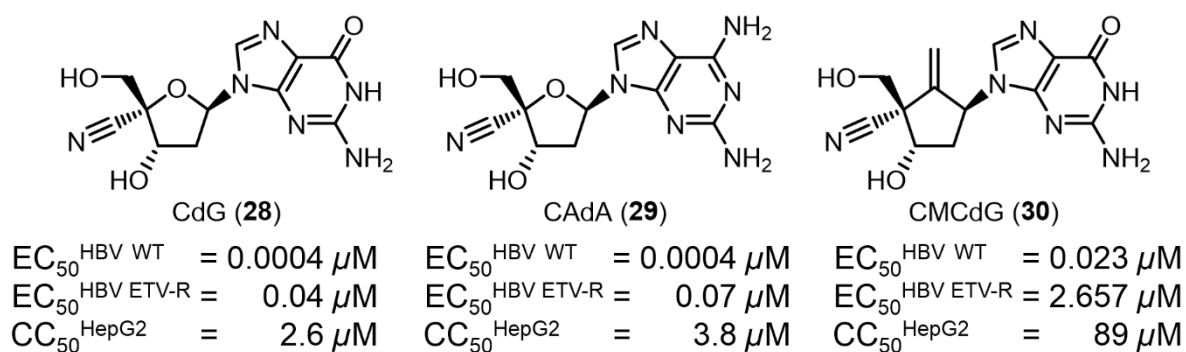


**Fig.11** Interaction of the O and 3'O LP with  $\pi^*$  antibonding orbitals of 4'-ethynyl group

このように 4'-置換 NAs は立体配座が通常のヌクレオシドと異なることで DNA の伸長を停止し、ウイルスの逆転写を阻害すると考えられる。

#### 第4項 抗 HBV 活性を有する 4'-置換 NAs

前項で述べたように、4'-置換 NAs は抗 HIV 活性を示し、臨床展開が進んでいるものがある。したがって、HIV と同じく逆転写酵素を有する HBV に対しても 4'-置換 NAs の抗ウイルス活性が期待される。そこで、共同研究先である満屋教授のグループにより、多数の 4'-置換 NAs の抗 HBV 活性が評価された。抗 HBV 活性を有する 4'-置換 NAs の構造を Fig.12 に示す。



**Fig.12** Structure of 4'-substituted NAs **28-30** which have anti-HBV activity

プリンヌクレオシドの4'位にシアノ基を導入した CdG (**28**) や CAdA (**29**) は非常に強力な抗 HBV 活性 ( $EC_{50}^{HBV WT} = 0.0004 \mu M$ ) を持ち, ETV 耐性株に対しても強い抗 HBV 作用 ( $EC_{50}^{HBV ETV-R} = 0.04-0.07 \mu M$ ) を維持していた. さらに注目すべきは, ETV の 4'位にシアノ基を導入した CMCdG (**30**) が ETV では抗 HBV 活性が著しく低下した耐性株への活性を有している (ETV: $EC_{50}^{HBV ETV-R} = 64.037 \mu M$ , CMCdG: $EC_{50}^{HBV ETV-R} = 2.657 \mu M$ ) ことである. しかしながら, この系統の NAs は細胞毒性を有している ( $CC_{50}^{HepG2} = 2.6-89 \mu M$ ) ことが課題となっている.[64][65]

このように 4'-置換 NAs は強力な抗 HBV 活性を持ち, 薬剤耐性株に対しても効果があることが示された. 抗 HBV 活性を示す理由としては, 糖の立体配座が変化することに加え, HBV 逆転写酵素と CdG 三リン酸が結合する際, A87, F88, P177, L180, M204, D205 からなる疎水空間にシアノ基が入り込み, 強く結合するためと考えられている.[58]

4'-置換 NAs は現在, 臨床現場で HBV 感染症治療薬として用いられておらず, かつ既存の薬物とは構造と作用機序が異なる. そこで, 耐性株に対しても強力な抗 HBV 活性を示し, 毒性の低い NAs の開発を目指して, 新規 4'-置換 NAs を合成し, 構造活性相関研究を行うこととした.

## 第2章 4'-アジド-5-メチル-4-置換ピリミジンヌクレオシドに関する検討

### 第1節 序

先述したように 4'-置換ヌクレオシドには抗 HBV 活性を有するものが数多く報告されている. 我々の所属する研究室でも 4'-アジドプリンヌクレオシドである AdG (31) や AAdA (32) が強力な抗 HBV 活性を有していること ( $EC_{50}^{HBV} = 0.006-0.009 \mu M$ ) を報告した.<sup>[66]</sup> しかしながら, AdG や AAdA は細胞毒性を有しており ( $CC_{50}^{MT-4} = 4.6-4.9 \mu M$ ), 毒性軽減のため 4'-アジドヌクレオシドの構造最適化が必要と考えた. (Fig.13)

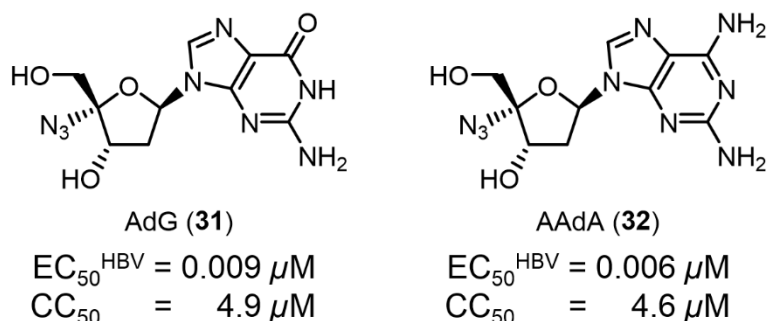


Fig.13 Structure of 4'-azido purine nucleosides 31-32

そこで, 塩基構造としてピリミジンに着目した. 現在欧米で HBV 感染症治療薬として使用されている Telbivudine (33) は塩基部としてチミンを有している. しかしながら, 塩基部がチミンの 4'-アジドチミジン (34) について抗 HBV 活性は未確認であった. さらに, 塩基部に 5-メチルシトシン構造を有する FddMeC (35) が抗 HBV 活性を有する ( $EC_{50}^{HBV} = 0.54 \mu M$ ) ことが報告されていた. (Fig.14)<sup>[67]</sup>

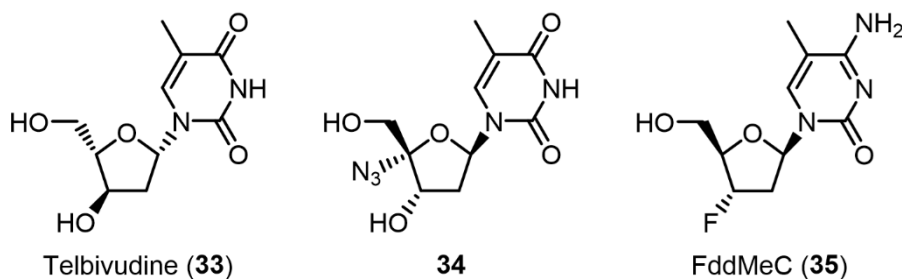
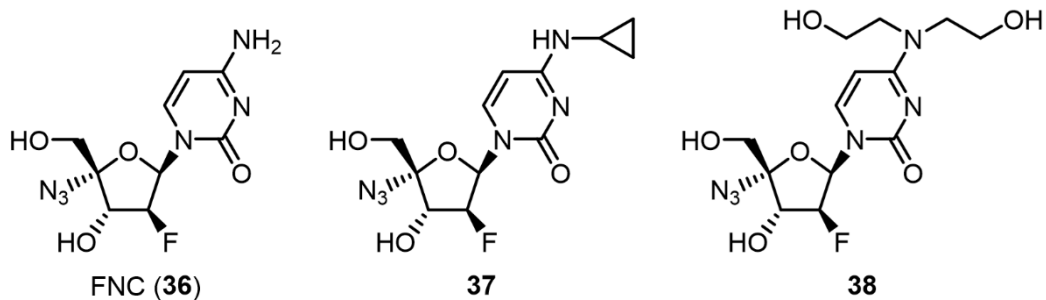


Fig.14 Structure of compounds 33-35

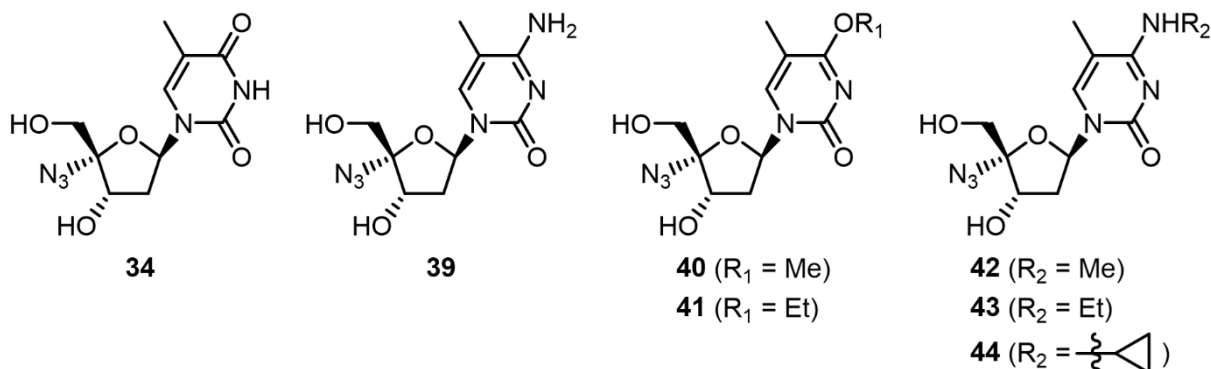
また, 抗 HBV 活性を有している FNC (36) について,  $N^4$ アルキル化した NAs (37-38) が抗 HBV 活性を維持しつつ毒性が低減すると報告された. (Fig.15)<sup>[68]-[69]</sup>





**Fig.15** Structure of FNC (36) and its derivatives 37-38

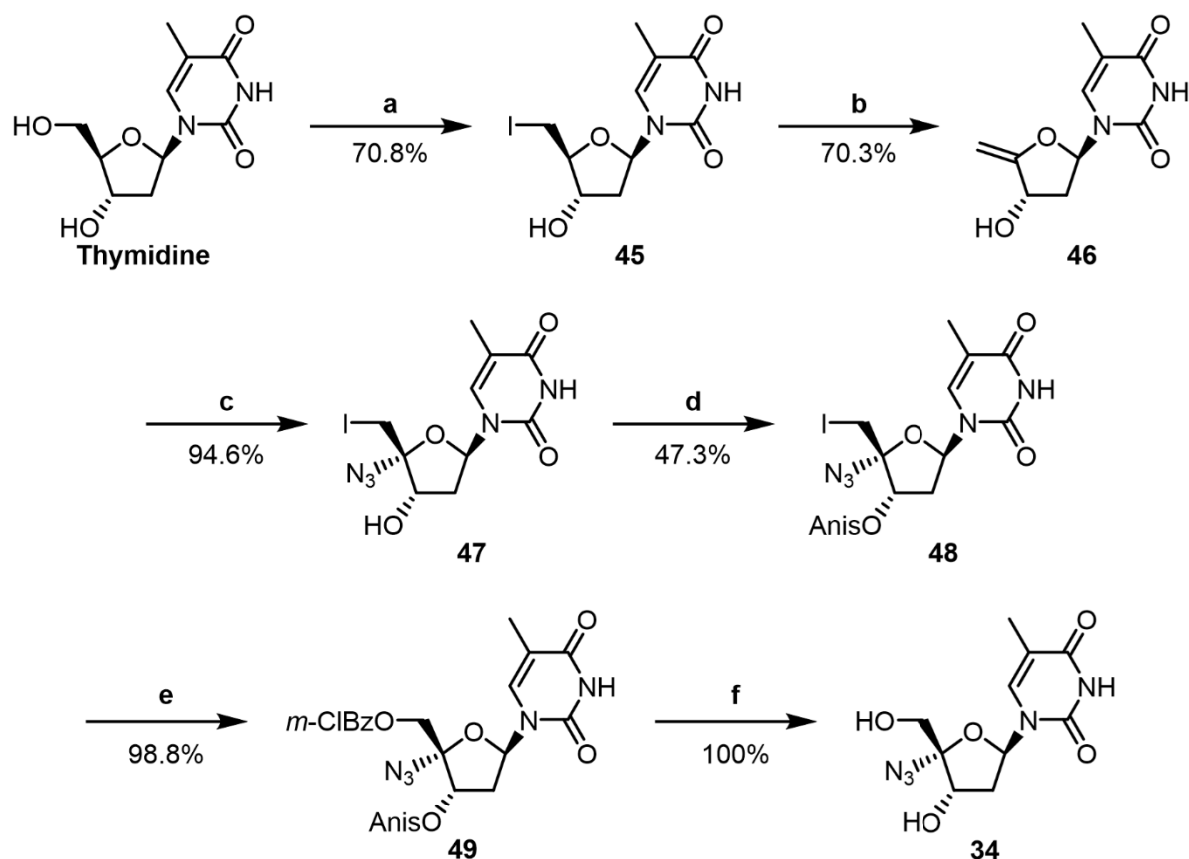
以上の知見をふまえ、塩基としてチミンをもつ 4'-アジドチミジン (34) 及び、5-メチルシトシンをもつ 4'-アジド-2'-デオキシ-5-メチルシチジン (39) が抗 HBV 活性を有しつつ、低細胞毒性の抗 HBV 薬リード構造になると考えた。また、 $N^4/O^4$  のアルキル化によって、毒性がさらに低減することを期待して、NAs 40-44 を設計した。すなわち、4'-アジド-5-メチル-4-置換ピリミジンヌクレオシド (34, 39-44) を合成し抗 HBV 活性及び細胞毒性を評価することとした。(Fig.16)



**Fig.16** Structure of 4'-azido-5-methyl pyrimidine nucleosides

## 第2節 4'-アジド-5-メチル-4-置換ピリミジンヌクレオシドの合成

34 の合成は Maag らの報告に則って行った. (Scheme 2)<sup>[56]</sup>

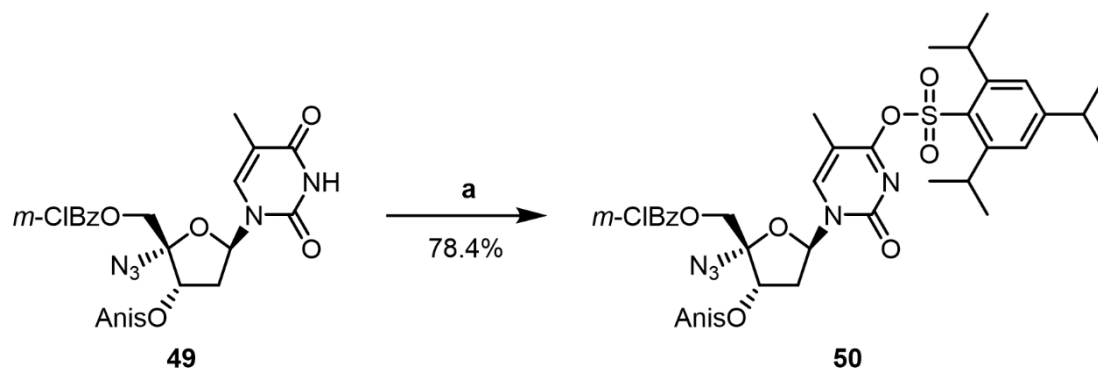


Keys; (a)  $I_2$ ,  $PPh_3$ , Pyridine, 1,4-Dioxane; (b) MeONa, MeOH; (c)  $NaN_3$ , ICl, DMF; (d) *p*-Methoxybenzoyl Chloride, Pyridine; (e)  $K_2PO_4$ , TBA-HS, *m*CBA, *m*CPBA, DCM/ $H_2O$ ; (f) 7M  $NH_3$ /MeOH

Scheme 2 Synthesis of compound 34

チミジンを出発原料として、アッペル反応にて選択的に 5'位の水酸基をヨウ素に置換した 45 を合成し、E2 脱離によって、4',5'-*exo*-olefin 体 46 を合成した。46 に対してアジ化ヨウ素の位置・立体選択的付加反応により 47 に誘導した後、3'位の水酸基を *p*-メトキシベンゾイルで保護し 48 とした。48 を *m*CPBA による超原子価ヨウ素の形成と、*p*-メトキシベンゾイルのカルボニル酸素による分子内求核置換反応にて環状構造を形成させ、続く 3-クロロ安息香酸アニオンの求核置換反応により 49 を合成した。その後、49 を 7M アンモニア性メタノールで脱保護することで目的物であった 34 を得た。

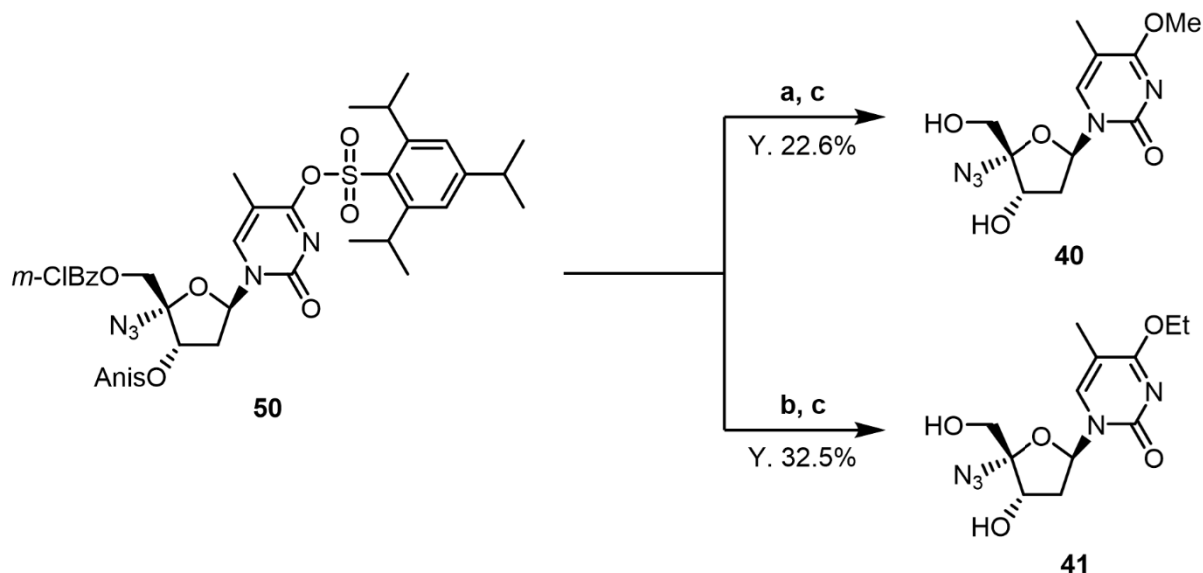
さらに、ピリミジン 4 位の置換を行うため、49 のピリミジン 4 位を活性化した鍵中間体 50 を合成した。(Scheme 3)



Keys; (a) 2,4,6-Triisopropylbenzenesulfonyl Chloride, TEA, DMAP, DCM

### Scheme 3 Synthesis of compound 50

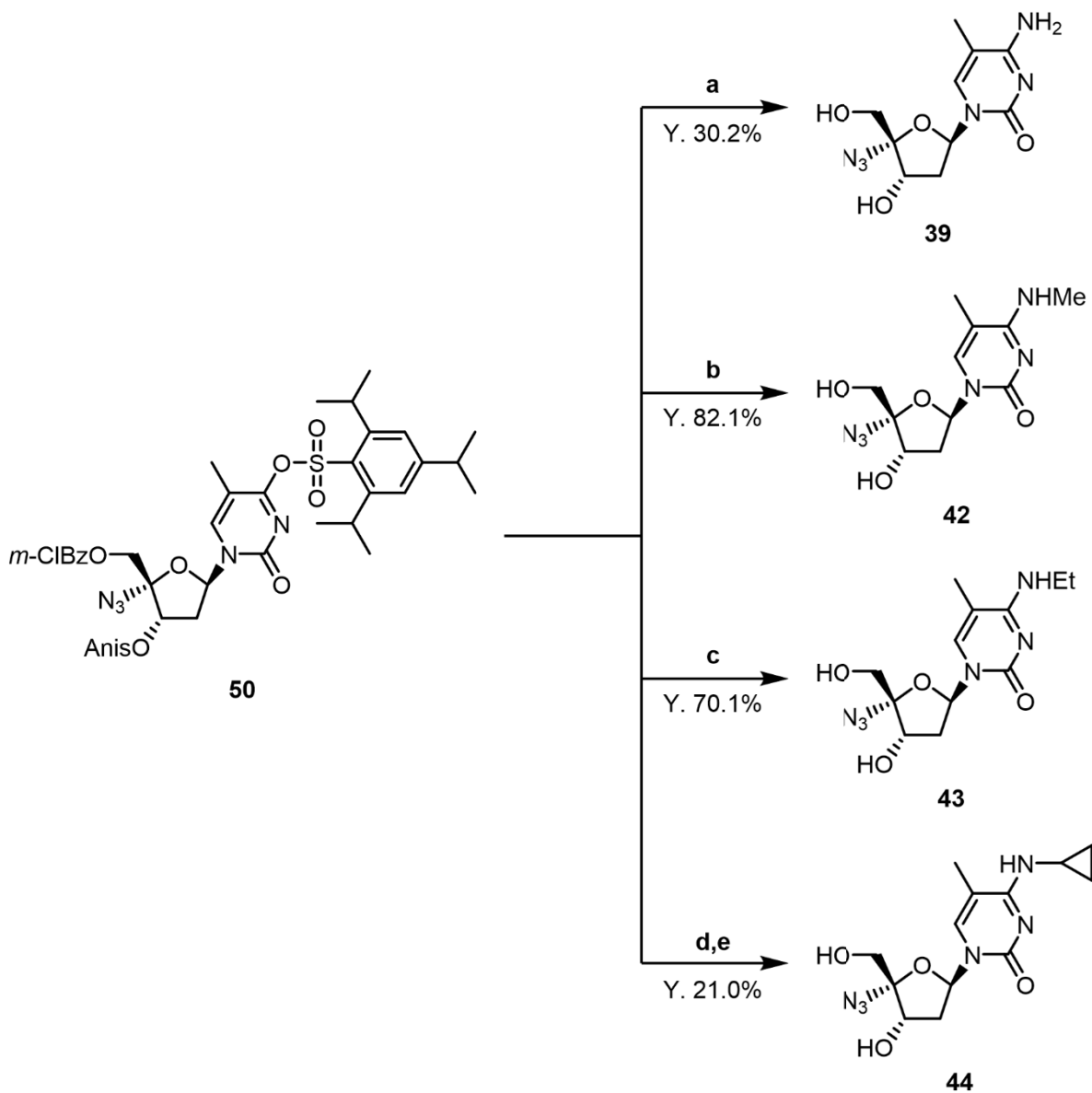
鍵中間体 **50** のピリミジン 4 位を DABCO で活性化し、対応するアルコールによる  $S_NAr$  反応を行い、脱保護することで **40-41** を合成した. (Scheme 4)



Keys; (a) DABCO, MS 3A, MeOH, DBU, 1,4-Dioxane; (b) DABCO, MS 3A, EtOH, DBU, 1,4-Dioxane; (c) 7M  $NH_3/MeOH$

### Scheme 4 Synthesis of compounds 40-41

また、鍵中間体 **50** を対応するアミンで処理することで、 $S_NAr$  反応にて **39, 42-43** を合成した. 一方、鍵中間体 **50** のピリミジン 4 位を DABCO で活性化し、シクロプロピルアミンで処理することで  $S_NAr$  反応にて化合物 **44** を得た. (Scheme 5)



Keys; (a) 5M NH<sub>3</sub>/MeOH; (b) 30% MeNH<sub>2</sub>/EtOH; (c) 2M EtNH<sub>2</sub>/EtOH; (d) DABCO, MS 3A, DBU, Cyclopropylamine, 1,4-Dioxane; (e) 7M NH<sub>3</sub>/MeOH

**Scheme 5** Synthesis of compounds **39**, **42-44**

次節にて抗 HBV 活性評価結果を記載する。

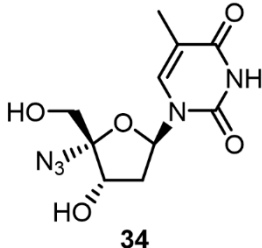
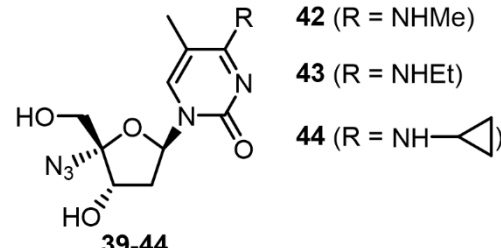

### 第3節 4'-アジド-5-メチル-4-置換ピリミジンヌクレオシドの抗 HBV 活性

抗 HBV 活性及び細胞毒性評価は、共同研究先である国立国際医療センターの満屋教授のグループに依頼した。

各化合物の抗 HBV 活性の評価は real-time PCR 法を用いた。コラーゲンコートされた 96 well plate に、HepG2 2.2.15 細胞を 1 well あたり  $4 \times 10^3$  個ずつ播き、様々な濃度に希釈した各化合物を 200  $\mu$ L 加えた。また、コントロールとして化合物溶液を加えない well を作成した。HepG2 2.2.15 細胞は HBV を持続産生する細胞株であり、*in vitro* の抗 HBV 活性を評価する際に汎用されている。この well plate を 37°C の CO<sub>2</sub> インキュベーターで 14 日間培養した。その際、3 日目と 7 日目に培養上清を除去し、再び各濃度に調整した各化合物を含む液体培地と交換した。培養後、液体培地上清を回収し、HBV DNA を抽出した。その後、定量的 PCR によって各 well における HBV DNA 量を測定し、コントロールの DNA 量と比較して EC<sub>50</sub><sup>HBV</sup> 値を算出した。

一方、細胞毒性は 96 well plate に MT-2 細胞を 1 well あたり  $2 \times 10^3$  個ずつ播き、各 well に様々な濃度に希釈した各化合物 200  $\mu$ L を加えた状態で培養した。その後、Cell Counting Kit-8 を用いて CC<sub>50</sub> 値を算出した。

合成した **34**, **39-44** 及びポジティブコントロールである ETV の抗 HBV 活性と細胞毒性の評価結果を **Table 3** にまとめた。

		EC <sub>50</sub> <sup>HBV</sup> ( $\mu$ M)	CC <sub>50</sub> <sup>MT-2</sup> ( $\mu$ M)	
	<b>39</b> (R = NH <sub>2</sub> )	<b>34</b>	0.63 ± 0.29	> 100
	<b>40</b> (R = OMe)	<b>39</b>	5.99 ± 5.54	> 100
	<b>41</b> (R = OEt)	<b>40</b>	> 100	> 100
	<b>42</b> (R = NHMe)	<b>41</b>	> 100	> 100
	<b>43</b> (R = NHEt)	<b>42</b>	> 100	> 100
	<b>44</b> (R = NH-  )	<b>43</b>	> 100	> 100
		<b>44</b>	> 100	> 100
		<b>ETV</b>	0.00675 ± 0.000353	57.2 ± 5.20

**Table 3** Anti-HBV activity and cytotoxicity of compounds **34**, **39-44** and ETV

最も高い抗 HBV 活性を示した化合物は **34** であり、EC<sub>50</sub><sup>HBV</sup> = 0.63 ± 0.29

$\mu\text{M}$  であった。また、**39** にも中程度の抗 HBV 活性が確認され、 $\text{EC}_{50}^{\text{HBV}} = 5.99 \pm 5.54 \mu\text{M}$  であった。これら **34** 及び **39** には細胞毒性は確認されなかった ( $\text{CC}_{50}^{\text{MT-2}} > 100 \mu\text{M}$ )。

一方、 $N^4/O^4$  アルキル体 **40-44** には細胞毒性は確認されなかったものの、抗 HBV 活性も確認されなかった。

次節にて結果について考察する。

#### 第4節 考察

本章では、抗 HBV 活性を持つ新規 NAs として 4'-アジド-5-メチル-4-置換ピリミジンヌクレオシドを設計し、その合成を達成した。

4'-アジドチミジンの合成を 6 工程、通算収率 22.0% で達成した。また、4'-アジド-5-メチル-4-置換ピリミジンヌクレオシドの合成で重要な鍵中間体 **50** の合成を 6 工程、通算収率 17.3% で達成した。その後、 $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  反応による塩基部 4 位の置換に成功し、収率は 21.0-82.1% であった。

本章で設計した化合物で最も高い抗 HBV 活性を有していたのは **34** であり ( $\text{EC}_{50}^{\text{HBV}} = 0.63 \pm 0.29 \mu\text{M}$ )、**39** も抗 HBV 活性を有していた ( $\text{EC}_{50}^{\text{HBV}} = 5.99 \pm 5.54 \mu\text{M}$ )。また、**34** 及び **39** には細胞毒性は確認されなかった ( $\text{CC}_{50}^{\text{MT-4}} > 100 \mu\text{M}$ ) ことから **34** 及び **39** は有望なリード化合物であると考えられる。さらに興味深いことに、4'-アジドデオキシシチジンは高い毒性が確認されていた ( $\text{CC}_{25}^{\text{MT-2}} = 0.21 \mu\text{M}$ )<sup>[56]</sup> が、塩基が 5-メチルシトシンである **39** の場合、抗 HBV 活性を維持しつつ毒性が低減した。したがって、ピリミジン 5 位にメチル基を有することで毒性低減につながることを示唆された。また、FNC は  $N^4$  アルキル化することで細胞毒性を低減しつつ、抗 HBV 活性を維持していたが、**40-44** については抗 HBV 活性を呈さなかった。このことから、ピリミジン 5 位にメチル基を有し、さらに  $N^4/O^4$  をアルキル化した場合、逆転写酵素の基質とならず抗 HBV 活性は著しく低下することが示唆された。以上のことから、抗 HBV 活性を有する 4'-置換 NAs において、塩基骨格としてチミン及び 5-メチルシトシンが有望であると考えられる。

このことは今後、抗 HBV 活性を有する新規 4'-置換 NAs を設計していく上で非常に有益な情報である。

### 第3章 4'-置換イソヌクレオシドに関する検討

#### 第1節 序

DNA の基本単位であるヌクレオチドはリン酸、糖、塩基が結合した構造であり、リン酸部を除いた構造をヌクレオシドと呼ぶ。(Fig.17)

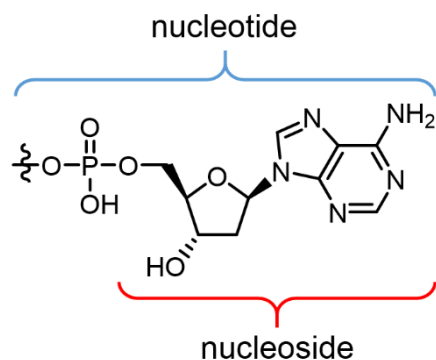
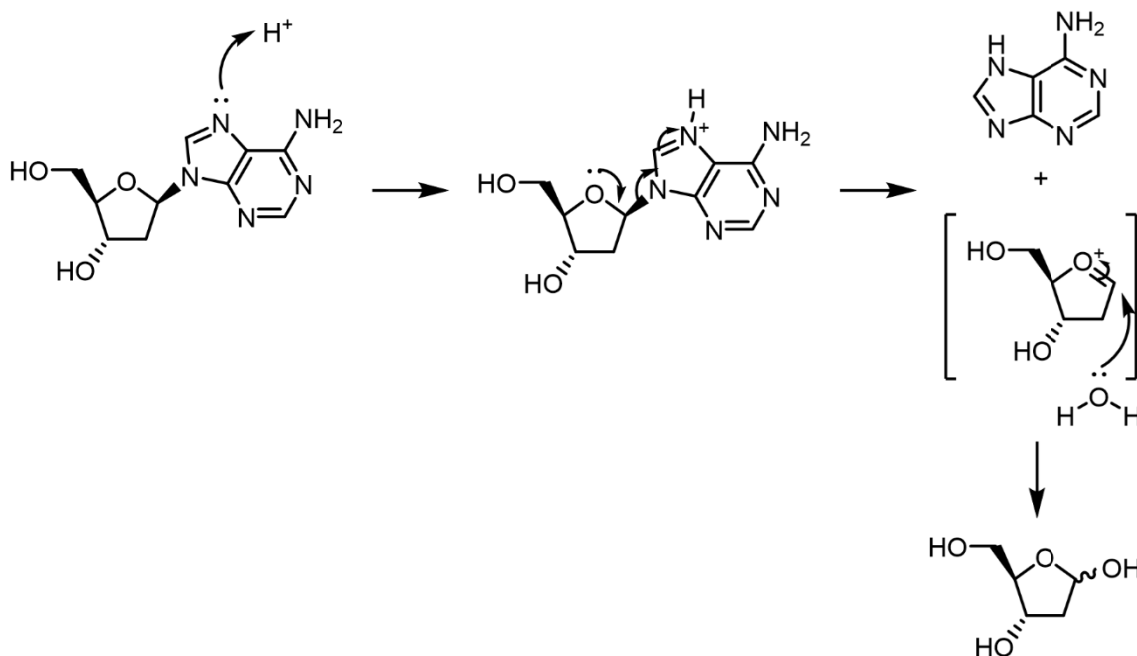


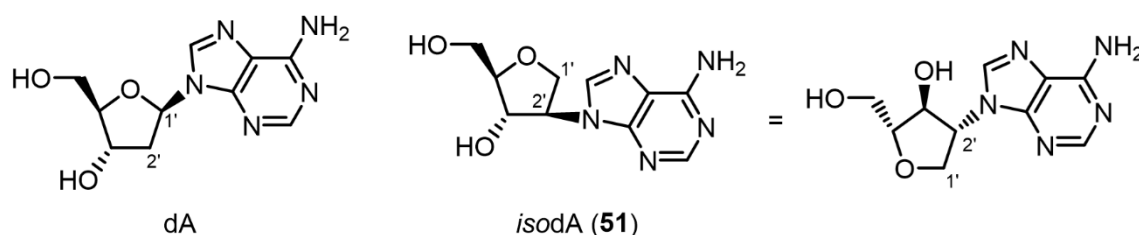
Fig.17 Nucleotide and nucleoside

しかし、ヌクレオシドは酸性条件で糖と塩基に加水分解されることが報告されている。特に、プリン塩基の場合、塩基部 7 位がプロトン化され、O4 の非共有電子対の押し込みによって塩基の脱離が生じる。(Scheme 6)<sup>[70]-[73]</sup>



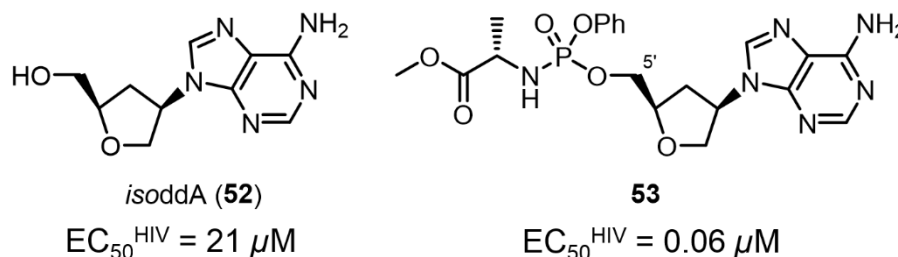
この加水分解を回避するため、通常のヌクレオシドと異なり、塩基が糖の2'位に結合したヌクレオシド (51) が合成され、酸性条件で安定であるこ

とが報告された.[74]-[76] この化合物群をイソヌクレオシドと呼ぶ. (Fig.18)



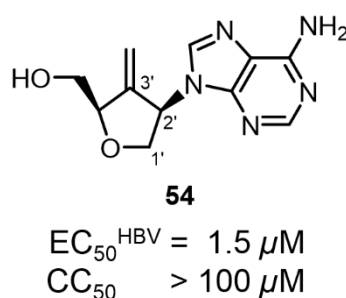
**Fig.18** Structure of *isonucleoside*

さらに、3'位に水酸基を持たない *isodda* (52) は抗 HIV 活性 ( $EC_{50}^{HIV} = 21 \mu M$ ) が報告され、5'位の水酸基をリン酸アミダイト化した *isodda* (53) は抗 HIV 活性が大幅に向上 ( $EC_{50}^{HIV} = 0.06 \mu M$ ) することが報告された. (Fig.19)<sup>[77]</sup> このことは *isodda* が細胞内のキナーゼによるリン酸化をうけにくいことを示唆している.<sup>[78]</sup>



**Fig.19** Structure of *isonucleosides* 52-53 their anti-HIV activity

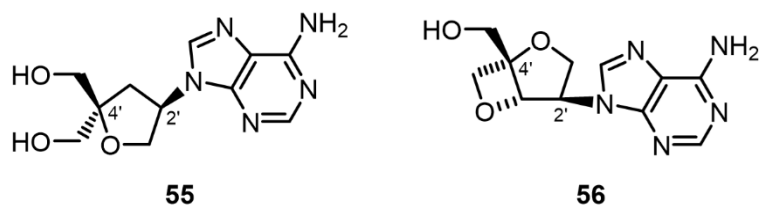
また、Jeong らは ETV の有するエキソオレフィン構造から着想し、イソヌクレオシドの3'位にエキソメチレンを導入した 54 が抗 HBV 活性 ( $EC_{50}^{HBV} = 1.5 \mu M$ ) を有することを報告した. (Fig.20)<sup>[79]-[81]</sup>



**Fig.20** Structure of compound 54 and anti-HBV activity and cytotoxicity

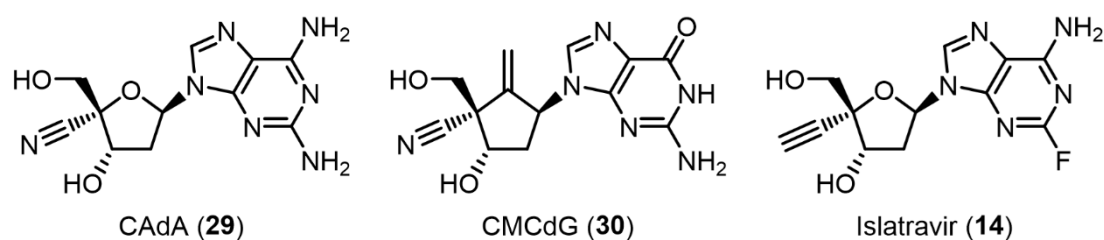
一方、前述したように 4'-置換 NAs は高い抗ウイルス活性を有しているものが数多く報告されている. しかしながら、イソヌクレオシドの4'位に置換基を導入した化合物の報告は少なく、ヒドロキシメチル基を導入した 55 及び、環状エーテル構造を形成した 56 が報告されている程度である. (Fig.21)<sup>[82]-[83]</sup>





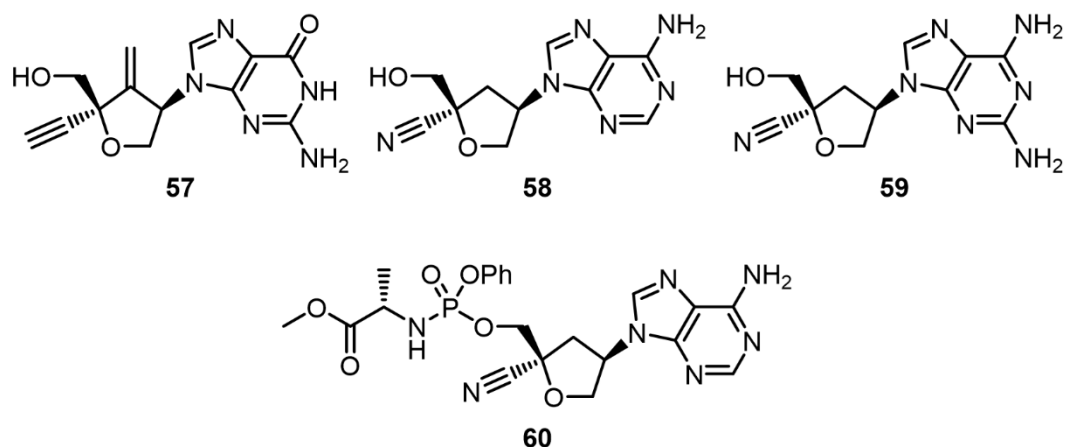
**Fig.21** Structure of 4'-substituted isonucleosides **55-56**

以上をふまえ、イソヌクレオシドのさらなる抗ウイルス活性の向上を期待して、イソヌクレオシドの 4'位に置換基を有する NAs を設計した. 4'位の置換基として CAdA (**29**) や CMCdG (**30**) が有するシアノ基及び、Islatravir (**14**) が有するエチニル基を選択した. (**Fig.22**)



**Fig.22** Structure of 4'-substituted NAs **14, 29-30**

すなわち、CMCdG のようにエキソメチレンを有しつつ、イソヌクレオシドの 4'位にエチニル基またはシアノ基を導入した **57-58** を設計した. また、isodda の 4'位にシアノ基を導入した **59** 及び CAdA のように塩基部をジアミノプリンとした **60** を設計した. さらに、抗ウイルス活性の向上を期待して **59** のリン酸アミダイトプロドラッグ **61** を設計した. (**Fig.23**)



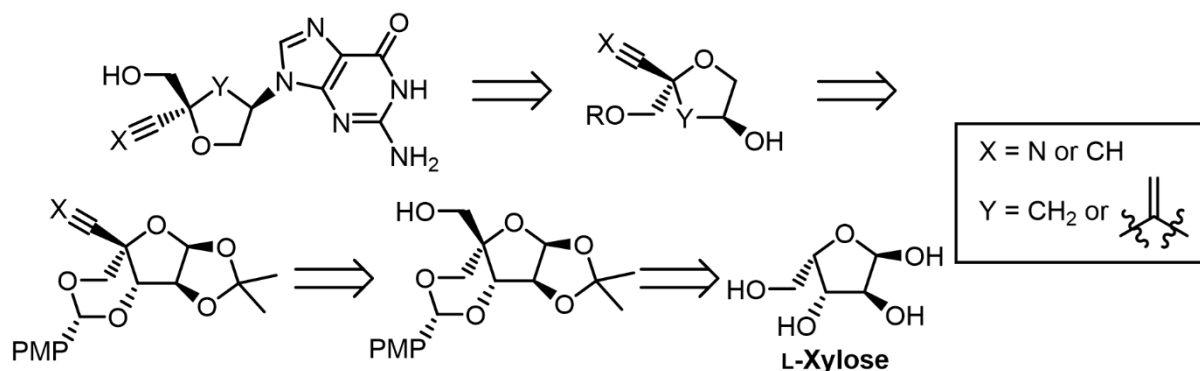
**Fig.23** Structure of compounds **57-60**

これら **57-61** を合成し、その抗 HBV 活性及び抗 HIV 活性、そして細胞毒性を評価することとした. 以下、詳細について述べる.

## 第2節 4'-置換イソヌクレオシドの合成に関する検討

### 第1項 4'-置換イソヌクレオシドの合成計画

4'-置換イソヌクレオシドの逆合成解析を **Scheme 7** に示す.

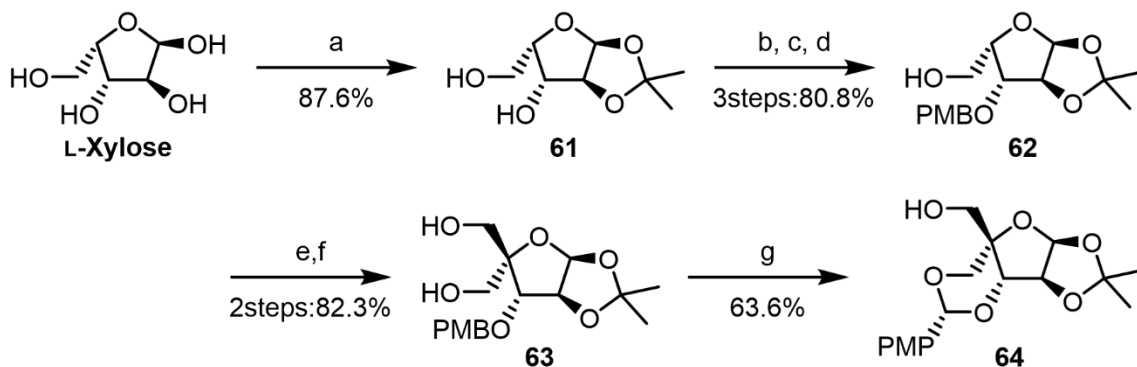


**Scheme 7** Retro synthetic analysis of 4'-substituted *isonucleosides*

4'-置換イソヌクレオシドはあらかじめエチニル基またはシアノ基を構築した糖骨格を合成し、光延反応にて塩基部を導入することで合成できると考えた。糖骨格部分はヒドロキシメチル体を経由することでエチニル基及びシアノ基に誘導できると考え、このようなヒドロキシメチル体は L-キシロースから合成できると考えた。

### 第2項 4'-エチニル-3'-エキソメチレンイソジデオキシグアノシンの合成

L-キシロースを出発原料として、アセトンと濃硫酸による 1,2-イソプロピリデン保護を行った **61** を合成した。<sup>[84]</sup> その後、5 位の 1 級水酸基を選択的にジメトキシトリチルにて保護した後、3 位の水酸基を *p*-メトキシベンジル保護し、酸性条件にて 5 位のジメトキシトリチルを脱保護することで、**62** へ誘導した。**62** の 1 級水酸基を Moffatt 酸化によってアルデヒドとした後、Aldol-Cannizzaro 反応にて 4-*C*-ヒドロキシメチレン体 **63** を合成した。その後、2,3-ジクロロ-5,6-ジアノ-*p*-ベンゾキノン (DDQ) で処理することで、立体選択的な分子内環化反応によって *p*-メトキシベンジリデン体 **64** を合成した。(Scheme 8)



**Keys;**(a) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Acetone; (b) DMTr Chloride, Pyridine; (c) NaH, PMB Chloride, THF, DMF; (d) PTSA-H<sub>2</sub>O, DCM; (e) Pyridine, EDC-HCl, TFA, DMSO, Toluene; (f) HCHOaq, NaOHaq, 1,4-Dioxane; (g) DDQ, MS 3A, DCM

### Scheme 8 Synthesis of compound 64

64 は単結晶が得られたため X 線結晶構造解析にて立体構造を確認した。  
(Fig.24)

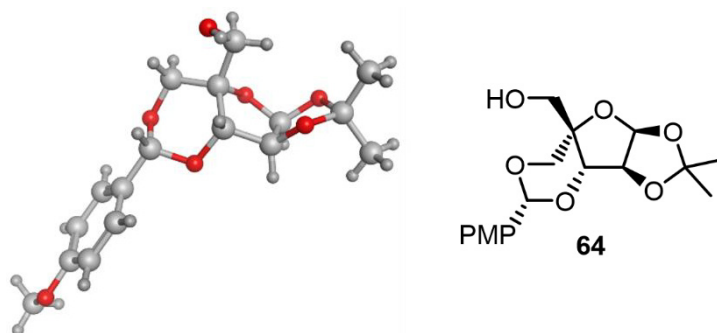
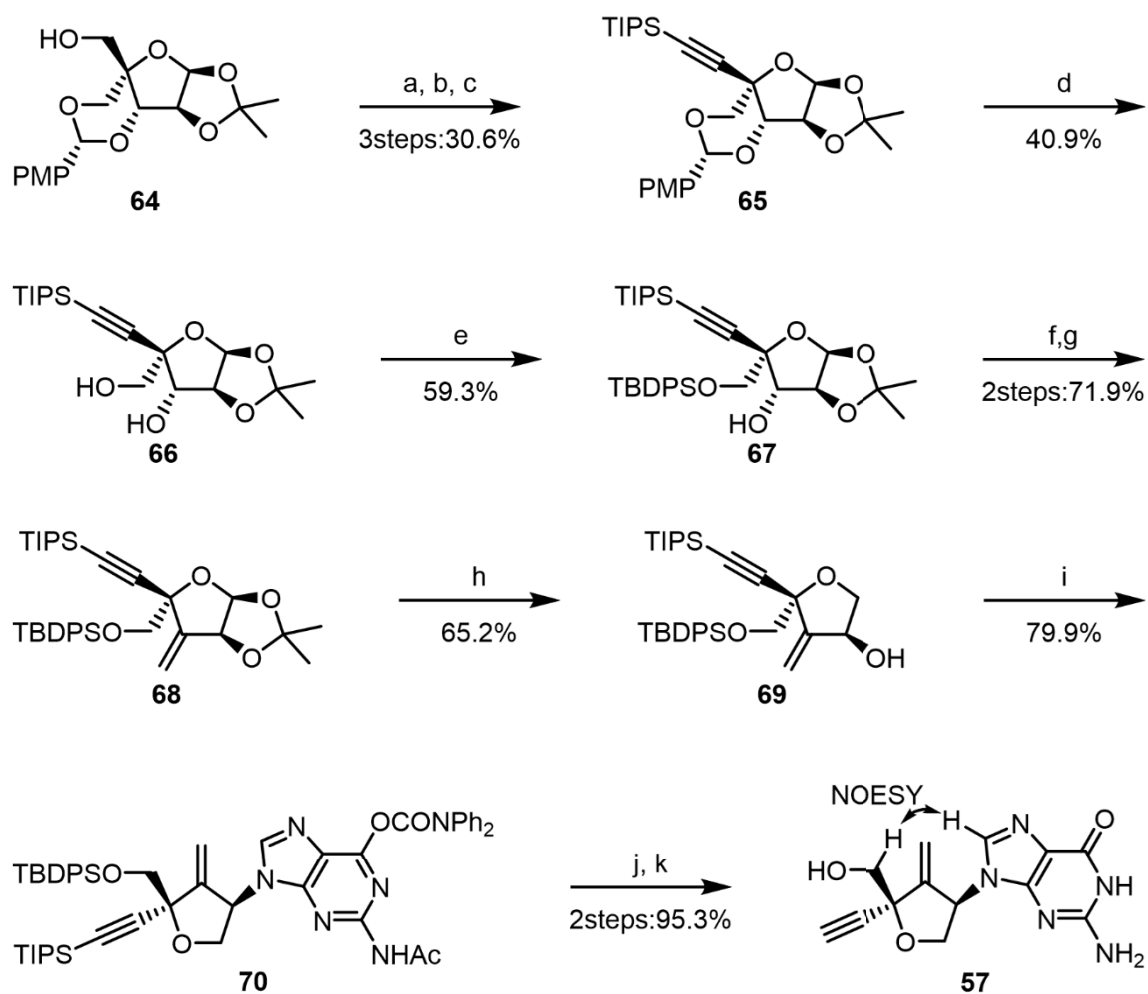


Fig.24 X-ray crystal structure of compound 64

64 の水酸基をニトロキシラジカル酸化によってアルデヒドとした後、Corey-Fuchs アルキン合成にてアルデヒドをエチニル基に変換しつつ、エチニル基の先端をトリイソプロピルシリルで保護した 65 を合成した。65 を酸性条件にて選択的に *p*-メトキシベンジリデンを脱保護し、66 へと誘導した後、5 位の 1 級水酸基を選択的に TBDPS で保護した 67 を合成した。67 をニトロキシラジカル酸化することで 3 位の水酸基をケトンとした後に Wittig 反応にて 3-エキソメチレン体 68 を合成した。その後、三フッ化ホウ素存在下、脱酸素を伴う還元的イソプロピリデンの脱保護を行い、69 を合成した。69 に対して 2 位及び 6 位を保護したグアニンを光延反応にて導入し、70 とした後、全ての保護基の脱保護を行い、4'-エチニル-3'-エキソメチレンイソジデオキシグアノシン (57) の合成を達成した。57 の立体構造は

NOESYにてプリン8位の水素と5'位の水素のクロスピークにて確認した。

(Scheme 9)

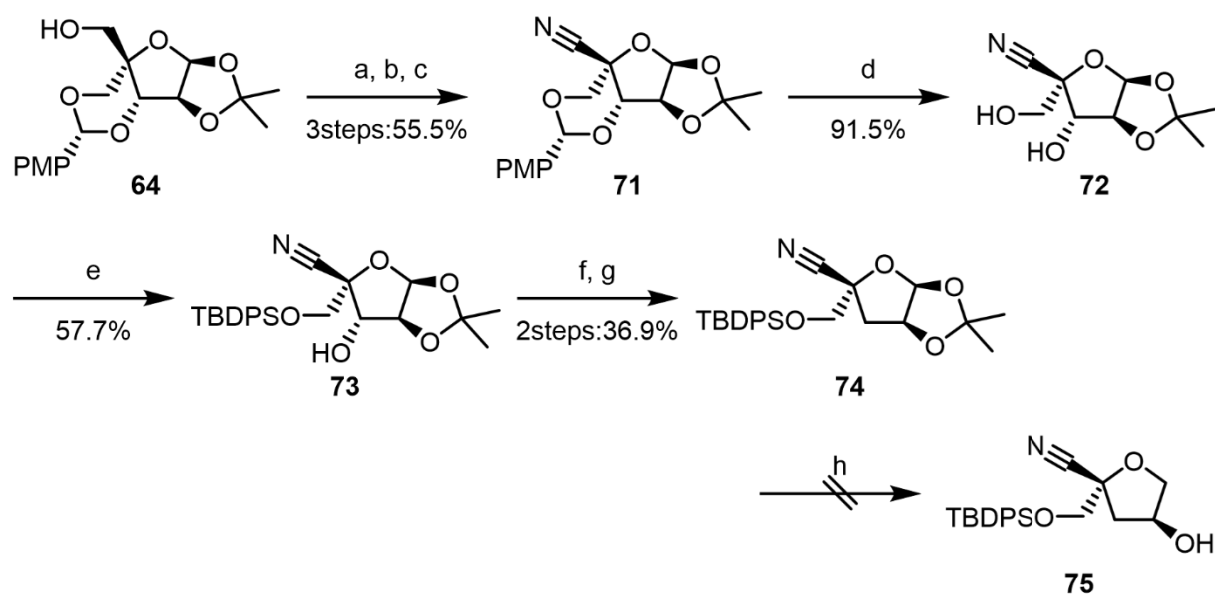


**Keys;**(a) nor-AZADO, KBr, NaClOaq, NaHCO<sub>3</sub>aq, DCM; (b) PPh<sub>3</sub>, CBr<sub>4</sub>, DCM; (c) *n*-BuLi, TIPS Chloride, THF; (d) 70% AcOHaq.; (e) TBDPS Chloride, DMAP, TEA, DCM; (f) nor-AZADO, KBr, NaHCO<sub>3</sub>aq, NaClOaq, DCM; (g) MePPh<sub>3</sub>Br, *tert*-BuOK, THF; (h) Et<sub>3</sub>SiH, BF<sub>3</sub>-Et<sub>2</sub>O, DCM

Scheme 9 Synthesis of 4'-ethynyl-3'-*exo*-methylene isoddG

### 第3項 4'-シアノイソジデオキシアデノシンの合成

4'-シアノイソジデオキシアデノシン (**58**) は **64** から誘導できると考えた。(Scheme 10)

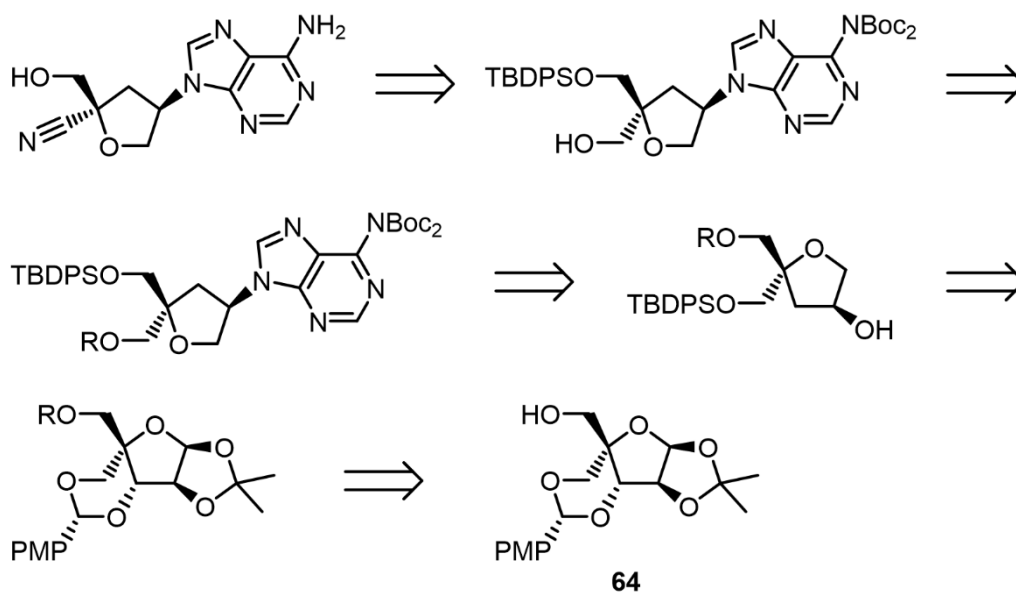


**Keys:**(a) nor-AZADO, KBr, NaClO<sub>aq</sub>, NaHCO<sub>3</sub>aq, DCM; (b) NH<sub>2</sub>OH-HCl, Pyridine; (c) CDI, MeCN; (d) AcOHaq; (e) TBDPS Chloride, DMAP, TEA, DCM; (f) TCDI, DMAP, DCM; (g) AIBN, Bu<sub>3</sub>SnH, Toluene; (h) BF<sub>3</sub>-Et<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>SiH, DCM

Scheme 10 Synthesis of 4'-cyano isodda

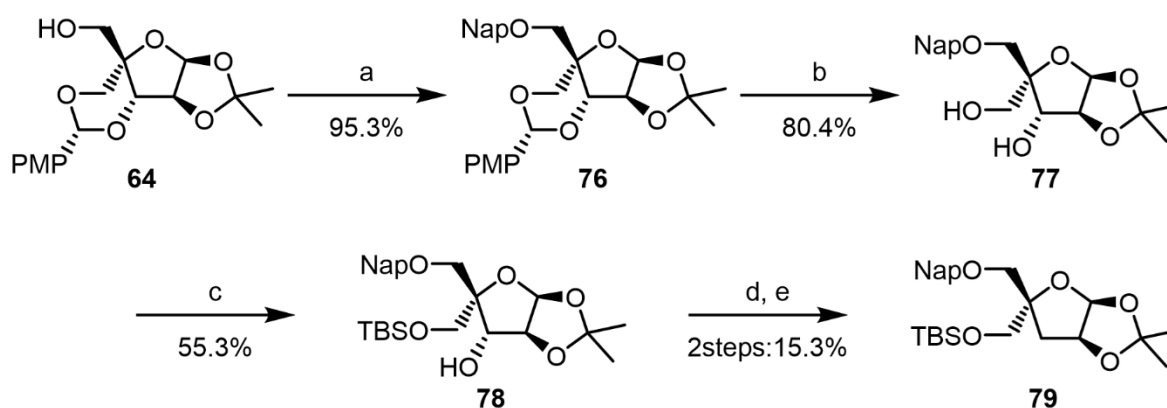
**64** の水酸基をニトロキシラジカル酸化によってアルデヒドとした後、ヒドロキシルアミンで処理してアルドキシム体とした。その後、カルボニルジイミダゾールで脱水することでシアノ体 **71** を合成した。その後、前項と同様に *p*-メトキシベンジリデンの脱保護を行い、さらに 1 級水酸基を選択的に TBDPS で保護した **73** を合成した。**73** を Barton-McCombie 脱酸素化のより **74** とした後、三フッ化ホウ素存在下、脱酸素を伴う還元的イソプロピリデン脱離を行い **75** の合成を試みた。しかしながら、目的物を得ることはできず、シアノ基が脱離した複雑な副生成物が複数生じた。このことから、シアノ基存在下、ルイス酸を使用することはできないことが示唆され、計画した合成経路は不適切であると考えた。

そのため、**64** の 1 級水酸基を一旦保護し、塩基部を導入した後に脱保護を行い、シアノ基へと変換することとした。逆合成解析を **Scheme 11** に示す。



**Scheme 11** Retro synthetic analysis of 4'-cyano *isoddA* via protection

1 級水酸基の保護基として、まずは Nap (2-ナフチルメチル) を選択した.  
(Scheme 12)



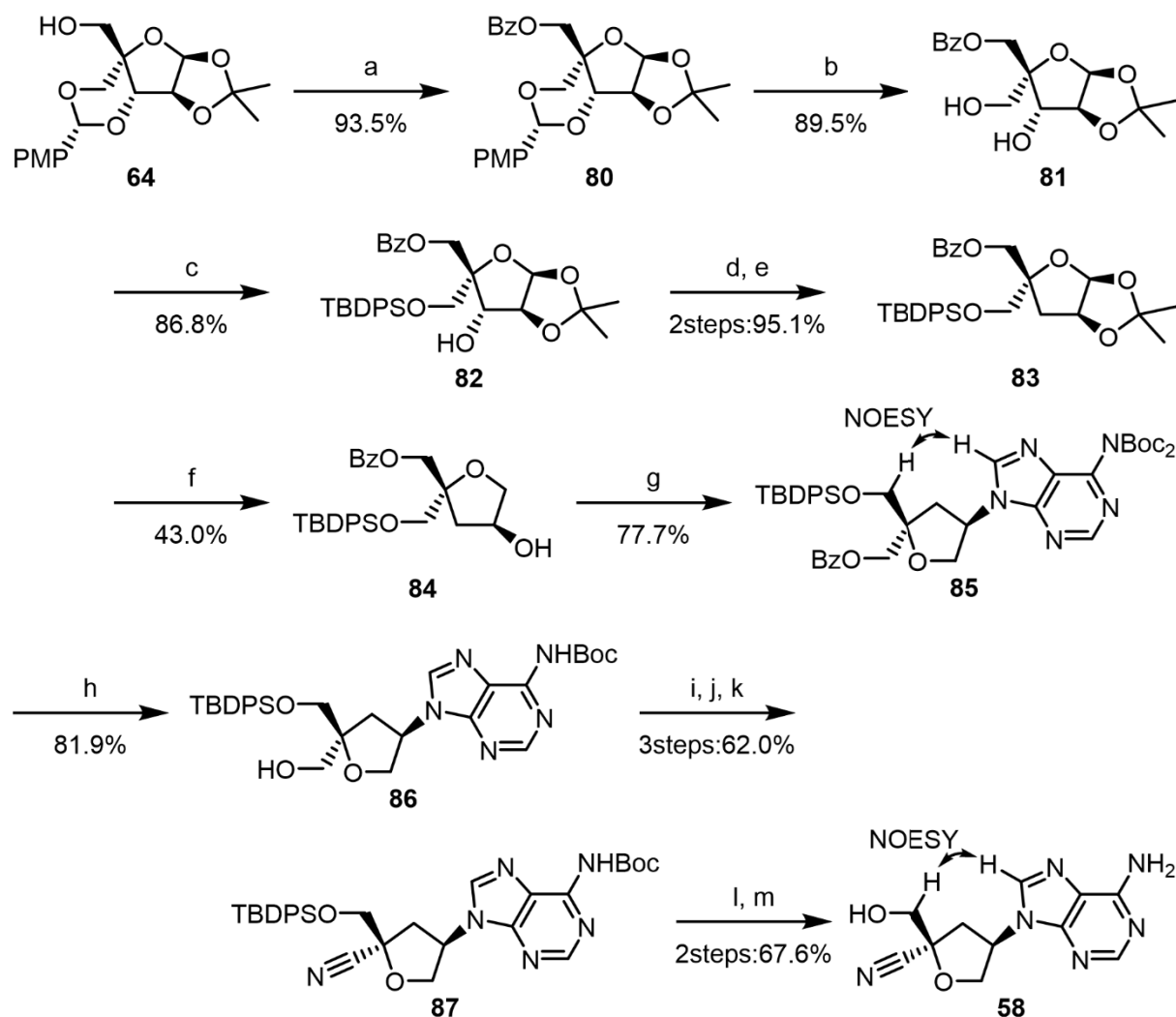
**Keys;**(a) 2-(MeBr)Naphthalene, NaH, THF, DMF; (b) AcOHaq; (c) TBS Chloride, DMAP, TEA, DCM; (d) TCDI, DMAP, DCM; (e) AIBN, Bu<sub>3</sub>SnH, Toluene

**Scheme 12** Synthesis of 4'-cyano *isoddA* via naphthylmethyl protection

**64** を Nap にて保護し **76** とした後に、*p*-メトキシベンジリデンの脱保護を行い、さらに 1 級水酸基を選択的に TBS で保護した **78** を合成した。その後、Barton-McCombie 脱酸素化を行ったところ、多くの副生成物が生じ、収率が低く、かつ分離困難な副生成物が確認された。このような副生成物は Nap 保護により生じていると考えた。Barton-McCombie 脱酸素化はラジカル反応であり、Nap のベンジル位にてベンジルラジカルが形成され、ベンジル位での反応が起きることで複雑な副生成物が生じていると考えられ

た.

したがって、保護基の変更が必要であると考え、新たな保護基として Bz (ベンゾイル) を選択した. (Scheme 13)



**Keys;**(a) Bz Chloride, Pyridine, DCM; (b) 70% AcOHaq.; (c) TBDPS Chloride, Imidazole, DMF; (d) CS<sub>2</sub>, Mel, NaH, THF; (e) AIBN, TTMSS, Toluene; (f) BF<sub>3</sub>-Et<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>SiH, DCM; (g) PPh<sub>3</sub>, N<sup>6</sup>-diBocAdenine, Bis(2-methoxyethyl) Azodicarboxylate, THF; (h) 7M NH<sub>3</sub>/MeOH; (i) DMP, DCM; (j) NH<sub>2</sub>OH-HCl, Pyridine; (k) CDI, MeCN; (l) HCOOHaq; (m) NH<sub>4</sub>F, MeOH

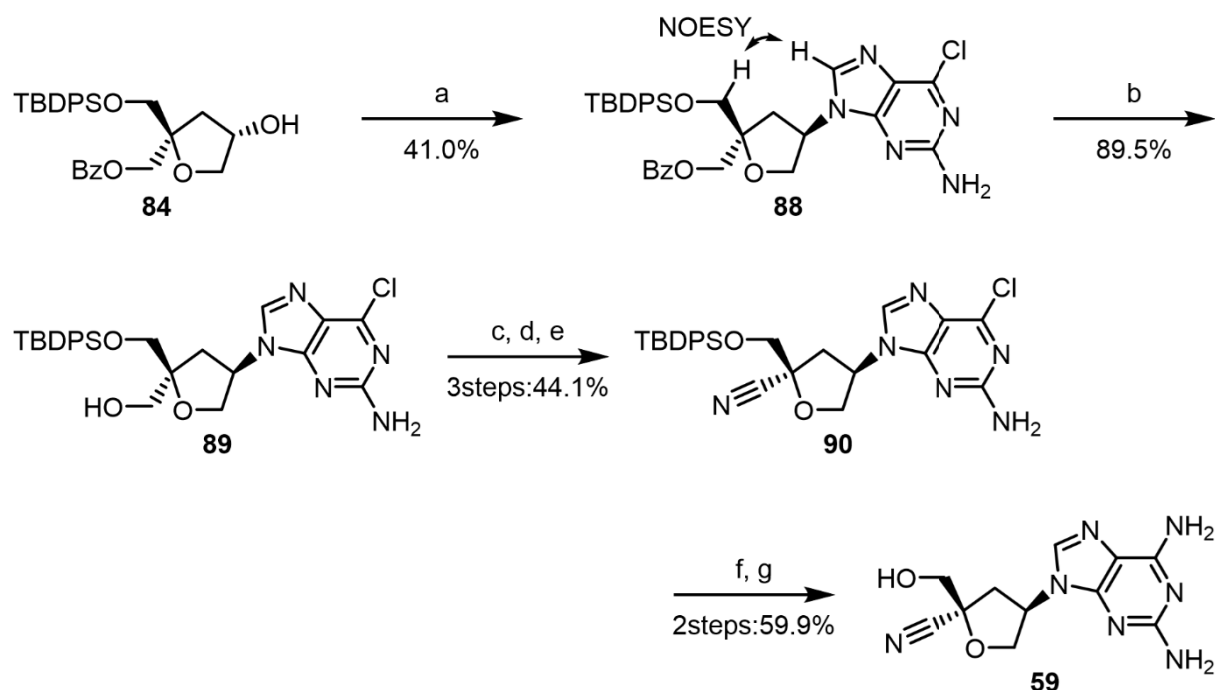
**Scheme 13** Synthesis of 4'-cyano *isoddA* via benzoyl protection

64 を Bz で保護し, 80 とした. その後, *p*-メトキシベンジリデンの脱保護, TBDPS による選択的 1 級水酸基の保護を行い, 82 とした. さらに Barton-McCombie 脱酸素化により, デオキシ体 83 に誘導した. さらに, 三フッ化ホウ素存在下, 還元的イソプロピリデンの脱保護を行い, 84 とした後, 光延反応にて N<sup>6</sup> を Boc 保護したアデニンを導入し, 85 を合成した. 85 を塩基

性条件で Bz の脱保護を行ったところ、塩基部の Boc が 1 つ脱離した  $N^6$  モノ Boc-4'-C-ヒドロキシメチル体 **86** とした。 **86** をデスマーチン酸化した後、ヒドロキシルアミンで処理してアルドキシム体とし、カルボニルジイミダゾールで脱水することでシアノ体 **87** へと誘導した。その後、**87** の保護基をすべて脱保護することで 4'-シアノイソジデオキシアデノシン (**58**) を得た。 **85** 及び **58** の立体構造は NOESY にてプリン 8 位の水素と 5' 位の水酸基のクロスピークにて確認している。

#### 第4項 2-アミノ-4'-シアノイソジデオキシアデノシンの合成

2-アミノ-4'-シアノイソジデオキシアデノシン (**59**) は **84** から誘導できると考えた。(Scheme 14)



**Keys**; (a) 2-amino-6-Chloro-purine, PPh<sub>3</sub>, DIAD, THF; (b) 7M NH<sub>3</sub>/MeOH; (c) DMP, DCM; (d) NH<sub>2</sub>OH-HCl, Pyridine; (e) CDI, MeCN; (f) 7M NH<sub>3</sub>/MeOH; (g) TBAF, THF

#### Scheme 14 Synthesis of 2-amino-4'-cyano isodda

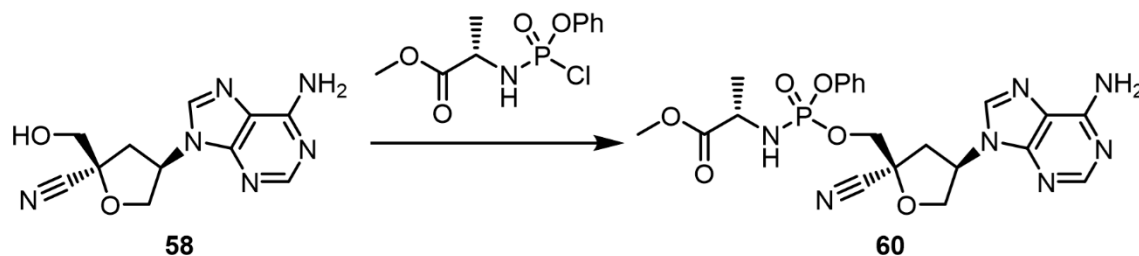
**84** から光延反応にて 2-アミノ-6-クロロプリンを導入した **88** を合成した。その際、副生成物として 2 位のアミノ基が糖と結合した化合物が生じたため、収率が低下した。その後、Bz を脱保護して **89** とした後、前項と同様に 3 工程で 4' 位をシアノ基へと誘導した **90** を合成した。さらにプリン 6 位の S<sub>N</sub>Ar 反応によるアミノ化と TBDPS の脱保護を行い、**59** の合成を達成した。



**88** の立体構造は NOESY にてプリン 8 位の水素と 5' 位の水酸基のクロスピークにて確認している.

#### 第5項 4'-シアノイソジデオキシアデノシンリン酸プロドラッグの合成

イソヌクレオシドはリン酸化を受けにくいこと報告されていたため, **58** のホスホロアミダイトプロドラッグ **60** を合成することとした. (Scheme 15)



Scheme 15 Synthesis of 4'-cyano *isodda* phosphoramidite

(フェニルメトキシアラニル) ホスホクロリデートにてホスホロアミダイト化した **60** を合成した. 得られた **60** は, リンを不斉中心とするジアステレオマー混合物であり, NMR の結果からその存在比は 5:3 であった.

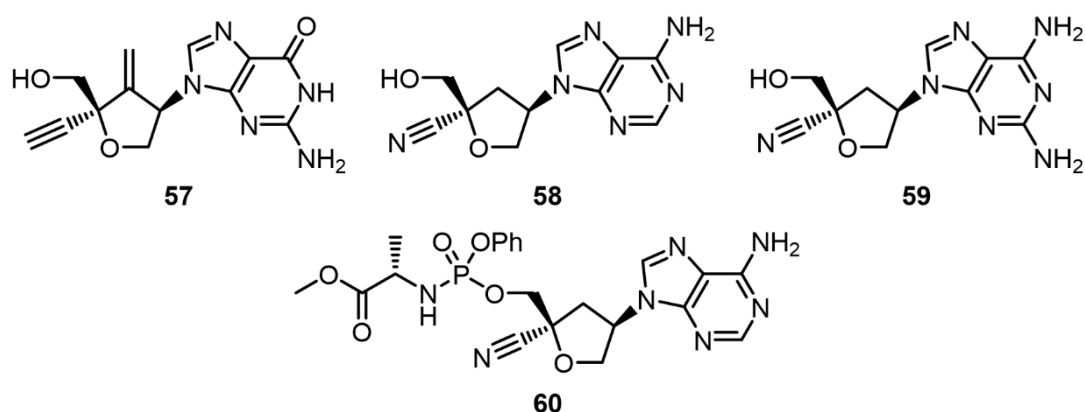
次節にて合成した **57-60** の抗ウイルス活性及び, 細胞毒性の評価結果について述べる.

### 第3節 4'-置換イソヌクレオシドの抗ウイルス活性及び細胞毒性評価

第2章と同様に、抗ウイルス活性及び細胞毒性評価は、共同研究先である国立国際医療センターの満屋教授のグループに依頼した。抗HBV活性及び、細胞毒性については第2章・第3節と同様である。

抗HIV活性及び細胞毒性の評価としてMTT assay法を用いた。96 well plateに1 wellあたりRPMI 1640に希釈した化合物を10倍ずつ希釈して100  $\mu$ Lずつ加えた。そして、各wellにHIVとMT-2細胞を加えた ( $2 \times 10^3$  個/well)。その際、あらかじめHIVの滴定を行い、100 TCID<sub>50</sub>の濃度となるように調整を行っている。また、コントロールとしてMT-2細胞のみを加えたwellを作成し、37°CのCO<sub>2</sub>インキュベーターで7日間培養した。鏡検にて合胞体形成確認後、各wellより上清を100  $\mu$ Lずつ除去し、MTT試薬を10  $\mu$ Lずつ加え、37°CのCO<sub>2</sub>インキュベーターで4時間呈色反応を行った。その後、MTT可溶化溶液を100  $\mu$ L加えてホルマザンの結晶を溶解した後、マイクロプレートリーダーにて各wellの570nmの吸光度を測定し、EC<sub>50</sub>を算出した。

合成した57-60及び抗HBV活性のポジティブコントロールであるETVの抗ウイルス活性と細胞毒性の評価結果をTable 4にまとめた。



	EC <sub>50</sub> <sup>HBV</sup> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> <sup>HIV</sup> ( $\mu$ M)	CC <sub>50</sub> <sup>MT-2</sup> ( $\mu$ M)
57	> 1	> 1	> 100
58	> 100	> 100	> 100
59	> 100	> 100	> 100
60	> 100	61.4 $\pm$ 23.3	> 100
ETV	0.003	> 1	> 100

Table 4 Anti-virus activity and cytotoxicity of compounds 57-60 and ETV

本章で合成した NAs において抗 HBV 活性は確認されなかった。一方、**60** には抗 HIV 活性が確認されたことから、イソヌクレオシドはリン酸アミダイト化することで抗ウイルス活性が向上することが示唆された ( $EC_{50}^{HIV} = 61.4 \mu\text{M}$ )。さらに合成した NAs について細胞毒性は確認されなかった。

次節にて以上の結果について考察する。

#### 第4節 考察

本章では抗 HBV 活性を期待し、4'-置換イソヌクレオシド (**57-60**) を新規 NAs として設計した。これら新規 NAs は L-キシロースを出発原料として7工程で得られる鍵中間体 **64** を経由して合成した。

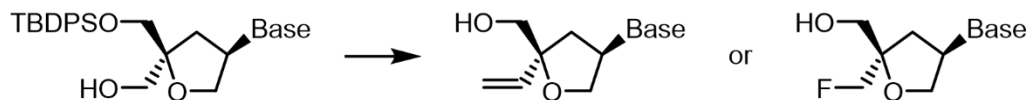
4'-エチニル-3'-エキソメチレンイソジデオキシグアノシン (**57**) を合成するため、**64** から8工程でエチニル基を有する糖骨格 **69** へと誘導した。**69** に対し、光延反応にて塩基部を導入後、脱保護を経て **57** の合成を達成した。**57** は L-キシロースから18工程、通算収率 0.843% で得られた。

また、4'-シアノイソジデオキシシアデノシン (**58**) を合成するため、**57** の合成経路と同様、あらかじめシアノ基を構築した糖骨格 **74** を合成し、ルイス酸とトリエチルシランによる還元的脱保護を試みたが、シアノ基の脱離が生じた。そこで、還元的脱保護を行った後にシアノ基を構築することとし、水酸基をベンゾイルにて保護した **84** を合成した後、光延反応にて塩基部を導入した。その後、ベンゾイルの脱保護を行い、定法にてシアノ基へと誘導し脱保護を経て **58** の合成を達成した。さらに、**58** を (フェニルメトキシアラニル) ホスホクロリデートにて処理することでホスホアミダイト化した **60** を合成した。**58** は L-キシロースから20工程、通算収率 2.94%、**60** は L-キシロースから21工程、通算収率 0.272% にて合成を達成した。

さらに、2-アミノ-4'-シアノイソジデオキシシアデノシン (**59**) を合成するため、**84** から光延反応にて塩基として2-アミノ-6-クロプリンを導入した。その後、シアノ基への誘導と6位のアミノ基への置換及び脱保護を経て **59** の合成を L-キシロースから20工程、通算収率 0.992% にて達成した。

**58-60** の合成経路は塩基部導入後、4'相当位にヒドロキシメチル基を有するため、イソヌクレオシドの4'位をビニル基やフルオロメチル基など幅広い置換基へ誘導することが可能である。つまり、今回確立した合成経路は、

4'-置換イソヌクレオシドの塩基部及び 4'位置換基の網羅的合成に活用でき、構造最適化を進めていく上で大きな利点である。(Scheme 16)



Scheme 16 Other 4'-substituted isoNAs

**57-60** の抗ウイルス活性及び細胞毒性を調べたところ、全ての化合物が細胞毒性を有していなかったものの、残念ながら抗 HBV 活性は認められなかった。HIV は HBV と同様に逆転写酵素をもつため、**57-60** の抗 HIV 活性についても検討した。その結果、**58** に顕著な抗 HIV 活性はないが、そのリン酸プロドラッグである **60** のみ弱い抗 HIV 活性が認められた ( $EC_{50}^{HIV} = 61.4 \mu M$ )。イソヌクレオシドはキナーゼによるリン酸化が起こりにくいことが報告されているが、4'-置換イソヌクレオシドについてもリン酸化が起こりにくいことが示唆された。なお、**59**, **61** の抗 HIV 活性はシアノ基を有さない **52**, **53** より低下したものの (**52**:  $EC_{50}^{HIV} = 21 \mu M$ , **53**:  $EC_{50}^{HIV} = 0.06 \mu M$ ), 毒性は改善された (**53**:  $CC_{50}^{MT-4} = 2.9 \mu M$ )。 (Fig.25)

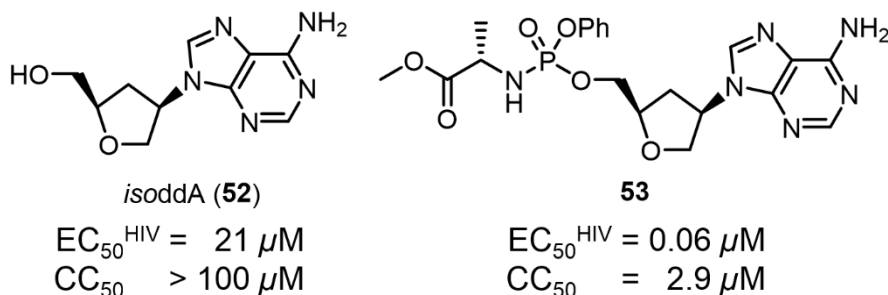


Fig.25 Anti-HIV activity and cytotoxicity of compounds **52**, **53**

毒性の軽減はイソヌクレオシドの 4'位にシアノ基を導入したことで立体配座が変化し、宿主細胞のポリメラーゼの基質となりにくくなったためと考えられる。新規 NAs として開発を進めるためには高い抗 HBV 活性を有していることにくわえ、細胞毒性が低いことも極めて重要である。したがって、今回合成した化合物群が塩基の種類を問わず細胞毒性を有していなかったことは、新規 NAs の基本骨格として期待できることを示唆している。今後、4'位の置換基及び塩基部の構造最適化を検討することで、抗 HBV 活性を有する骨格を発見した暁には、安全性の高い新規 NAs の開発に展開できると考えられる。

4'位に置換基を有するイソヌクレオシドに関する報告は少なく、新規

NAs リード化合物の宝庫である。本章で得られた知見はイソヌクレオシドに関する研究の新たな足掛かりとして活用できるものである。今後、この知見を活かし、より強力な抗ウイルス活性を有する NAs の開発が期待される。

## 第4章 総括

肝がんの多くは HBV または HCV 感染による慢性肝疾患からの発症である。近年、HCV 感染は治療法の進展によって、経口薬のみでも 99%以上という高い確率でウイルスを排除できるようになり、HBV 感染についても画期的新薬の開発が希求されている。しかしながら、革新的な治療薬の開発は未だなされていないのが現状である。HBV の逆転写酵素は不安定であり、未だ単結晶が得られていない。そのため、新規 NAs を開発する上で、構造活性相関研究の積み重ねが必要不可欠である。

本研究ではこれまでの NAs よりも強力かつ耐性株にも有効な NAs の開発を目指した。そこで、強力な抗 HBV 活性が報告されているにもかかわらず、HBV 感染症治療に使用されていない化合物として 4'位を修飾した NAs に着目した。

まず、4'-アジド-5-メチル-4-置換ピリミジンヌクレオシドについて検討を行った。合成した化合物で最も高い抗 HBV 活性を有していたのは 4'-アジドチミジンであり、4'-アジド-5-メチルデオキシシチジンも抗 HBV 活性を有していた。これら化合物には細胞毒性は確認されなかったことから HBV 感染症治療薬として有望なリード化合物であると考えられる。4'-アジドデオキシシチジンには高い毒性が確認されていたため、ピリミジン 5 位にメチル基が存在することで細胞毒性の低減につながることを示唆された。しかし、ピリミジン 4 位をアルキル修飾した化合物群には抗 HBV 活性が確認されなかった。以上のことから、4'-アジドピリミジンヌクレオシドの塩基部としてチミンもしくは 5-メチルシトシンが有望な骨格であると判明した。

次に、4'位にシアノ基もしくはエチニル基を導入したイソヌクレオシドを設計・合成し、抗 HBV 活性を評価した。残念ながら、合成した化合物は抗 HBV 活性を有していなかった。しかしながら、イソヌクレオシドの 4'位に置換基を導入することで細胞毒性の低減が確認された。今回確立した合成経路はイソヌクレオシドの塩基部及び、4'位に導入する置換基を網羅的に合成することが可能であることから、今後、幅広い塩基部及び置換基の導入を行うことで、構造最適化が可能であると考えられる。

本研究ではこれら新規 NAs の合成経路を確立するとともに、抗 HBV 活

性と毒性に関する知見が得られた。本成果は強力な新規化合物のデザインをする上で意義があり、さらなる構造最適化を進めることで革新的な B 型肝炎治療薬に到達することが期待される。

## 謝辞

本研究に際して終始御指導，御鞭撻を賜り，本稿作成において多大なる御教示，御助言を頂き，さらに研究者としての心構えを御教授して下さいました崇城大学薬学部薬化学研究室 井本 修平准教授に謹んで感謝の意を表します。

本研究を行う上で懇切な御指導と御助言を賜り，課題解決の術を御教授頂きました崇城大学薬学部薬化学研究室 寒水 壽朗准教授に謹んで感謝の意を表します。

本研究を行う上で多大なる御助力を賜りました熊本大学 満屋 裕明特別招聘教授に謹んで感謝の意を表します。

本研究を行う上での的確な御助言を頂き，直接御指導いただいた徳田 亮博士に謹んで感謝の意を表します。

各種生物学的評価を行っていただいた国立国際医療研究センター 欽田 伸好博士に謹んで感謝の意を表します。

X線結晶構造解析を行っていただいた東邦大学理学部化学科 桑原 俊介准教授に謹んで感謝の意を表します。

本研究を行う上で手技に関する御助言いただいた山口 翔氏に謹んで感謝の意を表します。

本研究を行う上で NMR スペクトル測定に御助力いただいた山川 美里氏に謹んで感謝の意を表します。

本論文作成にあたり，重要かつ有益な御助言，御校閲を賜りました，吉満 斉教授，杉浦 正晴教授ならびに，國安 明彦教授に心より感謝の意を表します。



最後に、著者の長きにわたる学生生活を支援して下さいました家族及び友人に深く感謝致します。

令和2年3月 鬼塚 健吾

## 実験の部

試薬及び脱水溶媒は購入後、精製せず用いた。TLCはMerck塗装が施されたTLCプレート(Silicagel 60 F<sub>254</sub>, 0.25 mm)を使用した。フラッシュカラムクロマトグラフィーはカートリッジ(Yamazen Hi-flash, Yamazen Universal Premium, Biotage ZIP sphere, Biotage SNAP Ultra, WAKO Presep)を使用し、Yamazen AI-580S automated flash chromatography systemにて行った。カラムクロマトグラフィーはSilica Gel 60N(球状, 中性 63-210  $\mu$ L 関東化学株式会社)または、Chromatorex<sup>®</sup> (100-200 mesh, FUJI SILYSIA CHEMICAL LTD)を用いた。<sup>1</sup>H-NMR及び<sup>13</sup>C-NMR, <sup>31</sup>P-NMRはJEOL ECA 500 spectrometerを用いた。<sup>1</sup>H-NMRでは内部標準にテトラメチルシランを用いて室温で測定した。<sup>13</sup>C-NMR及び<sup>31</sup>P-NMRはそのまま室温で測定した。各NMRスペクトルのケミカルシフトは $\delta$  (ppm)で示した。多重度についてはsinglet (s), doublet (d), doublet of doublets (dd), doublet of doublets of doublets (ddd), triplet (t), doublet of triplet (dt), septet (sep), multiplet (m), broad (br)で表した。カップリング定数( $J$ )はヘルツ(Hz)で表した。ESI-MS, APCI-MSはJEOL JMS-T100LP systemにて解析した。HPLC分析はポンプにPU2089, 検出器にUV2075, カラムオーブンにCTO-10AVP Bを使用し, カラムにはYMC Hydrosphere C18 column (6.0  $\times$  150 mm)を用いて, 波長は254 nmのUVを用いた。

## 第 2 章 4'-アジド-5-メチル-4-置換ピリミジンヌクレオシドに関する検討

### 5'-Deoxy-5'-C-iodothymidine (45)

チミジン (9.68 g, 40.0 mmol) を含む 1,4-ジオキサン溶液 (200 mL) にトリフェニルホスフィン (15.7 g, 60.0 mmol), ピリジン (6.50 mL, 80.0 mmol), I<sub>2</sub> (15.7 g, 61.5 mmol) を加え, 室温にて終夜攪拌した. その後, メタノール (10.0 mL), 10%Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 水溶液 (14.0 mL) を加え反応を停止し, 減圧下溶媒を留去した. 残渣を酢酸エチルにて希釈した後, 水, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄し, MgSO<sub>4</sub> で乾燥した. 減圧下溶媒を留去した後, エタノールによる再結晶にて精製し, 化合物 **45** (9.96 g, 28.3 mmol, 70.8%) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.4 (s, 1H), 7.53 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 6.22 (dd, *J* = 8.3, 6.3 Hz, 1H), 5.49 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 4.20-4.17 (m, 1H), 3.81 (dt, *J* = 6.3, 2.9 Hz, 1H), 3.52 (dd, *J* = 10.3, 6.3 Hz, 1H), 3.39 (dd, *J* = 10.3, 6.3 Hz, 1H), 2.32-2.26 (m, 1H), 2.08 (ddd, *J* = 13.8, 6.3, 2.9 Hz, 1H), 1.80 (s, 3H)

既知化合物であり, 参考文献[56]の <sup>1</sup>H-NMR とスペクトルデータは一致した.

### 1-(2,5-Dideoxy-β-D-glycero-pent-4-enofuranosyl)thymine (46)

化合物 **45** (9.86 g, 28.0 mmol) を含むメタノール溶液 (100 mL) にナトリウムメトキシド (4.54 g, 84.0 mmol) を加え, 75°Cにて終夜攪拌した. 室温まで冷却した後, 反応液を酢酸で中和し, 減圧下溶媒を留去した. エタノールによる再結晶にて精製し, 化合物 **46** (4.54 g, 20.2 mmol, 70.3%) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.4 (s, 1H), 7.42 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 6.42 (dd, *J* = 6.9, 6.3 Hz, 1H), 5.55 (s, 1H), 4.71 (s, 1H), 4.29 (s, 1H), 4.14 (s, 1H), 2.40 (dt, *J* = 13.8, 6.9 Hz, 1H), 2.18 (ddd, *J* = 13.8, 6.9, 3.4 Hz, 1H), 1.78 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H)

既知化合物であり, 参考文献 [56] の <sup>1</sup>H-NMR とスペクトルデータは一致した.

### 4'-C-Azido-5'-deoxy-5'-C-iodothymidine (47)

アジ化ナトリウム (6.57 g, 101 mmol) を含む DMF 溶液 (20.0 mL) に一塩化ヨウ素 (7.84 g, 47.4 mmol) を 0°C で加えた後, 室温に昇温し 20 分攪拌

した。その後、反応液に化合物 **46** (4.54 g, 20.2 mmol) の DMF 溶液 (40.0 mL) を 10 分かけて滴下した。飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液、10%Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 水溶液を加え反応を停止し、水層を酢酸エチルにて抽出した。有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥した後、減圧下溶媒を留去した。フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ZIP 80 g, DCM/MeOH = 96/4 → 89/11) により精製し、化合物 **47** (7.53 g, 19.2 mmol, 94.6%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.4 (s, 1H), 7.50 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 6.34 (t, *J* = 6.9, 1H), 6.20 (d, 1H), 4.58 (dd, *J* = 11.5, 5.7 Hz, 1H), 3.67 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 3.64 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 2.56-2.50 (m, 1H), 2.32-2.26 (m, 1H), 1.81 (s, 3H)

既知化合物であり、参考文献 [56] の <sup>1</sup>H-NMR とスペクトルデータは一致した。

#### **4'-C-Azido-5'-deoxy-5'-C-iodo-3'-O-(4-methoxybenzoyl)thymidine (48)**

化合物 **47** (4.38 g, 11.1 mmol) のピリジン溶液 (50.0 mL) に 4-メトキシベンゾイルクロライド (3.80 g, 22.3 mmol) を加え、室温にて終夜攪拌した。その後、反応液に水を加えて反応を停止し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣を酢酸エチルで希釈し、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液で洗浄した。洗浄した有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ZIP 120 g, Hexane/AcOEt = 40/60 → 19/81) で精製し、化合物 **48** (2.77 g, 5.25 mmol, 47.3%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 8.90 (s, 1H), 8.08-8.02 (m, 2H), 7.44 (d, *J* = 1.15 Hz, 1H), 6.51 (dd, *J* = 7.5, 5.7 Hz, 2H), 5.78 (dd, *J* = 8.6, 6.3 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.80 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 3.76 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 2.76-2.64 (m, 2H), 1.99 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H)

既知化合物であり、参考文献 [56] の <sup>1</sup>H-NMR とスペクトルデータは一致した。

#### **4'-C-Azido-5'-O-(3-chlorobenzoyl)-3'-O-(4-methoxybenzoyl)thymidine (49)**

化合物 **48** 2.02 g (3.83 mmol) を含むジクロロメタン/水 (2/1, v/v) の混合溶液 (75.0 mL) にリン酸水素二カリウム (4.01 g, 23.0 mmol), テトラブチルアンモニウム硫酸水素塩 (3.91 g, 11.5 mmol), 3-クロロ安息香酸 (1.80 g,

11.5 mmol), 3-クロロ過安息香酸 (70%, 4.63 g, 18.9 mmol) を加え, 室温にて終夜攪拌した. その後, 3-クロロ過安息香酸 (70%, 1.98 g, 8.03 mmol) を加え, 50°C でさらに 2 時間攪拌した. 室温まで冷却した後, 反応液をジクロロメタンで希釈し, 飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄し, MgSO<sub>4</sub> で乾燥した. 減圧下溶媒を留去し, 得られた残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ZIP 80 g, Hexane/AcOEt = 56/44 → 45/55) で精製し, 化合物 **49** (2.10 g, 3.78 mmol, 98.8 %) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 8.11 (s, 1H), 8.04-8.01 (m, 2H), 7.93-7.91 (m, 1H), 7.58-7.55 (m, 1H), 7.39-7.36 (m, 1H), 7.11 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 6.96-6.93 (m, 2H), 6.47 (dd, *J* = 7.5, 5.2 Hz, 1H), 5.80 (dd, *J* = 8.0, 6.3 Hz, 1H), 4.78 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 4.72 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 2.79-2.66 (m, 2H), 1.82 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 165.1, 164.4, 164.1, 163.1, 149.8, 135.1, 134.9, 133.7, 132.2, 130.6, 130.0, 129.8, 127.9, 120.7, 113.9, 112.2, 96.9, 85.3, 72.9, 65.3, 55.6, 35.8, 12.4

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup> calcd. 578.1055; found 578.1024

#### **4'-C-Azidothymidine (34)**

化合物 **49** (410 mg, 0.738 mmol) を含む 7M アンモニア性メタノール溶液 (10.0 mL) を 80°C で終夜攪拌した. 室温まで冷却した後, 減圧下溶媒を留去し, フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hi-flash 45 g, DCM/MeOH = 93/7 → 85/15 → 80/20) で精製し, 化合物 **34** (210 mg, 0.745 mmol, 100 %) を得た.

既知化合物であり, 参考文献 [56] の <sup>1</sup>H-NMR とスペクトルデータは一致した.

#### **4'-C-Azido-5'-O-(3-chlorobenzoyl)-3'-O-(4-methoxybenzoyl)-4-O-(2,4,6-triisopropylbenzenesulfonyl)thymidine (50)**

化合物 **49** (1.08 g, 1.94 mmol) を含むジクロロメタン溶液 (20.0 mL) に 2,4,6-トリイソプロピルベンゼンスルホンクロライド (1.15 g, 3.80 mmol), トリエチルアミン (1.06 mL, 7.60 mmol), DMAP (23 mg, 0.19 mmol) を加え, 室温にて終夜攪拌した. その後, 反応液をジクロロメタンで希釈し, 飽和

NaHCO<sub>3</sub> 水溶液, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄した. 洗浄した有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥し, 減圧下溶媒を留去した. フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ZIP 30 g, Hexane/AcOEt = 85/15 → 70/30) で精製し, 化合物 **50** (969 mg, 1.18 mmol, 60.8%) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 8.02-7.97 (m, 3H), 7.91-7.88 (m, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.59-7.57 (m, 1H), 7.39 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.20 (s, 2H), 6.94 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.38 (dd, *J* = 6.3, 5.7 Hz, 1H), 5.67 (dd, *J* = 7.5, 6.9 Hz, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.29 (sep, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 2.97-2.86 (m, 2H), 2.51 (ddd, *J* = 13.2, 7.5, 5.2 Hz, 1H), 1.91 (s, 3H), 1.32-1.24 (m, 18H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 166.7, 165.0, 164.5, 164.2, 154.5, 153.2, 151.2, 141.6, 135.0, 133.9, 132.2, 130.52, 130.47, 130.1, 129.8, 127.8, 124.1, 120.6, 113.9, 104.6, 97.6, 86.7, 72.4, 65.5, 55.5, 37.1, 34.3, 29.6, 24.5, 24.4, 23.5, 12.2

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup>calcd. 844.2395; found 844.2392

#### **4'-C-Azido-2'-deoxy-5-methylcytidine (39)**

化合物 **50** (720 mg, 0.876 mmol) を含む THF 溶液 (12.0 mL) に 28%アンモニア水溶液 (20.0 mL) を加え, 室温にて終夜攪拌した. その後, 減圧下溶媒を留去し, 得られた残渣に 40%メチルアミンメタノール溶液 (10.0 mL) を加え, 室温にて終夜攪拌した. 減圧下溶媒を留去し, 得られた残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ZIP 30 g, DCM/MeOH = 87/13 → 79/21 → 70/30) で精製し, 化合物 **39** (68 mg 0.241 mmol, 27.5%) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) δ 7.78 (s, 1H), 6.37 (dd, *J* = 7.5, 4.0 Hz, 1H), 4.53 (dd, *J* = 8.0, 7.5 Hz, 1H), 3.83 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.76 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 2.47 (ddd, *J* = 13.8, 8.0, 7.5 Hz, 1H), 2.34 (ddd, *J* = 13.8, 7.5, 4.0 Hz, 1H), 1.96 (s, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) δ 167.4, 158.1, 139.9, 104.6, 101.3, 86.7, 72.0, 63.7, 39.4, 13.3

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup>calcd. 305.0974; found 305.0930

#### **4'-C-Azido-4-O-methylthymidine (40)**

化合物 **50** (300 mg, 0.365 mmol) を含む 1,4-ジオキサン溶液 (7.00 mL) に 1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン (81.0 mg, 0.720 mmol), MS 3Å (600 mg) を加え, 室温で 30 分攪拌した. その後, メタノール (165 μL, 4.07 mmol), DBU (161 μL, 1.08 mmol) を加え, 室温で終夜攪拌した. 反応液をセライトパッドにてろ過し, ろ液は減圧下溶媒を留去した. フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hi-flash 14 g, DCM/MeOH = 99/1 → 93/7) で精製し, 化合物 **40** (40 mg, 0.135 mmol, 37.0%) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) δ 7.99 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 6.25 (dd, *J* = 7.5, 4.0 Hz, 1H), 4.43 (dd, *J* = 8.0, 7.5 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.76 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.68 (d, *J* = 12.0 Hz), 2.43 (ddd, *J* = 13.8, 8.0, 7.5 Hz, 1H), 2.26 (ddd, *J* = 13.8, 7.5, 4.0 Hz, 1H), 1.88 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) δ 172.6, 158.0, 141.9, 106.8, 101.5, 87.2, 71.7, 63.4, 55.2, 39.5, 12.2

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup> calcd. 320.0971; found 320.0974

#### **4'-C-Azido-4-O-ethylthymidine (41)**

化合物 **50** (218 mg, 0.265 mmol) を含む 1,4-ジオキサン溶液 (5.30 mL) に 1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン (59.0 mg, 0.530 mmol), MS 3Å (200 mg) を加え, 室温で 30 分攪拌した. その後, エタノール (154 μL, 2.65 mmol), DBU (99.0 μL, 0.663 mmol) を加え, 室温で終夜攪拌した. 反応液をセライトパッドにてろ過し, ろ液は減圧下溶媒を留去した. フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SNAP 10 g, DCM/MeOH = 99/1 → 93/7) で精製し, 化合物 **41** (27.0 mg, 0.0867 mmol, 32.7%) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) δ 7.98 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 6.25 (dd, *J* = 7.5, 4.0 Hz, 1H), 4.43 (dd, *J* = 8.0, 7.5 Hz, 1H), 4.32 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.76 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.68 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 2.43 (ddd, *J* = 13.8, 8.0, 7.5 Hz), 2.30 (ddd, *J* = 13.8, 7.5, 4.0 Hz, 1H), 1.87 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H), 1.28 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) δ 170.7, 156.5, 140.3, 105.4, 100.0, 85.6, 70.1, 63.1, 61.9, 38.0, 13.0, 10.7

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup> calcd. 334.1127; found 334.1157

#### **4'-C-Azido-2'-deoxy-4-N, 5-dimethylcytidine (42)**

化合物 **50** (101 mg, 0.123 mmol) を含む 30%メチルアミンエタノール溶液 (10.0 mL) を 70°C で終夜攪拌した。室温まで冷却した後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣をフラッシュアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hi-flash 14 g, DCM/MeOH = 92/8 → 85/15) で精製し、化合物 **42** (30.0 mg, 0.101 mmol, 82.1%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) δ 7.67 (s, 1H), 6.39 (dd, *J* = 7.5, 4.0 Hz, 1H), 4.53 (dd, *J* = 7.7, 7.2 Hz, 1H), 3.82 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.75 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 2.93 (s, 3H), 2.27-2.17 (m, 2H), 1.92 (s, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) δ 165.4, 158.4, 138.1, 105.3, 101.2, 86.5, 72.1, 63.7, 39.3, 28.3, 13.2

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup>calcd. 319.1131; found 319.1109

#### **4'-C-Azido-2'-deoxy-4-N-ethyl-5-methylcytidine (43)**

化合物 **50** (151 mg, 0.184 mmol) を含む 2M エチルアミンエタノール溶液 (10.0 mL) を 70°C で終夜攪拌した。室温まで冷却した後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Presep 13 g, DCM/MeOH = 93/7 → 85/15) で精製し、化合物 **43** (40.0 mg, 0.129 mmol, 70.1%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) δ 7.67 (s, 1H), 6.39 (dd, *J* = 7.5, 4.6 Hz, 1H), 4.53 (dd, *J* = 8.0, 7.5 Hz, 1H), 3.82 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.75 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.47 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.48-2.42 (m, 1H), 2.33 (ddd, *J* = 13.8, 7.5, 4.6 Hz), 1.93 (s, 3H), 1.19 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) δ 164.7, 158.5, 138.4, 105.3, 101.2, 86.6, 72.1, 63.7, 39.4, 36.8, 14.7, 13.3

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup>calcd. 333.1287; found 333.1322

#### **4'-C-Azido-4-N-cyclopropyl-2'-deoxy-5-methylcytidine (44)**

化合物 **50** (210 mg, 0.255 mmol) を含む 1,4-ジオキサソラン溶液 (7.50 mL) に 1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン (57.0 mg, 0.510 mmol), MS 3Å (200 mg) を加え、室温で 30 分攪拌した。その後、シクロプロピルアミン (179 μL, 2.55 mmol), DBU (95 μL, 0.637 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液をろ過し、ろ液は減圧下溶媒を留去した。得られた残渣に 7M アンモニア性



メタノール溶液 (10mL) を加え, 60°C で 10 時間攪拌した. 室温まで冷却した後, 再び減圧下溶媒を留去し, 得られた残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hi-flash 14 g, DCM/MeOH = 96/4 → 90/10) で精製し, 化合物 **44** (17.0 mg, 0.0536 mmol, 21.0%) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) δ 7.70 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 6.39 (dd, *J* = 7.5, 4.0 Hz, 1H), 4.53 (dd, *J* = 8.0, 7.5 Hz, 1H), 3.83 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.76 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 2.91-2.87 (m, 1H), 2.47 (ddd, *J* = 13.8, 8.0, 7.5 Hz, 1H), 2.34 (ddd, *J* = 13.8, 7.5, 4.0 Hz, 1H), 1.91 (d, *J* = 1.2 Hz, 3H), 0.82-0.78 (m, 2H), 0.63-0.59 (m, 2H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) δ 166.4, 158.2, 138.5, 105.2, 101.2, 86.6, 72.0, 63.7, 39.4, 25.2, 13.2, 7.2

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup> calcd. 345.1287; found 345.1311

### 第 3 章 4'-置換イソヌクレオシドに関する検討

#### 1,2-*O*-Isopropylidene- $\alpha$ -L-xylofuranose (**61**)

L-キシロース (9.70 g, 64.6 mmol) を含むアセトン (260 mL) 溶液に濃硫酸 (9.70 mL, 175 mmol) を加え, 室温で 1.5 時間攪拌した. その後, 反応液に水 (200 mL), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (13.5 g, 127 mmol), NaHCO<sub>3</sub> (25.2 g, 300 mmol) を加えて中和し, 減圧下溶媒を留去した. シリカゲルカラムクロマトグラフィー (500 g, DCM/MeOH = 98/2 → 91/9) により精製し, 化合物 **61** (10.8 g, 56.6 mmol, 収率 87.6%) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 5.99 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 4.53 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 4.34 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 4.19-4.10 (m, 2H), 4.05 (dd, *J* = 12.6, 2.9 Hz, 1H), 2.96 (br, 1H), 1.49 (s, 3H), 1.33 (s, 3H)

既知化合物であり, 参考文献 [84] の <sup>1</sup>H-NMR とスペクトルデータは一致した.

#### 1,2-*O*-Isopropylidene-3-*O*-(4-methoxybenzyl)- $\alpha$ -L-xylofuranose (**62**)

化合物 **61** (11.1 g, 58.4 mmol) を含むピリジン溶液 (290 mL) に 4, 4'-ジメトキシトリチルクロライド (21.8 g, 64.3 mmol) を加え, 室温で 1 時間攪拌した. その後, 反応液にメタノールを加えて反応を停止した後, 減圧下

溶媒を留去した。得られた残渣に酢酸エチルを加えて希釈し、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液で洗浄した。洗浄した有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、減圧下溶媒を留去してジメトキシトリチル体を得た。

1,4-ジオキサンの共沸したジメトキシトリチル体を含む THF/DMF (1/1, v/v) 混合溶液 (292 mL) に 60%水素化ナトリウム in oil (2.80 g, 70.0 mmol) を加え、0°Cにて1時間攪拌した後、反応液に 4-メトキシベンジルククロライド (7.95 mL, 58.9 mmol) を加えて室温で19時間攪拌した。その後、メタノールを加えて反応を停止し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣を酢酸エチルにて希釈し、飽和 NaCl 水溶液で洗浄した。MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、減圧下溶媒を留去してベンジル体を得た。

ベンジル体を含むジクロロメタン溶液 (281 mL) に *p*-トルエンスルホン酸一水和物 (3.80 g, 22.6 mmol) を含むメタノール溶液 (95.0 mL) を 0°Cで滴下した。滴下が終了してから20分攪拌した後、反応液を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液にて洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥した。その後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (500 g, Hexane/AcOEt = 75/25 → 50/50) により精製し、化合物 **62** (14.7 g, 47.2 mmol, 3工程 80.8%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.25 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.91 (dt, *J* = 8.6, 2.3 Hz, 2H), 5.83 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 4.72 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.65 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 4.57 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 4.42 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 4.09-4.06 (m, 1H), 3.85 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.64-3.53 (m, 2H), 1.39 (s, 3H), 1.25 (s, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 158.8, 129.9, 129.3, 113.7, 110.5, 104.4, 81.7, 81.0, 80.8, 70.6, 58.7, 55.1, 26.6, 26.1

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup>calcd. 333.1314; found 333.1326

#### 4-*C*-Hydroxymethyl-1,2-*O*-isopropylidene-3-*O*-(4-methoxybenzyl)- $\alpha$ -L-xylofuranose (**63**)

化合物 **62** (12.0 g, 38.6 mmol) を含むトルエン溶液 (72.0 mL) に DMSO (107 mL, 1.51 mol), ピリジン (6.20 mL, 76.8 mmol), EDC·HCl (22.1 g, 115 mmol), TFA (3.72 mL, 48.6 mmol) を加え、室温で1時間攪拌した。その後、反応液を酢酸エチルで希釈し、水、飽和 NaCl 水溶液で洗浄した。洗浄した有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、減圧下溶媒を留去してアルデヒド体を得た。

アルデヒド体を含む 1,4-ジオキサン溶液 (82.0 mL) に 37% HCHO 水溶液 (28.6 mL, 352 mmol), 2mol/L NaOH 水溶液 (57.9 mL, 116 mmol) を加えて室温で終夜攪拌した。その後、反応液を 12.0 mol/L HCl 水溶液 (9.60 mL, 115 mmol) で中和し、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣を酢酸エチルで希釈し、水、飽和 NaCl 水溶液で洗浄した後、MgSO<sub>4</sub> で乾燥して再び減圧下溶媒を留去した。シリカゲルカラムクロマトグラフィー (500 g, Hexane/AcOEt = 60/40 → 50/50 → 40/60 → 30/70 → 0/100) により精製し、化合物 **63** (10.8 g, 31.8 mmol, 2 工程 82.3%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.27 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.91 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 5.89 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 4.80 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.75 (dd, *J* = 4.6, 2.3 Hz, 1H), 4.58 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 4.45 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.41 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 4.02 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.53-3.38 (m, 4H), 1.46 (s, 3H), 1.28 (s, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 158.7, 130.0, 129.1, 113.6, 111.9, 104.1, 89.8, 85.8, 83.7, 71.1, 61.1, 60.9, 55.1, 27.3, 27.0

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup> calcd. 363.1420; found 363.1462

#### **4-C-Hydroxymethyl-1,2-O-isopropylidene-3,5-O-[(*R*)-(4-methoxyphenyl)methylene]- $\alpha$ -L-xylofuranose (**64**)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **63** (2.50 g, 7.34 mmol) を含むジクロロメタン (130 mL) 溶液に MS 3Å (1.40 g), DDQ (1.50 g, 6.61 mmol) を加え、0°C で終夜攪拌した。反応溶液をセライトパッドにてろ過した後、得られたろ液を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液、飽和 NaCl 水溶液で洗浄した。その後、MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。フラッシュシリカゲルクロマトグラフィー (ZIP 120 g, Hexane/AcOEt = 70/30 → 59/41 → 30/70) により精製し、化合物 **64** (1.58 g, 4.67 mmol, 63.6%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 7.40 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.89 (d, *J* = 8.6, 2H), 6.11 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 5.41 (s, 1H), 4.70 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 4.39 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 4.38 (s, 1H), 4.02 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 3.97 (dd, *J* = 12.0, 3.4 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.61 (dd, *J* = 12.0, 9.7 Hz, 1H), 2.09 (dd, *J* = 9.7, 3.4 Hz, 1H), 1.56 (s, 3H), 1.31 (s, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 160.3, 130.0, 127.5, 113.8, 112.1, 106.0, 99.0, 85.4, 82.5, 78.8, 70.3, 63.5, 55.4, 26.1, 25.4

MS (ESI)  $m/z$  (M+Na)<sup>+</sup>calcd. 361.1263; found 361.1260

**1,2-*O*-Isopropylidene-3,5-*O*-[(*R*)-(4-methoxyphenyl)methylene]-4-*C*-triisopropylsilylethynyl- $\alpha$ -L-xylofuranose (65)**

化合物 **64** (10.0 g, 29.6 mmol) を含むジクロロメタン溶液 (100 mL) に nor-AZADO (21 mg, 0.152 mmol), KBr (37 mg, 0.311 mmol), 飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (240 mL), NaClO 水溶液 (26 mL) を加え, 0°C で 1.5 時間攪拌した. その後, 10%Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 水溶液にて反応を停止し, 反応液からジクロロメタンで抽出した後, 有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄した. 洗浄した有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥し, 減圧下溶媒を留去してアルデヒド体を得た.

トリフェニルホスフィン (38.8 g, 148 mmol), 四臭化炭素 (24.5 g, 73.9 mmol) を含むジクロロメタン溶液 (120 mL) を 0°C で 30 分攪拌した. その後, トルエンで共沸したアルデヒド体を含むジクロロメタン溶液 (120 mL) を滴下し, 0°C で 30 分攪拌した. 反応液を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液で洗浄し, MgSO<sub>4</sub> で乾燥した後, 減圧下溶媒を留去した. シリカゲルクロマトグラフィー (500 g, Hexane/AcOEt = 80/20) で精製しジブロモビニル体を得た.

ジブロモビニル体を含む THF 溶液 (77.0 mL) に 2.6 M *n*-BuLi in Hexane (12.0 mL, 31.2 mmol) を加え, -78°C で 1 時間攪拌し, さらに室温に昇温して 1 時間攪拌した. その後, 再び -78°C へ冷却してトリイソプロピルシリルクロライド (3.20 mL, 15.1 mmol) を加え, 再度室温に昇温して 1.5 時間攪拌した. 反応液を酢酸エチルで希釈し, 水, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄し, MgSO<sub>4</sub> で乾燥した後に, 減圧下溶媒を留去した. フラッシュシリカゲルクロマトグラフィー (ZIP 40 g, Hexane/AcOEt = 98/2 → 90/10) により精製し, 化合物 **65** (4.43 g, 9.06 mmol, 3 工程 30.6%) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  7.39 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H), 6.89 (d,  $J$  = 8.6, 2H), 6.08 (d,  $J$  = 3.4 Hz, 1H), 5.47 (s, 1H), 4.66 (d,  $J$  = 3.4 Hz, 1H), 4.62 (s, 1H), 4.42 (d,  $J$  = 12.6 Hz, 1H), 4.11 (d,  $J$  = 12.6 Hz, 1H), 1.68 (s, 3H), 1.32 (s, 3H), 1.09-1.05 (m, 21H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  160.4, 129.8, 127.6, 113.8, 113.2, 106.8, 104.7, 99.3, 90.4, 85.0, 82.9, 74.5, 72.8, 55.5, 26.0, 26.0, 18.3, 11.8

MS (ESI)  $m/z$  (M+Na)<sup>+</sup>calcd. 511.2492; found 511.2479

**1,2-*O*-Isopropylidene-4-*C*-(triisopropylsilyl)ethynyl- $\alpha$ -L-xylofuranose (66)**

化合物 **65** (3.80 g, 7.78 mmol) の 70% 酢酸水溶液 (59 mL) を 40°C で終夜攪拌し、室温まで冷却した後、減圧下溶媒を留去した。フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hi-flash 45 g, Hexane/AcOEt = 85/15 → 75/25 → 60/40) で精製し、化合物 **66** (1.18 g, 3.18 mmol, 40.9%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 6.00 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 4.60-4.59 (m, 2H), 4.10 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.99-3.92 (m, 2H), 2.74 (dd, *J* = 7.5, 6.3 Hz, 1H), 1.64 (s, 3H), 1.33 (s, 3H), 1.09-1.02 (m, 21H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 113.4, 106.1, 105.5, 89.6, 87.3, 82.4, 82.0, 66.5, 26.5, 26.4, 18.6, 11.1

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup> calcd. 393.2073; found 393.2117

### **1,2-*O*-Isopropylidene-4-*C*-(triisopropylsilyl)ethynyl-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)- $\alpha$ -L-xylofuranose (**67**)**

化合物 **66** (100 mg, 0.270 mmol) を含むジクロロメタン溶液 (2.00 mL) に *tert*-ブチルジフェニルシリルクロライド (69.0  $\mu$ L, 0.269 mmol), DMAP (2 mg, 0.0164 mmol), トリエチルアミン (65.0  $\mu$ L, 0.469 mmol) を加え、25°C で終夜攪拌した。その後、反応液をジクロロメタンで希釈し、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液、飽和 NaCl 水溶液で洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥した。その後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Presep 13 g, Hexane/AcOEt = 95/5 → 85/15 → 70/30) で精製し、化合物 **67** (97.4 mg, 0.160 mmol, 59.3%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 7.71-7.66 (m, 4H), 7.48-7.39 (m, 6H), 6.04 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 4.67 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 4.63 (d, *J* = 4.0, 1H), 4.18 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 4.05 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 3.93 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 1.64 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.06 (s, 9H), 1.00 (s, 21H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 135.7, 131.9, 130.3, 128.1, 113.4, 105.9, 105.6, 88.7, 88.1, 83.6, 82.3, 68.3, 31.7, 26.9, 22.8, 18.9, 14.3, 11.2

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup> calcd. 631.3251; found 631.3269

### **3-Deoxy-1,2-*O*-isopropylidene-4-*C*-(triisopropylsilyl)ethynyl-3-*C*-methylene-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)- $\alpha$ -L-xylofuranose (**68**)**

化合物 **67** (564 mg, 0.926 mmol) を含むジクロロメタン溶液 (11.0 mL) に

nor-AZADO (7.0 mg, 0.0507 mmol), KBr (6.0 mg, 0.0924 mmol) 飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (27.0 mL), NaClO 水溶液 (7.80 mL) を加え, 0°C で 30 分攪拌した. その後, 反応液に 10%Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 水溶液を加え, 反応を停止した. さらに, 反応液をジクロロメタンにて抽出し, 有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄した. 洗浄した有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥し, 減圧下溶媒を留去してアルデヒド体を得た.

メチルトリフェニルホスホニウムブロミド (1.01 g, 2.83 mmol) を含む THF 溶液 (40.0 mL) に *tert*-ブトキシカリウム (321 mg, 2.86 mmol) を加え, 室温で 2 時間攪拌した. その後, 反応液にアルデヒド体を加え, 室温で 1 時間攪拌した. 反応液を酢酸エチルで希釈し, 水, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄した後, MgSO<sub>4</sub> で乾燥した. その後, 減圧下溶媒を留去し, 得られた残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hi-flash 45 g, Hexane/AcOEt = 100/0 → 99/1 → 95/5) で精製し, 化合物 **68** (403 mg, 0.666 mmol, 2 工程 71.9%) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 7.68-7.62 (m, 4H), 7.44-7.38 (m, 6H), 6.04 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 5.62 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 5.45 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 5.16-5.15 (m, 1H), 3.84 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 3.58 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 1.59 (s, 3H), 1.45 (s, 3H), 1.01-0.99 (m, 30H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 150.8, 135.7, 132.8, 130.0, 128.0, 113.6, 113.5, 105.4, 104.9, 88.0, 83.9, 82.0, 72.1, 30.5, 28.1, 27.6, 26.9, 18.9, 11.2

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup>calcd. 627.3302; found 627.3332

#### **1,4-Anhydro-3-deoxy-4-C-(triisopropylsilyl)ethynyl-3-C-methylene-5-O-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-L-xylitol (**69**)**

化合物 **68** (403 mg, 0.666 mmol) を含むジクロロメタン溶液 (6.60 mL) に トリエチルシラン (318 μL, 2.00 mmol), 三フッ化ホウ素エチルエーテル (254 μL, 2.00 mmol) を加え, 0°C で 4 時間攪拌した. その後, 反応液をジクロロメタンで希釈し, 飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄した. 洗浄した有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥した後, 減圧下溶媒を留去した. フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Universal 16 g, Hexane/AcOEt = 95/5 → 90/10) で精製し, 化合物 **69** (238 mg, 0.434 mmol, 65.2%) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.64-7.62 (m, 4H), 7.49-7.40 (m, 6H), 5.58 (d,

$J = 5.7$  Hz, 1H), 5.32 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 5.27 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 4.57-4.53 (m, 1H), 4.04 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 3.61 (s, 2H), 3.43 (t,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 1.04-0.99 (m, 30H)

$^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  153.4, 135.1, 132.5, 129.9, 127.8, 108.5, 107.8, 85.0, 80.4, 71.6, 70.5, 69.5, 26.5, 18.8, 18.4, 10.5

MS (ESI)  $m/z$  ( $\text{M}+\text{Na}$ )<sup>+</sup>calcd. 571.3040; found 571.3013

**[(2'*R*,4'*S*)-2-*N*-Acetyl-2',3'-dideoxy-3'-*C*-methylene-6-*O*-  
(diphenylaminocarbonyl)-4'-*C*-(triisopropylsilyl)ethynyl]isoguanosine (70)**

化合物 **69** (54.8 mg, 0.0998 mmol) を含む THF 溶液 (1.00 mL) にトリフェニルホスフィン (39.3 mg, 0.150 mmol), *N*<sup>2</sup>-アセチル-*O*<sup>6</sup>-(ジフェニルアミノカルボニル) グアニン (58.0 mg, 0.150 mmol), アゾジカルボン酸ジイソプロピル (27.7  $\mu\text{L}$ , 0.150 mol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。その後、反応液をろ過し、ろ液は減圧下溶媒を留去した。フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SNAP 10 g, Hexane/AcOEt = 80/20  $\rightarrow$  70/30) で精製し、化合物 **70** (73.3 mg, 0.0797 mmol, 79.9%) を得た。

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CHLOROFORM-}d$ )  $\delta$  7.97 (br, 2H), 7.69-7.65 (m, 4H), 7.43-7.26 (m, 15H), 5.68 (br, 1H), 5.56 (s, 1H), 5.43 (s, 1H), 4.45 (dd,  $J = 10.3, 6.3$  Hz), 4.15 (dd,  $J = 10.3, 2.3$  Hz, 1H), 3.92 (s, 2H), 2.54 (s, 3H), 1.07-1.04 (m, 30H)

$^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CHLOROFORM-}d$ )  $\delta$  156.4, 155.1, 152.2, 150.6, 148.6, 142.3, 135.8, 135.7, 132.8, 132.7, 130.1, 130.0, 129.3, 127.93, 127.91, 120.7, 114.8, 105.6, 88.1, 81.1, 71.1, 68.4, 57.0, 27.0, 25.3, 19.4, 18.7, 11.3

MS (ESI)  $m/z$  ( $\text{M}+\text{Na}$ )<sup>+</sup>calcd. 941.4218; found 941.4191

**[(2'*R*,4'*S*)-2',3'-Dideoxy-4'-*C*-ethynyl-3'-*C*-methylene]isoguanosine (57)**

化合物 **70** (138 mg, 0.150 mmol) を含む飽和アンモニア性メタノール溶液 (2.00 mL) を 80°C で終夜攪拌した。室温まで冷却した後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣を THF (1.50 mL) で希釈した。残渣の THF 溶液に 1M TBAF/THF (900  $\mu\text{L}$ , 0.900 mmol) を加え、40°C で 2 時間攪拌した。室温まで冷却した後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SNAP 10 g, AcOEt/MeOH = 93/7  $\rightarrow$  85/15) で

精製し、化合物 **57** (41.2 mg, 0.143 mmol, 95.3%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) δ 7.93 (s, 1H), 5.59-5.57 (m, 1H), 5.51 (s, 1H), 5.48 (s, 1H), 4.36 (dd, *J* = 10.3, 6.3 Hz, 1H), 4.22 (dd, *J* = 10.3, 2.9 Hz, 1H), 3.93 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.88 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.06 (s, 1H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) δ 159.4, 155.4, 153.0, 150.1, 138.1, 117.2, 114.8, 83.2, 82.4, 75.9, 72.2, 67.9, 57.7

MS (ESI) *m/z* (M+H)<sup>+</sup> calcd. 288.1097; found 288.1133

#### 4-*C*-Cyano-1,2-*O*-isopropylidene-3,5-*O*-[(*R*)-(4-methoxyphenyl)methylene]- $\alpha$ -L-xylofuranose (**71**)

化合物 **64** (12.0 g, 35.5 mmol) を含むジクロロメタン溶液 (120 mL) に nor-AZADO (26.4 mg, 0.191 mmol), KBr (44.4 mg, 0.196 mmol), 飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (300 mL), NaClO 水溶液 (31 mL) を加え室温で 1 時間攪拌した。その後、10%Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 水溶液で反応を停止し、反応液からジクロロメタンで抽出した。得られた有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥した後、減圧下溶媒を留去してアルデヒド体を得た。

ピリジンで共沸したアルデヒド体を含むピリジン溶液 (180 mL) に NH<sub>2</sub>OH·HCl (4.92 g, 70.8 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。その後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣を酢酸エチルで希釈した。残渣を含む有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥した後、減圧下溶媒を留去してアルドキシム体を得た。

アセトニトリルで共沸したアルドキシム体を含むアセトニトリル溶液 (180 mL) に 1, 1'-カルボニルジイミダゾール (11.5 g, 70.7 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。その後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣を酢酸エチルで希釈した。残渣を含む有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥した後、減圧下溶媒を留去した。フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ZIP 120 g, Hexane/AcOEt = 85/15 → 75/25) により精製し、化合物 **71** (6.58 g, 19.7 mmol, 55.5%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 7.37 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.90 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.13 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 5.46 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.72 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 4.56 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 4.26 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 1.72 (s, 3H), 1.35 (s, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 160.7, 128.6, 127.5, 116.9, 114.0,



113.9, 107.3, 99.6, 83.8, 81.3, 71.9, 69.6, 55.5, 25.8, 25.0

#### 4-C-Cyano-1,2-O-isopropylidene- $\alpha$ -L-xylofuranose (72)

化合物 **71** (3.33 g, 9.99 mmol) の 70% 酢酸水溶液 (70.0 mL) を 40°C で終夜攪拌した。反応液を室温まで冷却した後、減圧下溶媒を留去した。フラッシュシリカゲルクロマトグラフィー (Hi-flash 45 g, Hexane/AcOEt = 50/50  $\rightarrow$  30/70) で精製し、化合物 **72** (1.97 g, 9.15 mmol, 91.5%) を得た。

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  6.10 (d,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 5.96 (d,  $J = 3.4$  Hz, 1H), 5.45 (dd,  $J = 6.3, 5.7$  Hz, 1H), 4.57 (d,  $J = 3.4$  Hz, 1H), 4.33 (d,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 3.71 (dd,  $J = 10.9, 6.3$  Hz, 1H), 3.60 (dd,  $J = 10.9, 5.7$  Hz, 1H), 1.54 (s, 3H), 1.26 (s, 3H)

$^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  119.6, 112.0, 105.8, 85.2, 82.3, 76.6, 61.5, 25.6, 24.7

#### 4-C-Cyano-1,2-O-isopropylidene-5-O-(*tert*-butyldiphenylsilyl)- $\alpha$ -L-xylofuranose (73)

化合物 **72** (1.08 g, 5.00 mmol) を含むジクロロメタン溶液 (24.0 mL) に *tert*-ブチルジフェニルシリルクロライド (1.27 mL, 6.11 mmol), DMAP (30.0 mg, 0.246 mmol), トリエチルアミン (1.20 mL, 8.62 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液をジクロロメタンで希釈し、飽和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液で洗浄し、 $\text{MgSO}_4$  で乾燥した。その後、減圧下溶媒を留去し、フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ZIP 40 g, Hexane/AcOEt = 85/15  $\rightarrow$  75/25  $\rightarrow$  60/40) で精製し、化合物 **73** (1.31 g, 2.89 mmol, 57.7%) を得た。

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.69-7.67 (m, 4H), 7.51-7.44 (m, 6H), 6.24 (d,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 6.00 (d,  $J = 3.4$  Hz, 1H), 4.59 (d,  $J = 3.4$  Hz, 1H), 4.43 (d,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 3.99 (d,  $J = 10.3$  Hz, 1H), 3.75 (d,  $J = 10.3$  Hz, 1H), 1.57 (s, 3H), 1.27 (s, 3H), 1.02 (s, 9H)

$^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  135.1, 132.2, 130.1, 128.0, 119.1, 112.2, 106.1, 85.0, 82.0, 76.8, 63.9, 26.4, 25.6, 24.7, 18.9

MS (ESI)  $m/z$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  calcd. 476.1869; found 476.1898

#### 4-C-Cyano-3-deoxy-1,2-O-isopropylidene-5-O-(*tert*-butyldiphenylsilyl)- $\alpha$ -L-xylofuranose (74)

化合物 **73** (420 mg, 0.926 mmol) を含むジクロロメタン溶液 (9.00 mL) に 1,1'-チオカルボニルジイミダゾール (330 mg, 1.85 mmol), DMAP (34.0 mg, 0.278 mmol) を加え, 40°C で 20 時間攪拌した. 反応液を室温まで冷却した後, ジクロロメタンで希釈し, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄した. 洗浄した有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥した後, 減圧下溶媒を留去してカルボニルチオイミダゾレート体を得た.

トルエンで共沸したカルボニルチオイミダゾレート体を含むトルエン溶液 (18.6 mL) に AIBN (61.0 mg, 0.371 mmol), トリブチルスズ (1.00 mL, 3.72 mmol) を加え, 120°C で 1 時間攪拌した. 反応液を室温まで冷却した後, 減圧下溶媒を留去した. フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hi-flash 14 g, Hexane/DCM = 90/10 → 70/30 → 50/50 → 35/65 → 0/100) により精製し, 化合物 **74** (150 mg, 0.343 mmol, 36.9%) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 7.67-7.64 (m, 4H), 7.48-7.38 (m, 6H), 5.87 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 4.84 (dd, *J* = 4.6, 3.4 Hz, 1H), 3.82 (s, 2H), 2.59 (d, *J* = 14.3 Hz, 1H), 2.33 (dd, *J* = 14.3, 4.6 Hz, 1H), 1.69 (d, *J* = 14.3 Hz, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.07 (s, 9H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 135.7, 132.4, 130.2, 128.0, 119.7, 113.5, 107.2, 80.4, 78.9, 67.0, 39.4, 26.8, 26.0, 25.6, 19.4

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup>calcd. 460.1920; found 460.1920

### **1,2-*O*-Isopropylidene-3,5-*O*-[(*R*)-(4-methoxyphenyl)methylene]-4-*C*-(naphthylmethoxy)methyl- $\alpha$ -L-xylofuranose (**76**)**

化合物 **64** (507.5 mg, 1.50 mmol), を含む DMF/THF (1/1, v/v) 混合溶液 (4.50 mL) に 60%水素化ナトリウム in oil (78.0 mg, 1.80 mmol) を加え, 0°C で 1 時間攪拌した. その後, 2-メチルブロモナフタレン (398 mg, 1.80 mmol) を加え, 30°C に昇温して終夜攪拌した. 反応液にメタノールを加えて反応を停止した後, 減圧下溶媒を留去した. 得られた残渣をジクロロメタンで希釈し, 飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄した. 洗浄した有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥した後, 減圧下溶媒を留去した. フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hi-flash 45 g, Hexane/AcOEt = 90/10 → 75/25 → 50/50) により精製し, 化合物 **76** (686 mg, 1.43 mmol, 95.3%) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 7.89-7.79 (m, 3H), 7.77 (s, 1H), 7.55-7.43 (m, 3H), 7.40 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.88 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.07 (d, *J* = 4.0

Hz, 1H), 5.43 (s, 1H), 4.79 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H), 4.69-4.66 (m, 3H), 4.27 (d,  $J = 13.2$  Hz, 1H), 4.20 (d,  $J = 13.2$  Hz, 1H), 3.82 (d,  $J = 9.7$  Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.47 (d,  $J = 9.7$  Hz, 1H), 1.27 (s, 3H), 1.24 (s, 3H)

$^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  160.3, 135.3, 133.4, 133.2, 130.2, 128.5, 128.0, 127.8, 127.6, 126.8, 126.3, 126.1, 125.9, 113.8, 111.9, 106.1, 98.8, 85.6, 81.9, 78.9, 73.9, 70.3, 69.7, 55.5, 25.8, 25.3

MS (ESI)  $m/z$  (M+Na) $^{+}$ calcd. 383.1471; found 383.1599

### **1,2-*O*-Isopropylidene-4-*C*-(naphthylmethoxy)methyl- $\alpha$ -L-xylofuranose (77)**

化合物 **76** (107.5 mg, 0.225 mmol) の 70% 酢酸水溶液 (16.0 mL) を 30°C で 30 分攪拌した。室温まで冷却した後、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液で中和し、ジクロロメタンにて抽出した。得られた有機層の溶媒を減圧下留去した。フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hi-flash 45 g, Hexane/AcOEt = 50/50  $\rightarrow$  30/70) で精製し、化合物 **78** (1.97 g, 9.15 mmol, 91.5%) を得た。

$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  7.85-7.81 (m, 3H), 7.75 (s, 1H), 7.49-7.43 (m, 3H), 5.96 (d,  $J = 4.0$  Hz, 1H), 4.75 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H), 4.68 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H), 4.62 (d,  $J = 4.0$  Hz, 1H), 4.47 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 4.02 (dd,  $J = 12.0, 5.7$  Hz, 1H), 3.82 (dd,  $J = 12.0, 7.5$  Hz, 1H), 3.79 (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H), 3.66 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 3.61 (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H), 2.73 (dd,  $J = 7.5, 5.7$  Hz, 1H), 1.57 (s, 9H), 1.32 (s, 3H), 1.26 (s, 3H)

$^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  134.9, 133.34, 133.25, 128.6, 128.0, 127.8, 127.0, 126.4, 126.2, 125.8, 112.4, 105.6, 88.0, 87.7, 78.4, 74.1, 73.3, 65.8, 26.7, 26.0

MS (ESI)  $m/z$  (M+Na) $^{+}$ calcd. 501.1889; found 501.1933

### **1,2-*O*-Isopropylidene-4-*C*-(naphthylmethoxy)methyl-5-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)- $\alpha$ -L-xylofuranose (78)**

化合物 **77** (106 mg, 0.293 mmol) を含むジクロロメタン溶液 (2.94 mL) に *tert*-ブチルジメチルシリルクロライド (49.0 mg, 0.326 mmol), DMAP (2.0 mg, 0.0164 mmol), トリエチルアミン (70.2  $\mu\text{L}$ , 0.504 mmol) を加え、0°C で終夜攪拌した。その後、反応液をジクロロメタンで希釈し、飽和 NaHCO<sub>3</sub>

水溶液，飽和 NaCl 水溶液で洗浄し，MgSO<sub>4</sub> で乾燥した．減圧下溶媒を留去し，得られた残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Universal 16 g, Hexane/AcOEt = 85/15 → 50/50) で精製し，化合物 **78** (76.7 mg, 0.162 mmol, 55.3%) を得た．

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 7.83-7.80 (m, 3H), 7.76 (s, 1H), 7.48-7.44 (m, 3H), 5.96 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 4.75 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 4.69 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 4.57 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 4.24 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 4.08 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 3.99 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 3.79 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H), 3.62 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 3.56 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 1.36 (s, 3H), 1.29 (s, 3H), 0.90 (s, 9H), 0.11 (s, 3H), 0.09 (s, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 135.4, 133.3, 133.1, 128.3, 128.0, 127.8, 126.7, 126.2, 126.0, 125.9, 112.8, 105.3, 88.9, 88.5, 79.3, 73.8, 71.6, 65.3, 27.1, 26.6, 25.8, 18.1, -5.4, -5.6

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup>calcd. 497.2335; found 497.2392

#### **4-C-Benzoyloxymethyl-1,2-O-isopropylidene-3,5-O-[(*R*)-(4-methoxyphenyl)methylene]-α-L-xylofuranose (**80**)**

アルゴン雰囲気下，化合物 **64** (1.09 g, 3.21 mmol) を含むジクロロメタン/ピリジン (5/1, v/v) 混合溶液 (36.0 mL) にベンゾイルクロライド (410 μL, 3.53 mmol) を加え，室温で 3.5 時間攪拌した．その後，反応液に水を加えて反応を停止し，水層をジクロロメタンにて抽出した．得られた有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥し減圧下溶媒を留去した．フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Presep 50 g, Hexane/AcOEt = 85/15) により精製し，化合物 **80** (1.31 g, 2.97 mmol, 92.5%) を得た．

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 8.07 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.61 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.48 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.43 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.15 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 5.45 (s, 1H), 4.74 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.62 (d, *J* = 11.5 Hz, 2H), 4.47 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 4.38 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 4.18 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 1.65 (s, 3H), 1.32 (s, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 165.9, 160.4, 133.5, 129.8, 129.6, 128.7, 127.5, 113.8, 112.5, 106.4, 99.1, 85.3, 80.7, 79.2, 69.4, 64.7, 55.5, 26.1, 25.4

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup>calcd. 465.1525; found 465.1658

#### 4-C-Benzoyloxymethyl-1,2-O-isopropylidene- $\alpha$ -L-xylofuranose (**81**)

化合物 **80** (1.31 g, 2.97 mmol) を含むジクロロメタン溶液 (2.50 mL) に 80% 酢酸水溶液 (12.5 mL) を加え、室温で 24 時間攪拌した。その後、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液で中和し、ジクロロメタンで抽出した。得られた有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Presep 50 g, Hexane/AcOEt = 50/50 → 35/65) により精製し、化合物 **81** (788 mg, 2.43 mmol, 81.8%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.04-7.90 (m, 2H), 7.75-7.61 (m, 1H), 7.61-7.48 (m, 2H), 5.90 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 5.57 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.72 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 4.55 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.43 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 4.36 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 4.13 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.62 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H), 1.45 (s, 3H), 1.24 (s, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  165.4, 133.5, 129.6, 129.2, 128.8, 111.3, 104.5, 88.66, 87.4, 75.5, 63.3, 60.1, 26.5, 26.0

MS (ESI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup> calcd. 347.1107; found 347.1076

#### 4-C-Benzoyloxymethyl-1,2-O-isopropylidene-5-O-(*tert*-butyldiphenylsilyl)- $\alpha$ -L-xylofuranose (**82**)

アルゴン雰囲気下、化合物 **81** (788 mg, 2.43 mmol) を含む DMF 溶液 (24.3 mL) に *tert*-ブチルジフェニルシリルクロライド (749  $\mu$ L, 2.92 mmol), イミダゾール (331 mg, 4.86 mmol) を加え、30°C で 72 時間攪拌した。その後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣を酢酸エチルで希釈した。残渣を含む有機層を水、飽和 NaCl 水溶液で洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥した後、減圧下溶媒を留去した。フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ZIP 40 g, Hexane/AcOEt = 80/20 → 50/50) により精製し、化合物 **82** (1.19 g, 2.11 mmol, 86.8%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  7.95 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.72 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 7.65-7.55 (m, 6H), 7.41 (m, 2H), 7.34 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.28 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 5.95 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 5.73 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.65 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 4.57 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 4.45 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 4.23 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.93 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H), 3.78 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H), 1.48 (s, 3H), 1.25 (s, 3H), 0.92 (s, 9H)

$^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  165.3, 135.1, 135.0, 133.6, 132.6, 132.5, 129.8, 129.8, 129.4, 129.2, 128.8, 127.85, 127.79, 111.2, 104.9, 88.8, 87.1, 75.3, 63.1, 62.6, 26.4, 26.3, 25.7, 18.7

MS (ESI)  $m/z$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  calcd. 585.2285; found 585.2220

**4-C-Benzoyloxymethyl-3-deoxy-1,2-O-isopropylidene-5-O-(tert-butylidiphenylsilyl)- $\alpha$ -L-xylofuranose (83)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **82** (578 mg, 1.03 mmol) を含む THF 溶液 (10.3 mL) に二硫化炭素 (373  $\mu\text{L}$ , 6.18 mmol), ヨードメタン (385  $\mu\text{L}$ , 6.18 mmol) を加え、 $0^\circ\text{C}$  で 20 分攪拌した。その後、60%水素化ナトリウム in oil (82.4 mg, 2.06 mmol) を加えて  $0^\circ\text{C}$  で 30 分攪拌した。反応液をジクロロメタンで希釈した後、氷を加えて反応を停止し、水、飽和 NaCl 水溶液で洗浄した。洗浄した有機層を  $\text{MgSO}_4$  で乾燥し、減圧下溶媒を留去することでキサントゲン酸エステルを得た。

アルゴン雰囲気下、トルエンで共沸したキサントゲン酸エステルを含むトルエン溶液 (10.0 mL) に AIBN (84.5 mg, 0.515 mmol), トリストリメチルシリルシラン (949  $\mu\text{L}$ , 3.09 mmol) を加え、 $80^\circ\text{C}$  で 2 時間攪拌した。室温まで冷却した後、そのまま反応溶液をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ZIP 40 g, Hexane/AcOEt = 91/9) により精製し、化合物 **83** (512 mg, 0.936 mmol, 90.9%) を得た。

$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CHLOROFORM-}d$ )  $\delta$  7.92 (dd,  $J = 8.6, 1.1$  Hz, 2H), 7.72-7.60 (m, 4H), 7.55 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.47-7.27 (m, 8H), 5.91 (d,  $J = 4.0$  Hz, 1H), 4.82 (m, 1H), 4.60 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H), 4.47 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H), 3.71 (s, 2H), 2.31 (dd,  $J = 14.3, 6.3$  Hz, 1H), 2.20 (d,  $J = 14.3$  Hz, 1H), 1.60 (s, 3H), 1.33 (s, 3H), 1.04 (s, 9H)

$^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz,  $\text{CHLOROFORM-}d$ )  $\delta$  166.2, 135.8, 135.7, 133.13, 133.08, 130.1, 129.9, 128.4, 127.9, 112.8, 107.0, 87.1, 81.4, 66.9, 66.3, 36.0, 27.4, 26.9, 26.3, 19.3

MS (ESI)  $m/z$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  calcd. 569.2335; found 569.2394

**1,4-Anhydro-4-C-Benzoyloxymethyl-3-deoxy-5-O-(tert-butylidiphenylsilyl)-L-xylitol (84)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **83** (188 mg, 0.344 mmol) を含むジクロロメタン溶液 (3.44 mL) にトリエチルシラン (164  $\mu$ L, 1.03 mmol), 三フッ化ホウ素エチルエーテル (131  $\mu$ L, 1.03 mmol) を加え、0°C で 4 時間攪拌した。その後、反応液をジクロロメタンで希釈し、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液、飽和 NaCl 水溶液で洗浄した。洗浄した有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SNAP 10 g, Hexane/AcOEt = 75/25) により精製し、化合物 **84** (72.7 mg, 0.148 mmol, 43.0%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  7.98 (dd,  $J = 8.02, 1.2$  Hz, 2H), 7.72-7.61 (m, 4H), 7.56 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.48-7.29 (m, 8H), 4.56 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H), 4.50 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H), 4.48-4.45 (m, 2H), 3.91 (dt,  $J = 9.7, 1.7$  Hz, 1H), 3.87 (dd,  $J = 9.7, 4.0$  Hz, 1H), 3.72 (d,  $J = 10.3$  Hz, 1H), 3.62 (d,  $J = 10.3$  Hz, 1H), 2.27 (dd,  $J = 14.3, 6.3$  Hz, 1H), 2.19 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H), 1.98 (dt,  $J = 14.3, 1.7$  Hz, 1H), 1.07 (s, 9H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  166.6, 135.7, 133.2, 133.1, 130.1, 129.9, 129.8, 128.6, 127.9, 84.2, 76.0, 72.7, 66.9, 66.2, 39.9, 26.9, 19.4

MS (ESI)  $m/z$  (M+Na)<sup>+</sup>calcd. 513.2073; found 513.2028

**[(2'*R*,4'*S*)-4'-*C*-Benzoyloxymethyl-2'3'-dideoxy-5'-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-6-*N*-ditert-butoxycarbonyl]isoadenosine (**85**)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **84** (353 mg, 0.719 mmol) を含む THF 溶液 (7.20 mL) にトリフェニルホスフィン (415 mg, 1.58 mmol), *N*<sup>6</sup>-ditert-ブトキシカルボニルアデニン (531 mg, 1.58 mmol), ジイソプロピルアゾジカルボキシラート (370 mg, 1.58 mmol) を加え、室温で 18 時間攪拌した。その後、反応液を酢酸エチルで希釈し、飽和 NaCl 水溶液で洗浄した。洗浄した有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ZIP 40 g, Hexane/AcOEt = 75/25) により精製し、化合物 **85** (460 mg, 0.559 mmol, 77.7%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  8.77 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 7.99 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.64-7.56 (m, 5H), 7.46 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.38-7.22 (m, 6H), 5.45-5.42 (m, 1H), 4.62 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H), 4.45 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H), 4.43-4.37 (m, 2H), 3.95 (d,  $J = 10.3$  Hz, 1H), 3.77 (d,  $J = 10.3$  Hz, 1H), 2.70 (dd,  $J = 13.8, 8.0$  Hz, 1H), 2.57 (dd,  $J = 13.8, 5.7$  Hz, 1H), 1.38 (s, 18H), 0.99 (s, 9H)

$^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz, METHANOL- $d_4$ )  $\delta$  166.3, 153.3, 151.6, 150.3, 149.7, 145.0, 135.4, 133.2, 132.7, 129.82, 129.77, 129.4, 129.0, 128.4, 127.6, 84.6, 84.0, 70.2, 65.7, 65.1, 55.8, 36.5, 26.7, 26.0, 18.7

MS (ESI)  $m/z$  (M+H) $^+$  calcd. 808.3742; found 808.3758

**[(2'*R*,4'*S*)-2',3'-Dideoxy-4'-*C*-Hydroxymethyl-5'-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-6-*N*-*tert*-butoxycarbonyl]isoadenosine (86)**

化合物 **85** (129 mg, 0.160 mmol) を含む飽和アンモニアメタノール溶液 (30 mL) を室温で 17 時間攪拌した。その後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SNAP 10 g, Hexane/AcOEt = 25/75  $\rightarrow$  0/100) により精製し、化合物 **86** (79.3 mg, 0.131 mmol, 81.9%) を得た。

$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz, CHLOROFORM- $d$ )  $\delta$  8.71 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.67-7.57 (m, 4H), 7.51-7.28 (m, 6H), 5.26-5.23 (m, 1H), 4.37 (dd,  $J$  = 9.2, 6.3 Hz, 1H), 4.19 (dd,  $J$  = 9.2, 6.3 Hz, 1H), 3.85 (d,  $J$  = 10.3 Hz, 1H), 3.78-3.65 (m, 3H), 2.52 (dd,  $J$  = 13.8, 8.0 Hz, 1H), 2.44 (dd,  $J$  = 13.8, 6.9 Hz, 1H), 2.20 (s, 1H), 1.57 (s, 9H), 1.04 (s, 9H)

$^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz, CHLOROFORM- $d$ )  $\delta$  153.0, 151.1, 150.0, 149.8, 140.4, 135.7, 132.9, 130.09, 130.07, 127.9, 121.9, 86.2, 82.4, 71.3, 66.6, 65.7, 55.1, 36.3, 28.3, 27.0, 19.4

MS (APCI)  $m/z$  (M+Na) $^+$  calcd. 626.2775; found 626.2814

**[(2'*R*,4'*S*)-4'-*C*-Cyano-2',3'-dideoxy-5'-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-6-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)]isoadenosine (87)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **86** (682 mg, 1.13 mmol) を含むジクロロメタン溶液 (22.6 mL) にデスマーチンペルヨージナン (717 mg, 1.69 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。その後、反応液をジクロロメタンで希釈し、10%Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 水溶液で反応を停止した。さらに、有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥した後、減圧下溶媒を留去し、アルデヒド体を得た。

ピリジンで共沸したアルデヒド体を含むピリジン溶液 (11.3 mL) に NH<sub>2</sub>OH $\cdot$ HCl (177 mg, 2.54 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応液



を酢酸エチルで希釈した後、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液で洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥した。その後、減圧下溶媒を留去し、アルドキシム体を得た。

アセトニトリルで共沸したアルドキシム体を含むアセトニトリル溶液 (11.3 mL) に 1, 1'-カルボニルジイミダゾール (366 mg, 2.26 mmol) を加え、室温で 1.5 時間攪拌した。その後、反応液を酢酸エチルで希釈し、飽和 NaCl 水溶液で洗浄した。洗浄した有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SNAP 25 g, Hexane/AcOEt = 50/50) により精製し、化合物 **87** (420 mg, 0.701 mmol, 62.0%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 8.71 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.66-7.62 (m, 4H), 7.47-7.34 (m, 6H), 5.50-5.48 (m, 1H), 4.46 (dd, *J* = 10.3, 6.3 Hz, 1H), 4.39 (dd, *J* = 10.3, 3.4 Hz, 1H), 3.99 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 3.93 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 3.03 (dd, *J* = 14.3, 8.0 Hz, 1H), 2.69 (dd, *J* = 14.3, 5.2 Hz, 1H), 1.08 (s, 9H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ 153.2, 150.8, 150.2, 149.7, 140.0, 135.7, 132.1, 130.3, 128.1, 121.8, 119.1, 82.5, 80.5, 73.0, 66.5, 54.0, 41.0, 28.3, 26.9, 19.4

MS (APCI) *m/z* (M+Na)<sup>+</sup> calcd. 621.2622; found 621.2579

#### [(2'*R*,4'*S*)-4'-*C*-Cyano-2',3'-dideoxy]isoadenosine (**58**)

化合物 **87** (252 mg, 0.420 mmol) を含む 80%ギ酸溶液 (5.00 mL) を室温にて 5 時間攪拌した。その後、水、NaHCO<sub>3</sub> を加えて中和した後、反応液を酢酸エチルにて抽出した。得られた有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、減圧下溶媒を留去して脱 Boc 体を得た。

脱 Boc 体を含むメタノール溶液 (4.20 mL) に酸性フッ化アンモニウム (238 mg, 4.18 mmol) を加え、60°C で 90 分攪拌した。室温まで冷却した後、析出した粗生成物をろ取した。ろ取した粗生成物をメタノールから再結晶することで精製し、化合物 **58** (73.8 mg, 0.284 mmol, 67.6%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.17 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.26 (s, 2H), 5.82 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 5.42-5.37 (m, 1H), 4.38 (dd, *J* = 9.7, 4.0 Hz, 1H), 4.29 (dd, *J* = 9.7, 6.3 Hz, 1H), 3.72 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H), 2.97 (dd, *J* = 14.3, 8.0 Hz, 1H), 2.65 (dd, *J* = 14.3, 5.7 Hz, 1H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 156.0, 152.5, 149.3, 138.9, 120.2, 118.8, 80.4,

72.1, 64.5, 53.5, 39.9

MS (ESI)  $m/z$  (M+H)<sup>+</sup>calcd. 261.1100; found 261.1051

**[(2'*R*,4'*S*)-4'-*C*-Benzoyloxymethyl-2',3'-dideoxy-5'-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)]-2-amino-6-chloropurineisoneucleoside (88)**

アルゴン雰囲気下, 化合物 **84** (1.36 g, 2.77 mmol) を含む THF 溶液 (28.0 mL) にトリフェニルホスフィン (2.18 g, 8.31 mmol), 2-アミノ-6-クロロプリン (705 mg, 4.16 mmol), アゾジカルボン酸ジイソプロピル (804  $\mu$ L, 4.15 mmol) を加え, 0°C で 30 分攪拌した後, 室温へ昇温して終夜攪拌した. その後, 減圧下溶媒を留去し得られた残渣をフラッシュシリカゲルクロマトグラフィー (SNAP 10 g, Hexane/AcOEt = 50/50  $\rightarrow$  25/75) により精製し, 化合物 **88** (480 mg, 0.747 mmol, 27.0%) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  8.02 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 2H), 7.75 (s, 1H), 7.63-7.57 (m, 5H), 7.46 (t,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 7.42-7.37 (m, 2H), 7.34-7.28 (m, 4H), 5.14-5.10 (m, 1H), 4.98 (s, 2H), 4.57 (d,  $J$  = 11.5 Hz, 1H), 4.44 (d,  $J$  = 11.5 Hz, 1H), 4.37 (dd,  $J$  = 9.7, 5.7 Hz, 1H), 4.21 (dd,  $J$  = 9.7, 5.2 Hz, 1H), 3.96 (d,  $J$  = 10.3 Hz, 1H), 3.65 (d,  $J$  = 10.3 Hz, 1H), 2.52 (dd,  $J$  = 13.8, 8.0 Hz, 1H), 2.39 (dd,  $J$  = 13.8, 5.7 Hz, 1H), 1.04 (s, 9H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  166.4, 159.0, 153.6, 151.7, 140.1, 135.6, 133.4, 132.7, 130.8, 129.9, 129.8, 128.6, 127.9, 125.6, 84.8, 71.1, 66.0, 65.7, 54.7, 37.1, 26.9, 19.3

MS (ESI)  $m/z$  (M+H)<sup>+</sup>calcd. 642.2303; found 642.2264

**[(2'*R*,4'*S*)-2',3'-Dideoxy-4'-*C*-hydroxymethyl-5'-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)]-2-amino-6-chloropurineisoneucleoside (89)**

化合物 **88** (470 mg, 0.732 mmol) を含む飽和アンモニアメタノール溶液 (50 mL) を室温で終夜攪拌した. その後, 減圧下溶媒を留去し, 得られた残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Universal 16 g, Hexane/AcOEt = 50/50  $\rightarrow$  40/60  $\rightarrow$  30/70) により精製し, 化合物 **89** (353 mg, 0.655 mmol, 89.5%) を得た.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  7.72 (s, 1H), 7.65-7.60 (m, 4H), 7.44-7.33 (m, 6H), 5.06-5.03 (m, 1H), 4.95 (s, 2H), 4.31 (dd,  $J$  = 9.2, 6.3 Hz, 1H), 4.13 (dd,  $J$  = 9.2, 6.9 Hz, 1H), 3.86 (d,  $J$  = 10.3 Hz, 1H), 3.75 (dd,  $J$  = 11.5, 6.3

Hz, 1H), 3.68 (dd,  $J = 11.5, 6.3$  Hz, 1H), 3.63 (d,  $J = 10.3$  Hz, 1H), 2.46 (dd,  $J = 13.2, 8.6$  Hz, 1H), 2.32 (dd,  $J = 13.2, 6.9$ , 1H), 1.05 (s, 9H)

$^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*) 159.0, 153.7, 151.7, 140.2, 135.7, 132.9, 130.1, 128.0, 125.6, 86.2, 70.9, 66.6, 65.9, 54.8, 36.1, 27.0, 19.4

MS (ESI)  $m/z$  (M+H)<sup>+</sup>calcd. 538.2041; found 538.2028

**[(2'*R*,4'*S*)-4'-*C*-Cyano-2',3'-dideoxy-5'-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)]-2-amino-6-chloropurine nucleoside (90)**

アルゴン雰囲気下、化合物 **89** (153 mg, 0.284 mmol) を含むジクロロメタン溶液 (5.68 mL) にデスマーチンペルヨージナン (181 mg, 0.427 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。その後、反応液をジクロロメタンで希釈し、10%Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 水溶液にて反応を停止した。さらに、有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥した後、減圧下溶媒を留去することでアルデヒド体を得た。

ピリジンで共沸したアルデヒド体を含むピリジン溶液 (2.84 mL) に NH<sub>2</sub>OH·HCl (38.8 mg, 0.558 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。その後、反応液を酢酸エチルで希釈し、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液で洗浄した。洗浄した有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、減圧下溶媒を留去することでアルドキシム体を得た。

アセトニトリルで共沸したアルドキシム体を含む アセトニトリル溶液 (5.68 mL) に 1, 1'-カルボニルジイミダゾール (91.7 mg, 0.566 mmol) を加え、室温で 5 時間攪拌した。その後、反応液を酢酸エチルで希釈し、飽和 NaCl 水溶液で洗浄した。洗浄した有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SNAP 10 g, Hexane/AcOEt = 60/40 → 55/45) により精製し、化合物 **90** (35.5 mg, 0.0666 mmol, 23.5%) を得た。

$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz, CHLOROFORM-*d*)  $\delta$  7.72 (s, 1H), 7.66-7.63 (m, 4H), 7.47-7.35 (m, 6H), 5.32-5.27 (m, 1H), 5.06 (s, 2H), 4.42 (dd,  $J = 10.3, 6.3$  Hz, 1H), 4.34 (dd,  $J = 10.3, 4.0$  Hz, 1H), 4.00 (d,  $J = 10.9$  Hz, 1H), 3.87 (d,  $J = 10.9$  Hz, 1H), 2.96 (dd,  $J = 14.3, 8.0$  Hz, 1H), 2.56 (dd,  $J = 14.3, 5.2$  Hz, 1H), 1.09 (s, 9H)

$^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz, CHLOROFORM-*d*) 159.0, 153.3, 151.9, 139.6, 135.6, 132.1, 130.3, 128.1, 125.4, 119.1, 80.4, 72.6, 66.6, 53.7, 40.9, 26.8, 19.3

MS (ESI) m/z (M+H)<sup>+</sup>calcd. 533.1888; found 533.1858

**[(2'R,4'S)-2-Amino-4'-C-cyano-2',3'-dideoxy]isoadenosine (59)**

化合物 **90** (36.8 mg, 0.0690 mmol) を含む飽和アンモニア性メタノール溶液 (20.0 mL) を 80°C にて終夜攪拌した。室温まで冷却した後、減圧下溶媒を留去してジアミノプリン体を得た。

ジアミノプリン体を含む THF 溶液 (2.76 mL) に 1.0 M TBAF in THF (138  $\mu$ L, 0.138 mmol) を加え、室温で 40 分攪拌した。その後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SNAP 10 g, DCM/AcOEt = 90/10  $\rightarrow$  85/15) により精製し、化合物 **59** (11.4 mg, 0.0413 mmol, 59.9%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  7.92 (s, 1H), 5.32-5.30 (m, 1H), 4.39 (dd, *J* = 10.3, 4.0 Hz, 1H), 4.36 (dd, *J* = 10.3, 6.3 Hz, 1H), 3.89 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 3.81 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 2.97 (dd, *J* = 14.3, 8.0 Hz, 1H), 2.67 (dd, *J* = 14.3, 5.2 Hz, 1H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) 160.6, 156.3, 151.4, 136.2, 119.2, 112.8, 80.6, 72.6, 64.5, 53.8, 39.6

MS (ESI) m/z (M+H)<sup>+</sup>calcd. 276.1209; found 276.1167

**[(2'R,4'S)-4'-C-Cyano-2',3'-dideoxy]isoadenosine phosphoramidite (60)**

化合物 **59** (70.0 mg, 0.269 mmol) を含む THF 溶液 (1.35 mL) に 1-メチルイミダゾール (353.8  $\mu$ L 4.44 mmol), 1.0 M (フェニルメトキシアラルニル) ホスホクロリデート in THF (1.35 mL, 1.35 mmol) を加え、室温で 24 時間攪拌した。その後、反応液を酢酸エチルで希釈し、10%酢酸水溶液、水、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液で洗浄した。洗浄した有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、減圧下溶媒を留去した。フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SNAP 10 g, DCM/MeOH = 97/3  $\rightarrow$  93/7  $\rightarrow$  90/10  $\rightarrow$  80/20) により精製し、化合物 **60** (12.5 mg, 0.0249 mmol, 9.26%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  8.10-8.07 (m, 2H), 7.25-7.18 (m, 2H), 7.11-7.05 (m, 3H), 5.40-5.37 (m, 1H), 4.46-4.30 (m, 4H), 3.90-3.86 (m, 1H), 3.58-3.56 (m, 3H), 3.02-2.97 (m, 1H), 2.72-2.61 (m, 1H), 1.26-1.22 (m, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  175.53, 175.49, 175.35, 175.31, 157.35, 153.83, 151.89, 151.85, 150.56, 150.48, 140.65, 140.60, 130.79, 130.74, 126.34,

126.22, 121.49, 121.45, 121.27, 121.23, 120.29, 119.39, 119.25, 79.97, 79.90,  
73.82, 73.66, 69.21, 69.17, 68.60, 55.74, 55.71, 52.80, 51.60, 51.42, 41.38, 41.28,  
20.36, 20.30, 20.25, 20.19

$^{31}\text{P}$ -NMR (202 MHz, METHANOL- $d_4$ )  $\delta$  3.02, 2.72

MS (ESI)  $m/z$  (M+H) $^+$  calcd. 502.1604; found 502.1588

## 参考文献

- [1] WHO fact sheet  
<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>
- [2] 日本肝臓学会 B型肝炎  
<https://www.jsh.or.jp/vaccine/>
- [3] Lozano, R. *et al.* Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* **380**, 2095–2128 (2012).
- [4] Trépo, C., Chan, H. L. Y. & Lok, A. Hepatitis B virus infection. *Lancet* **384**, 2053–2063 (2014).
- [5] NIID 国立感染症研究所  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/a/echinococcus/392-encyclopedia/321-hepatitis-b-intro.html>
- [6] 日本肝臓学会 B型肝炎治療ガイドライン (第3版)
- [7] NIID 国立感染症研究所  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/allarticles/surveillance/2347-iasr/related-articles/related-articles-438/6675-438r02.html>
- [8] 四柳 宏 *et al.* B型肝炎 universal vaccination へ向けて. *肝臓*. **53**, 117–130 (2012).
- [9] 肝炎.net B型肝炎ウイルスに感染すると  
<http://www.kanen-net.info/kanennet/bkanennet/info-08>
- [10] Beasley, R. P. Rocks along the Road to the Control of HBV and HCC. *Ann. Epidemiol.* **19**, 231–234 (2009).
- [11] Shepard, C. W. *et al.* Hepatitis B virus infection: Epidemiology and vaccination. *Epidemiol. Rev.* **28**, 112–125 (2006).
- [12] Chen, Y. G. *et al.* Age-specific prognosis following spontaneous hepatitis B e antigen seroconversion in chronic hepatitis B. *Hepatology* **51**, 435–444 (2010).
- [13] Tai, D. I. *et al.* Long-term outcome of hepatitis B e antigen-negative hepatitis B surface antigen carriers in relation to changes of alanine aminotransferase levels over time. *Hepatology* **49**, 1859–1867 (2009).
- [14] Chu, C. M. & Liaw, Y. F. Predictive Factors for Reactivation of Hepatitis B Following Hepatitis B e Antigen Seroconversion in Chronic Hepatitis B.

*Gastroenterology* **133**, 1458–1465 (2007).

[15] ペガシス皮下注® 添付文書

[16] Honkoop, P. *et al.* Lamivudine resistance in immunocompetent chronic hepatitis B. Incidence and patterns. *J. Hepatol.* **26**, 1393–1395 (1997).

[17] Ono-Nita, S. K. *et al.* Susceptibility of lamivudine-resistant hepatitis B virus to other reverse transcriptase inhibitors. *J. Clin. Invest.* **103**, 1635–1640 (1999).

[18] Vassiliadis, T. G. *et al.* Adefovir plus lamivudine are more effective than adefovir alone in lamivudine-resistant HBeAg- chronic hepatitis B patients: A 4-year study. *J. Gastroenterol. Hepatol.* **25**, 54–60 (2010).

[19] Rapti, I., Dimou, E., Mitsoula, P. & Hadziyannis, S. J. Adding-on versus switching-to adefovir therapy in lamivudine-resistant HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* **45**, 307–313 (2007).

[20] ヘプセラ錠® 添付文書

[21] Suzuki, Y. *et al.* Efficacy of entecavir treatment for lamivudine-resistant hepatitis B over 3 years: Histological improvement or entecavir resistance? *J. Gastroenterol. Hepatol.* **24**, 429–435 (2009).

[22] テノゼット錠® 添付文書

[23] ベムリディ錠® 添付文書

[24] Choi, J. R. *et al.* A novel class of phosphonate nucleosides. 9-[(1-phosphonomethoxycyclopropyl) methyl] guanine as a potent and selective anti-HBV agent. *J. Med. Chem.* **47**, 2864–2869 (2004).

[25] Yuen, M. F. *et al.* Two-year treatment outcome of chronic hepatitis B infection treated with besifovir vs. entecavir: Results from a multicentre study. *J. Hepatol.* **62**, 526–532 (2015).

[26] Brahmania, M., Feld, J., Arif, A. & Janssen, H. L. A. New therapeutic agents for chronic hepatitis B. *Lancet Infect. Dis.* **16**, e10–e21 (2016).

[27] Gripon, P., Cannie, I. & Urban, S. Efficient Inhibition of Hepatitis B Virus Infection by Acylated Peptides Derived from the Large Viral Surface Protein. *J. Virol.* **79**, 1613–1622 (2005).

[28] Volz, T. *et al.* The entry inhibitor Myrcludex-B efficiently blocks intrahepatic virus spreading in humanized mice previously infected with hepatitis B virus. *J. Hepatol.* **58**, 861–867 (2013).

[29] Blank, A. *et al.* First-in-human application of the novel hepatitis B and

- hepatitis D virus entry inhibitor myrcludex B. *J. Hepatol.* **65**, 483–489 (2016).
- [30] Wu, G. *et al.* Preclinical characterization of GLS4, an inhibitor of Hepatitis B virus core particle assembly. *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**, 5344–5354 (2013).
- [31] Korba, B. E. *et al.* Nitazoxanide, tizoxanide and other thiazolidines are potent inhibitors of hepatitis B virus and hepatitis C virus replication. *Antiviral Res.* **77**, 56–63 (2008).
- [32] Sekiba, K. *et al.* Inhibition of HBV Transcription From cccDNA With Nitazoxanide by Targeting the HBx–DDB1 Interaction. *Cmgh* **7**, 297–312 (2019).
- [33] Rossignol, J. & Bréchet, C. A Pilot Clinical Trial of Nitazoxanide in the Treatment of Chronic Hepatitis B. *Hepatol. Commun.* **3**, 744–747 (2019).
- [34] Valaydon, Z. S. & Locarnini, S. A. The virological aspects of hepatitis B. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* **31**, 257–264 (2017).
- [35] Yan, H. *et al.* Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. *Elife* **2012**, 1–28 (2012).
- [36] Yan, H. *et al.* Molecular Determinants of Hepatitis B and D Virus Entry Restriction in Mouse Sodium Taurocholate Cotransporting Polypeptide. *J. Virol.* **87**, 7977–7991 (2013).
- [37] Iwamoto, M. *et al.* Evaluation and identification of hepatitis B virus entry inhibitors using HepG2 cells overexpressing a membrane transporter NTCP. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **443**, 808–813 (2014).
- [38] Lucifora, J. & Protzer, U. Attacking hepatitis B virus cccDNA – The holy grail to hepatitis B cure. *J. Hepatol.* **64**, S41–S48 (2016).
- [39] 堤 進 *et al.* B 型肝炎創薬研究の最前線. *肝臓.* **58**, 217–227 (2017).
- [40] Grimm, D., Thimme, R. & Blum, H. E. HBV life cycle and novel drug targets. *Hepatol. Int.* **5**, 644–653 (2011).
- [41] Seto, W. K. *et al.* Chronic hepatitis B virus infection. *Lancet* **392**, 2313–2324 (2018).
- [42] Dienstag, J. L. *et al.* Lamivudine as initial treatment for chronic hepatitis B in the United States. *The New England Journal of Medicine* **341**, 1256–1263 (1999).
- [43] Suzuki F. *et al.* Clinical and Virological Features of Non- Breakthrough and Severe Exacerbation Due to Lamivudine-Resistant Hepatitis B Virus Mutants. *J.*



*Med. Virol.* **78**, 341–352 (2006).

[44] Liaw, Y. F., Chien *et al.* Acute exacerbation and hepatitis B virus clearance after emergence of YMDD motif mutation during lamivudine therapy. *Hepatology* **30**, 567–572 (1999).

[45] Tenney, D. J. *et al.* Clinical emergence of entecavir-resistant hepatitis B virus requires additional substitutions in virus already resistant to lamivudine. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**, 3498–3507 (2004).

[46] Suzuki, F. *et al.* Virologic breakthrough in a patient with chronic hepatitis B by combination treatment with tenofovir disoproxil fumarate and entecavir. *Drug Des. Devel. Ther.* **8**, 869–873 (2014).

[47] Battila, N. & Loeb, L. A. On the fidelity of DNA replication. Lack of exodeoxyribonuclease activity and error-correcting function in avian myeloblastosis virus DNA polymerase. *J Biol Chem.* **251**, 982–986 (1976).

[48] 佐藤裕徳 & 横山勝. RNA ウイルスと変異. *ウイルス* **55**, 221–230 (2005).

[49] Mitsuya, H. *et al.* 3'-Azido-3'-deoxythymidine (BW A509U): An antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **82**, 7096–7100 (1985).

[50] 杉浦互. 抗 HIV-1 薬剤の現状と薬剤開発の新たな展開. *ウイルス* **55**, 85–94 (2005).

[51] 抗 HIV 治療ガイドライン

[52] 沖山雅彦, 河嶋浩明 & 福西左知. 核酸系逆転写酵素阻害薬ジダノシン (ヴァイデックス) の薬理作用と臨床効果. *日薬理誌* **120**, 115–122 (2002).

[53] Seifer, M., Hamatake, R. K., Colonno, R. J. & Standring, D. N. In vitro inhibition of hepadnavirus polymerases by the triphosphates of BMS-200475 and lobucavir. *Antimicrob. Agents Chemother.* **42**, 3200–3208 (1998).

[54] Tchesnokov, E. P., Obikhod, A., Schinazi, R. F. & Götte, M. Delayed chain termination protects the anti-hepatitis B virus drug entecavir from excision by HIV-1 reverse transcriptase. *J. Biol. Chem.* **283**, 34218–34228 (2008).

[55] Jenkins, I. D., Verheyden, J. P. I. & Moffatt, J. G. Synthesis of the Nucleoside Antibiotic Nucleocidin. *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 4323–4324 (1971).

- [56] Maag, H. *et al.* Synthesis and Anti-HIV Activity of 4'-Azido-and 4'-Methoxynucleosides. *J. Med. Chem.* **35**, 1440–1451 (1992).
- [57] Verheyden, J. P. H. & Moffatt, J. G. 4'-Substituted Nucleosides. I. Synthesis of 4'-Methoxyuridine and Related Compounds. *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 4386–4395 (1975).
- [58] Betson, M., Allanson, N. & Wainwright, P. A review of methods to synthesise 4'-substituted nucleosides. *Org. Biomol. Chem.* **12**, 9291–9306 (2014).
- [59] Hayakawa, H. *et al.* Potential of 4'-C-substituted nucleosides for the treatment of HIV-1. *Antivir. Chem. Chemother.* **15**, 169–187 (2004).
- [60] Wang, Q. *et al.* Synthesis of new 2'-deoxy-2'-fluoro-4'-azido nucleoside analogues as potent anti-HIV agents. *Eur. J. Med. Chem.* **46**, 4178–4183 (2011).
- [61] Wu, J. *et al.* Design, synthesis, and biological evaluation of new 2'-deoxy-2'-fluoro-4'-triazole cytidine nucleosides as potent antiviral agents. *Eur. J. Med. Chem.* **63**, 739–745 (2013).
- [62] 立体電子効果 三次元の有機電子論 A.J.カービー著 鈴木啓介訳
- [63] Kirby, K. A. *et al.* Effects of substitutions at the 4' and 2' positions on the bioactivity of 4'-ethynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine. *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**, 6254–6264 (2013).
- [64] Takamatsu, Y. *et al.* 4'-modified nucleoside analogs: Potent inhibitors active against entecavir-resistant hepatitis B virus. *Hepatology* **62**, 1024–1036 (2015).
- [65] Higashi-Kuwata, N. *et al.* CMCdG, a Novel Nucleoside Analog with Favorable Safety Features, Exerts Potent Activity against Wild-Type and Entecavir-Resistant Hepatitis B Virus Nobuyo. *Antimicrob. Agents Chemother.* **63**, e02143-18 (2019).
- [66] Kohgo, S. *et al.* Synthesis of 4'-Substituted Purine 2'-Deoxynucleosides and Their Activity against Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Hepatitis B Virus. *ChemistrySelect* **3**, 3313–3317 (2018).
- [67] Matthes, E. *et al.* Potent inhibition of hepatitis B virus production in vitro by modified pyrimidine nucleosides. *Antimicrob. Agents Chemother.* **34**, 1986–1990 (1990).
- [68] Yang, Q. *et al.* Synthesis and biological evaluation of 4-substituted fluoronucleoside analogs for the treatment of hepatitis B virus infection. *J. Med. Chem.* **58**, 3693–3703 (2015).

- [69] Lv, Z. *et al.* Design, synthesis, and biological evaluation of new N 4-Substituted 2'-deoxy-2'-fluoro-4'-azido cytidine derivatives as potent anti-HBV agents. *Eur. J. Med. Chem.* **101**, 103–110 (2015).
- [70] Zoltewicz, J. A., Clark, D. F., Sharpless, T. W. & Grahe, G. Kinetics and Mechanism of the Acid-Catalyzed Hydrolysis of Some Purine Nucleosides. *J. Am. Chem. Soc.* **92**, 1741–1750 (1970).
- [71] Hevesi, L., Wolfson-Davidson, E., Nagy, J. B., Nagy, O. B. & Bruylants, A. Contribution to the Mechanism of the Acid-Catalyzed Hydrolysis of Purine Nucleosides. *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 4715–4720 (1972).
- [72] York, J. L. Effect of the Structure of the Glycon on the Acid-Catalyzed Hydrolysis of Adenine Nucleosides. *J. Org. Chem.* **46**, 2171–2173 (1981).
- [73] Nair, V. & Buenger, G. S. Hydrolysis of Dideoxygenated Purine Nucleosides: Effect of Modification of the Base Moiety. *J. Org. Chem.* **55**, 3695–3697 (1990).
- [74] Montgomery, J. A., Clayton, S. D. & Thomas, H. J. Isonucleosides. I. Preparation of Methyl 2-Deoxy-2-(purin-9-yl)arabinofuranosides and Methyl 3-Deoxy-3-(purin-9-yl)xylofuranosides. *J. Org. Chem.* **40**, 1923–1927 (1975).
- [75] Montgomery, J. A. & Thomas, H. J. Isonucleosides. 2. Purine and Pyrimidine Derivatives of 1,4-Anhydro-2-deoxy-D-arabinitol. *J. Org. Chem.* **43**, 541–544 (1978).
- [76] Huryn, Donna.M. *et al.* Synthesis of iso-ddA, member of a novel class of anti-HIV agents. *Tetrahedron Letters.* **30**, 6259-6262 (1989).
- [77] Huryn, D. M. *et al.* Synthesis and Anti-HIV Activity of Isonucleosides. *J. Med. Chem.* **35**, 2347–2354 (1992).
- [78] Franchetti, P. *et al.* Synthesis and Evaluation of the Anti-HIV Activity of Aza and Deaza Analogs of IsoddA and Their Phosphates as Prodrugs. *J. Med. Chem.* **37**, 3534–3541 (1994).
- [79] Jeong, L. S. & Yoo, S. J. Synthesis and antiviral activity of novel isodideoxy nucleosides with exocyclic methylene. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **8**, 847–852 (1998).
- [80] Jeong, L. S. *et al.* Synthesis and antiviral activity of D- and L-isodideoxy nucleosides with exocyclic-methylene. *Nucleosides Nucleotides.* **18**, 655-656 (1999).

- [81] Yoo, S. J., Kim, H. O., Lim, Y., Kim, J. & Jeong, L. S. Synthesis of novel (2R,4R)- and (2S,4S)-iso dideoxynucleosides with exocyclic methylene as potential antiviral agents. *Bioorganic Med. Chem.* **10**, 215–226 (2002).
- [82] Yoshimura, Y., Asami, K., Matsui, H., Tanaka, H. & Takahata, H. New synthesis of (±)-isonucleosides. *Org. Lett.* **8**, 6015–6018 (2006).
- [83] Yoshimura, Y. *et al.* Construction of an isonucleoside on a 2,6-dioxobicyclo[3.2.0]-heptane skeleton. *Molecules* **20**, 4623–4634 (2015).
- [84] Doboszewski, B. & Herdewijn, P. Carbohydrate chiral-pool approach to four enantiomerically pure 2-naphthylmethyl 3-hydroxy-2-methylbutanoates. *Tetrahedron* **64**, 5551–5562 (2008).