

論文審査の結果の要旨

氏名 川中 俊秀

本論文は、ボラノホスフェート DNA を用いた DNA 類縁体の新規合成法の開発と、穏和な中性条件下除去可能なグアニン O^6 位の保護基の開発について述べたものであり、序論および本論の 6 章により構成されている。

序論では、これまでに報告されているリン酸部位修飾型 DNA 類縁体の応用例および合成方法、核酸塩基部位へ導入される保護基を列挙し、その合成法の問題点とともに、本研究の目的と意義を述べている。

第一章では、グアニン O^6 位の新しい保護基の開発について検討した結果について述べている。まず、穏和な中性条件下除去可能な保護基として、4-[(2-アジドメチル)ベンゾイロキシ]ベンジル (AZBn) 基をデザインし、その開発を行なっている。AZBn 基のグアニン O^6 位への導入反応を行ない、目的物を良好な収率で合成している。得られた 2'-デオキシグアノシン誘導体の AZBn 基の除去を行ない、脱保護反応で副生するキノンメチドがグアニン塩基へ付加する副反応を観測している。そこで、キノンメチドの捕捉剤を種々検討し、2-メルカプトエタノールが捕捉剤として効果的に働き、脱保護反応時の副反応を抑制することに成功している。

第二章では、液相法によるジヌクレオシドボラノホスフェートの合成について述べている。まず、AZBn 基および AZBn 基と同様の穏和な中性条件下除去可能な(2-アジドメチル)ベンゾイル (AZMB) 基により核酸塩基部位を、3'水酸基を AZMB 基で保護した T、A、C、G のヌクレオシド誘導体の合成を行なっている。次に、5'水酸基および N^3 位を AZMB 基で保護したチミジン誘導体を合成し、これの 3'水酸基のボラノホスホリル化反応を行なっている。合成したチミジニルボラノホスホジエステルと遊離の 5'水酸基を有するヌクレオシド誘導体との縮合反応を行ない、目的とするジヌクレオシドボラノホスフェートを合成している。

第三章では、ジヌクレオシドボラノホスフェートを用いて、液相でボラノホスフェートの変換反応および DNA 類縁体合成法の開発について述べている。ジチミジンボラノホスフェートを用いて、対応する *H*-ホスホネートジエステルへの変換反応を試みた結果、目的物以外にリン原子にトリチルカチオンが付加したの副反応生成物を観測している。そこで、反応条件の検討を行ない、定量的に *H*-ホスホネートジエステルが得られる反応条件を確立している。この反応条件を他の核酸塩基を含むボラノホスフェートの変換反応に応用し、それぞれの誘導体について 95%以上の収率で *H*-ホスホネートジエステルを得ている。次に、ジヌクレオシドボラノホスフェートを用いて、*H*-ホスホネートへと誘導した後に、天然型リン酸ジエステルおよびリン酸部位修飾型 DNA 類縁体の合成を行なっている。最後に、核酸塩基部位の脱保護を行ない、従来は合成が困難であった化合物を含む DNA 類縁体の脱保護体の単離に成功し、本法が様々な DNA 類縁体合成に適用可

能であることを示している。

第四章では、ジヌクレオシドボラノホスフェートの固相合成について述べている。固相法への応用にあたり、新たにグアニン O^6 位の保護基の開発を行なっている。4-アジドベンジル (ABn) 基を新たにグアニンラクタム部位の保護基として用いることを試み、AZBn 基と比較して高収率で導入および除去を行なうことに成功している。この ABn 基および AZMB 基で核酸塩基部位を保護したヌクレオシドを用いてモノマーユニットの合成を行なっている。モノマーユニットを用いて、固相担体上に担持されたチミジン誘導体の 5' 水酸基との縮合反応条件の検討を行なった結果、縮合剤として PyNTP を、塩基として DMAN を用いることで、高収率で縮合反応が進行することを見出している。次に、グアノシンモノマーユニットによりボラノホスフェート二量体を合成し、固相担体上での ABn 基の除去を試み、除去反応で副生するイミノキノンのヌクレオチドへの付加反応を観測している。そこで、脱保護反応の条件検討を行ない、2-メルカプトエタノール存在下、副反応をほぼ抑制することに成功している。

第五章では、固相担体上でのボラノホスフェートの変換反応について述べている。まずシチジンを含むジヌクレオシドボラノホスフェートの変換反応を行ない、液相法で確立した条件では、反応が完結しないことを見出している。さらに反応条件の検討を行ない、 TrBF_4 をトリチルカチオン源として用いることで、高効率で変換反応が進行することを見出している。しかしながら、このトリチルカチオン源を用いると、2'-デオキシアデノシン誘導体では、デプリネーションなどの副反応が進行することを判明し、再度反応条件の検討を行なった結果、脱保護反応を行ない塩基部無保護体に誘導した後に、 TrBF_4 と比較してよりルイス酸性の弱いと考えられる DMTrBF_4 を用いることで、効率的に変換反応が行なえることを述べている。

第六章では、三量体、四量体での変換反応とリン酸部位修飾型 DNA 類縁体の合成について述べている。二量体での合成法の検討を踏まえ、新規 DNA 類縁体合成法をオリゴマー合成に適用すべく、三量体および四量体のボラノホスフェートを用いて変換反応を試みている。脱保護反応後に DMTrBF_4 により変換反応を行なった結果、ボラノホスフェートの収率と比較して、変換後の収率が低下していることを見出している。この収率低下の原因として、リン原子とトリチルカチオンの副反応が考えられるため、液相での検討を踏まえて、反応温度を 0°C に下げて反応を行なっている。その結果、変換反応が定量的に進行することを示しており、新規 DNA 類縁体合成法がオリゴマー合成に適用可能でありことを示している。以上の検討の結果を踏まえ、固相担体上でメチルホスフェート DNA およびホスホロホルホリデート DNA の合成を行ない、それぞれ良好な収率で目的物を得ている。このことから、新規 DNA 類縁体合成法が、メチルホスフェートのように従来合成が困難であった DNA 類縁体の効率的合成に適していることを示している。

以上のように、穏和な条件下除去可能な保護基を核酸塩基部位に導入し、ボラノホスフェート DNA を出発物質として用いることで、従来合成が困難であったリン酸部位修飾型 DNA 類縁体を含む様々な DNA 類縁体を効率的に合成できることを明らかにしている。これらの成果は、有機合成化学、核酸化学、医科学の進展に寄与するところ大である。

よって本論文は、博士 (生命科学) の学位請求論文として合格と認められる。