



Title	1-[(2-Hydroxyethoxy) methyl] -6- (phenylthio) thymine (HEPT) 誘導体の合成と抗HIV作用に関する研究
Author(s)	高嶋, 秀昭
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3184391
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine
(HEPT) 誘導体の合成と抗 HIV 作用に関する研究

2001年

高嶋 秀昭

目 次

緒論	1
本論	5
第1章 単独に各位置換したHEPT誘導体の合成およびその抗HIV活性	5
第1節 各位置換HEPT誘導体の合成	6
第2節 各位置換HEPT誘導体の抗HIV活性	17
第2章 複数の置換基変換をした高機能HEPT類縁体の合成および抗HIV活性	25
第1節 Acyclonucleoside簡易合成法の開発	26
第2節 HEPT類縁体の合成	30
第3節 抗HIV活性	34
第3章 HEPT類縁体の抗HIV作用機序および臨床的有用性の検討	38
第1節 HEPT類縁体の抗HIV作用機序の検討	38
第2章 HEPT類縁体 89a (MKC-442) の臨床的有用性の検討	41
結論	43
謝辞	45
実験の部	46
第1章第1節の実験	46
第1章第2節の実験	84
第2章第1節の実験	85
第2章第2節の実験	89
第2章第3節の実験	102
第3章第1節の実験	102
第3章第2節の実験	102
引用文献	104

緒 論

アメリカ合衆国で1981年に最初に症例が報告されたAIDS（acquired immunodeficiency syndrome: 後天性免疫不全症候群）とは、高度の細胞性免疫機能低下による日和見感染症、悪性腫瘍、痴呆などの総称であり、ほとんど確実に死に至る疾患である。

AIDSの病原体は、1983年Montagnierら¹によって、続いて1984年Galloらに²によって分離されたヒト免疫不全ウイルス（human immunodeficiency virus: HIV）である。また、このウイルス以外に1986年西アフリカのAIDS患者より新たなAIDS病原ウイルスが分離された³。従って、前者をHIV type-1（HIV-1）、後者をHIV type-2（HIV-2）と呼ぶようになった。なお、全世界でのHIV感染患者の大部分はHIV-1感染患者であり、HIV-2感染患者は西アフリカの一部などのごく限定された地域に見られるのみである⁴。

世界保健機構（WHO）の統計によると、1997年末現在、全世界でのHIV感染者（含AIDS患者）は3060万人、累計死者は1170万人となっている⁵。

HIV感染の原因は性交渉、HIV汚染血液の輸血、HIV汚染血液製剤、および母子感染などが知られている⁶。輸血用血液検査体制の確立、社会におけるAIDS啓発活動、および種々の治療薬の開発などにより、北アメリカやヨーロッパなどの先進国では新たな感染者の増加は抑えられる傾向にある⁵。しかし、発展途上国、特にアジアやアフリカでは現在でもHIV感染者は爆発的に増加しており、全世界では1997年の1年間で580万人の新たな感染者が報告され、また230万人のAIDS患者が死亡している⁵。このような傾向は21世紀に入っても継続すると考えられており、現在および将来にわたりHIV感染症は全世界的な重大な社会問題である。

HIVはレトロウイルス科（Family Retroviridae）に属し、ヒトのT4リンパ球などCD4陽性細胞に感染する。HIV粒子は遺伝子RNA、逆転写酵素（reverse transcriptase: RT）、およびその他のコア蛋白質より構成され、その中心部のコアが糖蛋白質と宿主細胞由来の脂質二重膜よりなるエンベロップに囲まれた構造を持つ（Fig. 1）⁷。

HIVの複製増殖サイクルをFig. 2に示すが^{8,9}、まずHIV粒子表面のgp120がTリンパ球表面のCD4レセプターに吸着しHIVコアが細胞に侵入

する。次いでRNA遺伝子を包んでいるコア蛋白質であるp24が除去される脱殻が起こり遺伝子が露出する。露出したRNA遺伝子は宿主細胞の細胞質においてHIV自身を持つRTにより逆転写され、二本鎖ウイルスDNA（cDNA）に転換される（逆転写過程）。

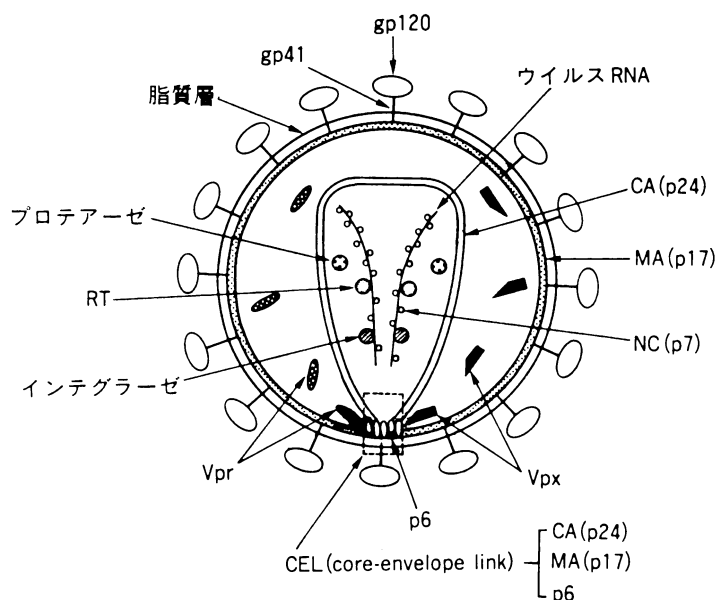


Fig. 1 HIV Particle

そしてウイルスDNAは細胞核に移送され、ウイルス酵素であるインテグラーゼにより宿主遺伝子DNAに組み込まれプロウイルスとなる。以上までが複製サイクル前期である。

複製サイクル後期はウイルス遺伝子RNA、ウイルス蛋白質の合成、蛋白質の修飾、ウイルスコアのアセンブリー、そして宿主細胞よりの出芽である。HIV感染細胞に対する何らかの刺激により、宿主遺伝子に組み込まれたプロウイルスDNAよりのウイルス遺伝子RNA（メッセンジャーRNA）への転写が開始される。この転写およびウイルス前駆体蛋白質の合成は宿主細胞の転写翻訳系が利用されるが、ウイルス遺伝子発現調節のためにはウイルス蛋白質（tat, rev, nefなど）が必須である。前駆体蛋白質はウイルスプロテアーゼや宿主グリコシダーゼなどにより、コア蛋白質やエンベロープ蛋白質に変換される。そしてウイルス遺伝子RNAとコア蛋白質が集合し、コアのアセンブリーが行われる。最後に、出芽に際し細胞の脂質二重膜とエンベロープ蛋白質からエンベロープが形成され、ウイルス粒子が放出される。

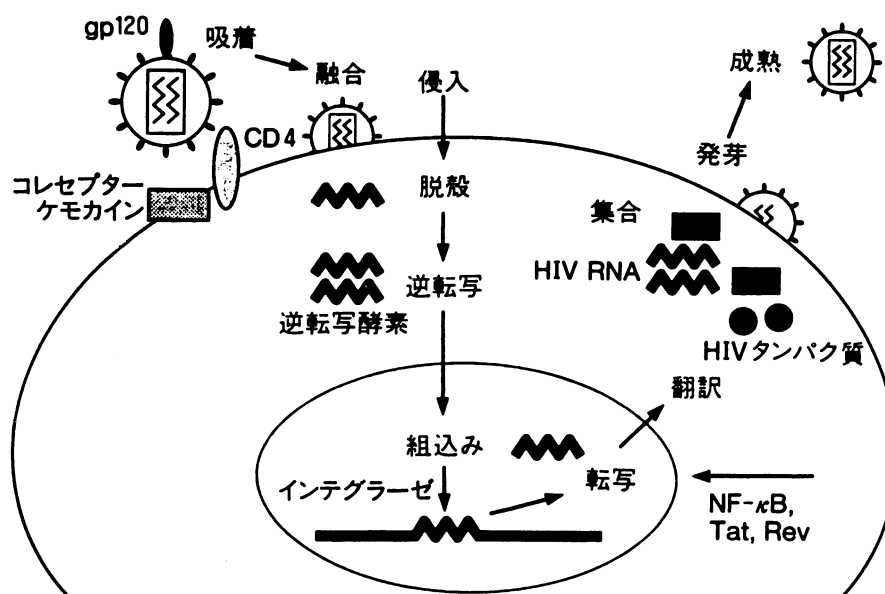
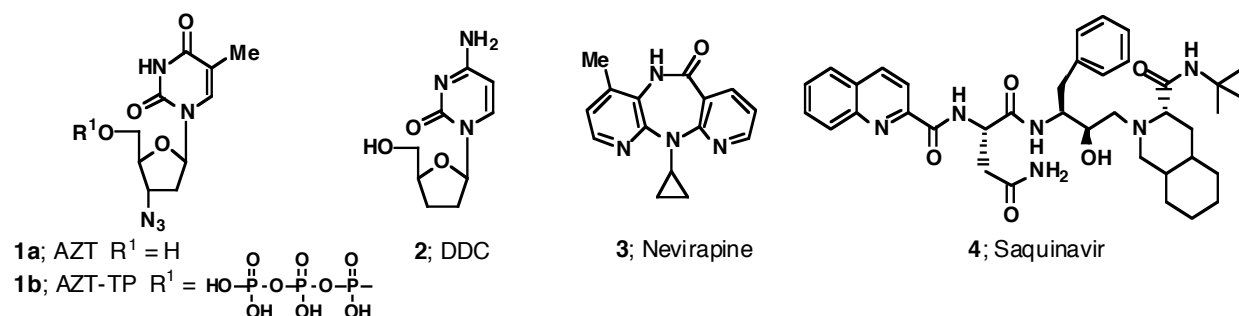


Fig. 2 HIV Replication Cycle

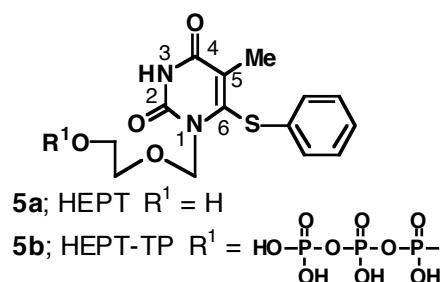
筆者が本研究を開始した1989年当時、抗HIV剤としてはAZT (**1a**) のみが認可され臨床使用されていた。Nucleoside類縁体であるAZTは細胞内で三リン酸体 (**1b**; AZT-TP) に変換されHIV RTを阻害することにより、逆転写過程を阻害し抗ウイルス作用を示す¹⁰。その一方、AZT-TPはヒトDNAポリメラーゼも阻害し、骨髄抑制などの重篤な副作用を示す¹¹。他の問題として耐性ウイルスの出現も報告されていた¹²。このような状況下、副作用が少なくAZTとは交差耐性を示さない新たな抗HIV剤の開発が急務であった。

現在では、nucleoside系RT阻害剤 [NRTI, AZTに加えDDC (**2**) など7剤]、非nucleoside系RT阻害剤 [NNRTI, nevirapine (**3**) など3剤]、およびプロテアーゼ阻害剤 [saquinavir (**4**) など5剤] が認可されており、AIDS治療に効果を上げている¹³。しかし、これらの薬剤も末梢神経炎、発疹、あるいは脂肪沈着などの副作用の問題が残さ

れている¹³。最近AIDS治療に用いられている多剤併用療法のためにも、他の薬剤との併用効果を示し副作用の少ない安全な薬剤の開発が現在においても望まれている。



1989年、宮坂らは1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (5a; HEPT) が抗HIV活性を持つことを報告した¹⁴。HEPTの抗ウイルス作用機序は当初不明であったが、HEPTはHIVの細胞に対する吸着、進入、あるいは脱殻を阻害せず、またプロウイルスよりのHIVの出現も阻害しない¹⁵。HEPTは構造的にはNRTIと同様のnucleoside系（正確には環状糖部を持たないacyclonucleoside）であり、上記のHEPTの性質はAZTなどのNRTIのそれと同じである。



しかしながら、HEPTの三リン酸体 (5b; HEPT-TP) はHIV RTを阻害せず¹⁴、またHEPTの抗ウイルス作用はHIV-1特異的である¹⁵。これらの点でHEPTは他のNRTIとは大きく異なっていた。以上のような理由により、HEPTがNRTIとは異なる作用機序を持ちNRTIの作用機序に起因する副作用を示さず、また交差耐性も示さない新規抗HIV剤になる可能性があった。しかし、HEPTの抗HIV活性はAZTの約1/2000と微弱であるためHEPTをそのまま臨床開発するのは不適當であり、構造変換により高活性類縁体を見出すことが望まれていた。

そこで筆者は、高活性で安全性の高いHEPT類縁体の発見を目標に以下の研究を行った。

最初に、HEPTのpyrimidine環各位の置換変換が抗HIV活性に与える影響を検討するため、HEPTの1位から6位の各置換基を単独に置換した種々のHEPT誘導体を合成した。そして、それらの誘導体の抗HIV活性を測定し、HEPT誘導体の定性的な構造活性相関を明らかにした。すなわち、Fig. 3に示す置換基変換が抗HIV活性を上昇させることを見出した (第1章)。

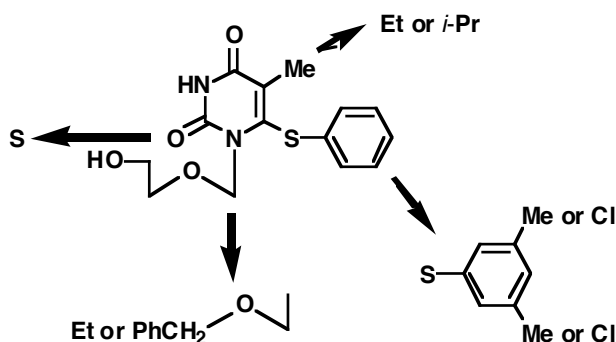


Fig. 3 Structural Modifications to Potentiate Anti-HIV Activity of HEPT

次に、第1章の構造活性相関とその後報告されたHEPTとHIV RT複合体のX線結晶解析の結果¹⁶を基に、活性上昇に寄与する各位の置換変換を複数加え、より強くHIV増殖を抑制する可能性がある高機能HEPT類縁体を設計した (Fig. 4)。ところで、高機能HEPT類縁体合成の中間体である acyclo-2-thiouridine nucleosideは既知の方法では収率良く合成できなかった。そこで、それらの合成法について検討し、温和な条件下、one-potで合成でき、しかも低コストの製造法で、医薬品の工業的生産等大スケールの合成に適した合成法の開発に成功した。そして、HEPT類縁体を合成し抗HIV活性を測定した。その結果、Scheme 1に示すようにnMレベルのEC₅₀値を持つ非常に強い抗HIV活性を示す化合物を多数発見した (第2章)。

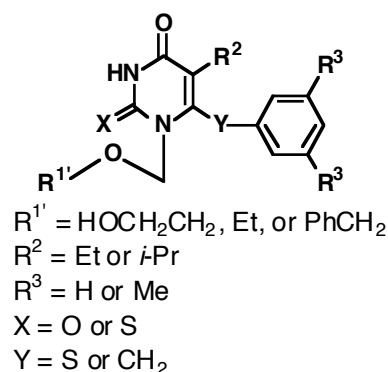
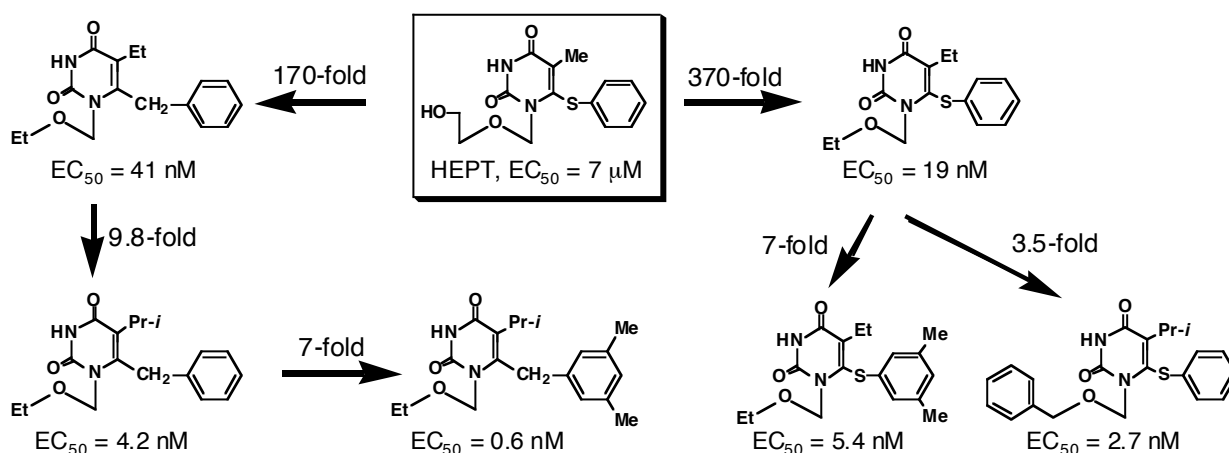


Fig. 4 Drug Design of HEPT Analogs

Scheme 1



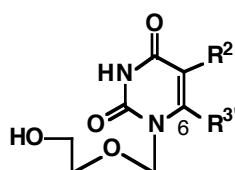
最後に、第2章で見出した高活性HEPT類縁体について抗HIV作用機序についての検討および*in vitro*において臨床的有用性の検討を加え、HEPT類縁体がAZT-TPとは異なる阻害形式でHIV RTを阻害し抗ウイルス作用を示すことを、また臨床的に有用である可能性を見出した (第3章)。

本 論

第 1 章 単独に各位置換したHEPT誘導体の合成およびその抗HIV活性

HEPTは6位に置換基を持つacyclouridine nucleosideであるが、研究開始時には本関連化合物の合成および抗ウイルス活性はほとんど知られておらず、Table 1に示す化合物が合成され、HEPTのみ抗HIV活性を示すことが報告されているにすぎなかった¹⁴。

Table 1 Inhibition of HIV Replication in MT-4 Cells by HEPT Analogs



compd	R ²	R ^{3'}	EC ₅₀ ^a (μM)	CC ₅₀ ^b (μM)	SI ^c
5a ; HEPT	Me	PhS	7.0	740	106
5c	Me	I	>80	400	<5
5d	H	PhS	>500	1850	<3.7
5e	H	I	>30	75	<2.5
5f	F	PhS	>100	288	<2.9
5g	F	I	>115	32	<2.1
5h	Cl	PhS	>30	100	<3.4
5i	Cl	I	>6	13	<2.2
5j	Br	PhS	>20	44	<2.2
5k	Br	I	>5	11.5	<2.3

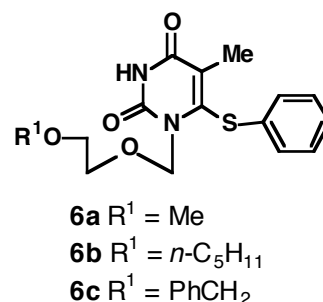
^aEffective concentration of compound required to achieve 50% protection of MT-4 cells against the cytopathic effect of HIV-1. ^bCytotoxic concentration of compound required to reduce the viability of mock-infected MT-4 cells by 50%. ^cSelectivity index: ratio of CC₅₀/EC₅₀.

本章ではHEPTのpyrimidine環各位の置換基変換の抗HIV活性に与える影響を詳細に調べるため、HEPTの1位から6位の各置換基を（他の位置の置換基はHEPTのそれに固定し）変換した種々のHEPT誘導体を合成し抗HIV活性を測定した。合成に関しては、効率良く多検体の化合物を合成するため、主に既知の6位置換uridine nucleosideの合成法を応用し、合成法が許すかぎり、多様な化合物の合成を目指した。

第1節 各位置置換HEPT誘導体の合成

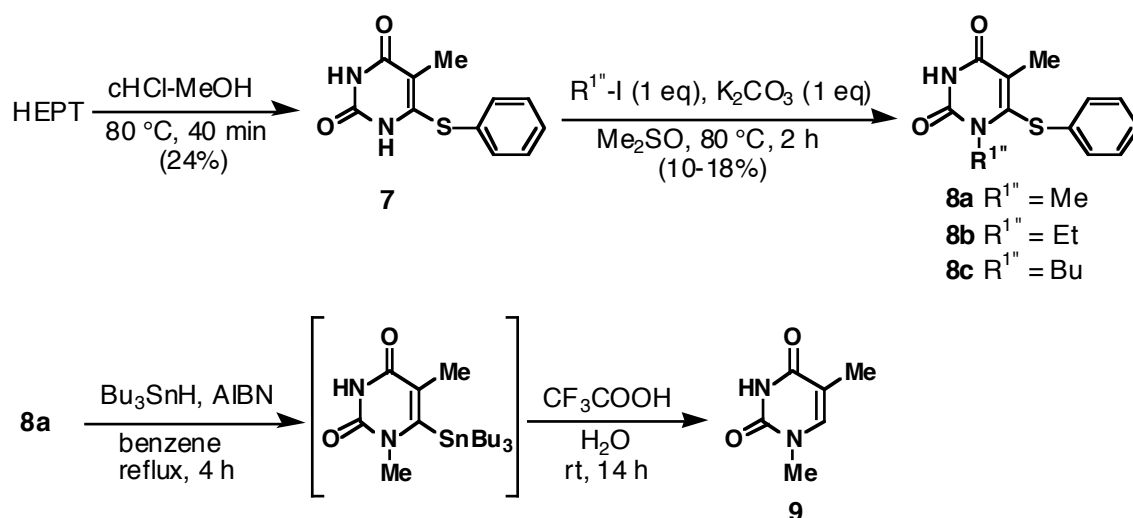
1位置置換体の合成

HEPTの水酸基を選択的にアルキル化することにより、O-alkyl誘導体 (**6a-c**) を合成した。HEPTを2.1当量のNaHで処理した後、1当量のMeI、pentyl iodide、あるいはbenzyl bromideと反応させると水酸基が選択的アルキル化され、**6a-c** がそれぞれ87%、21%、および80%の収率で得られた。



HEPTを塩酸で処理し6-(phenylthio)thymine (**7**) を収率24%で得た。**7**をMe₂SO中、1当量のK₂CO₃存在化、1当量のMeIと80 °C、2時間反応させ、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製すると単一成分であるmonomethyl体 (13%) およびdimethyl体 (34%) が得られた。このmonomethyl体をBu₃SnHと2,2'-azobisisobutyronitrile (AIBN) で処理後、CF₃COOHを用い加水分解¹⁷したところ1-methylthymine (**9**)¹⁸のみが得られ、上記のmonomethyl体は1-methyl-6-(phenylthio)thymine (**8a**) であることを確認した (Scheme 2)。

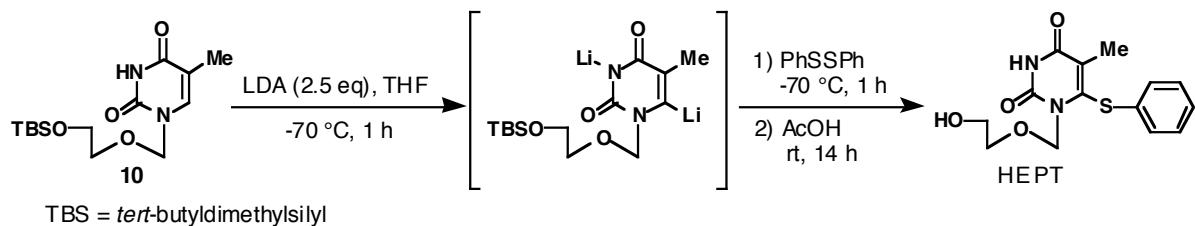
Scheme 2



同様に、EtIあるいはBuIを用い**8b** (10%) および**8c** (18%) を合成した。

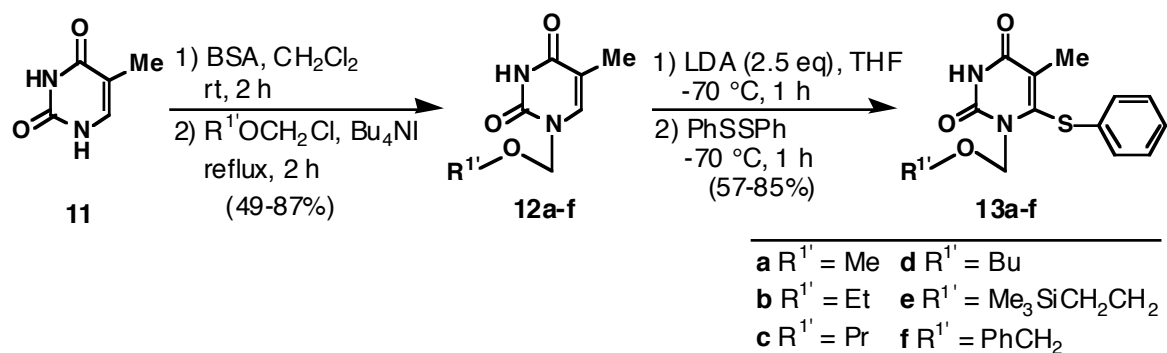
田中らは糖部保護uridine誘導体を2.5当量のlithium diisopropylamide (LDA) で処理しpyrimidine環の3位と6位をリチオ化した後、種々の親電子剤と反応させ6位選択的に置換基を導入する一般性の高い合成法を報告している^{19,20}。Thymine誘導体であるHEPTも同様の方法で**10**より合成されている (Scheme 3)¹⁴。

Scheme 3



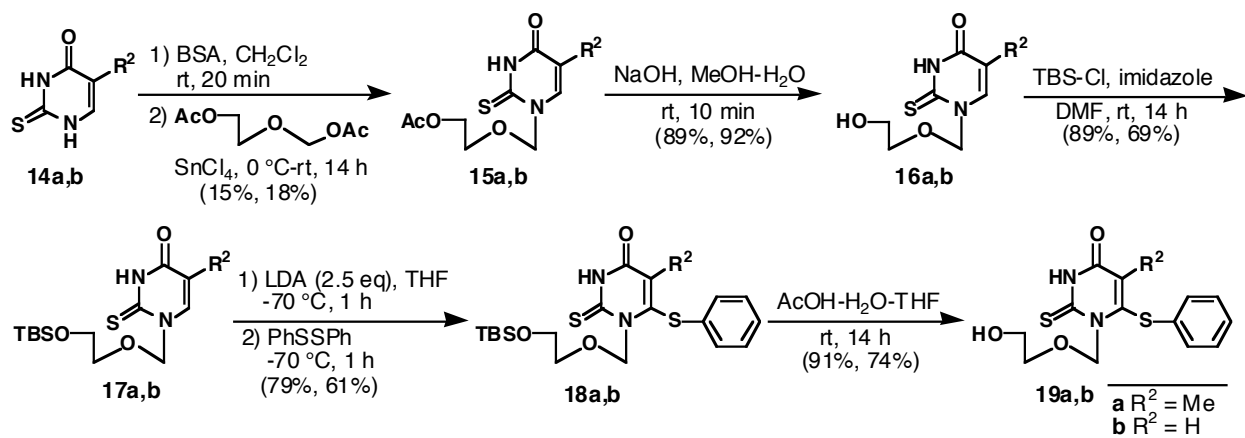
Thymine (**11**) より既知の方法²¹で合成できる1-[(alkyloxy)methyl]thymine (**12a-f**)を出発原料に用い、上記の6位選択的に置換基を導入する方法を応用し**13a-f**を合成した (Scheme 4)。**11**をCH₂Cl₂に懸濁後、2.2当量の*N,O*-bis(trimethylsilyl)acetamide (BSA) で2位および4位をシリル化し得られた溶液を、0.1当量のBu₄NI存在下、1.2当量のalkyl chloromethyl etherと2時間還流下反応させ**12a-f**を得た。**12a-f**を2.5当量のLDAで-70 °C、1時間処理後、diphenyl disulfide (2当量、-70 °C、1時間) と反応させ6位にphenylthio基を導入し目的の**13a-f**を得た。

Scheme 4



2位置換体の合成

Scheme 5

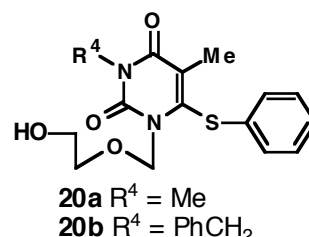


2-Thiouracil誘導体については2-thiiothymine (**14a**) および2-thiouracil (**14b**) より

合成した (Scheme 5)。既知の方法²²を用い、**14a,b**をシリル化後SnCl₄存在下(2-acetoxyethoxy)methyl acetateと反応させ、**15a,b**を収率15%および18%で得た。**15a,b**をNaOH水により脱アセチル化し、得られた**16a,b**の水酸基を*tert*-butyldimethylsilyl (TBS) 基で保護し**17a,b**を得た。**13a-f**の合成と同じ方法で、**17a,b**を2.5当量のLDAで処理後diphenyl disulfideと反応させ**18a,b** (79%, 61%) を得た。最後に、酢酸を用い**18a,b**の脱保護を行い、目的の**19a** (91%) および**19b** (74%) を得た。

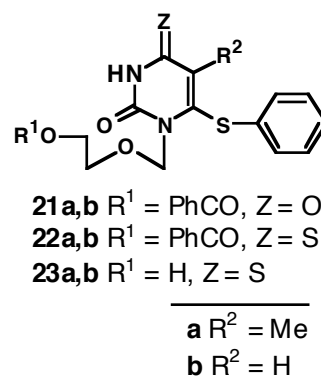
3位置換体の合成

HEPTの3-alkyl体はHEPTをアルキル化することにより合成した。HEPTをDMF中、1.1当量のdiisopropylethylamine存在下、1.1当量のMeIあるいはbenzyl bromideと反応させ**20a** (47%) および**20b** (30%) を得た。



4位置換体の合成

Uridine 誘導体を 2,4-bis(4-methoxyphenyl)-1,3-dithia-2,4-diphosphetane 2,4-disulfide (Lawesson's reagent) で処理すると4-thiouridine誘導体へ変換できることが報告されている²³。HEPTおよび**5d**をベンゾイル化して得られる**21a,b**をtoluene中100 °C、2時間Lawesson's reagentと反応させ**22a,b** (69%, 78%) を得た。最後に、脱ベンゾイル化し**23a,b**を得た。

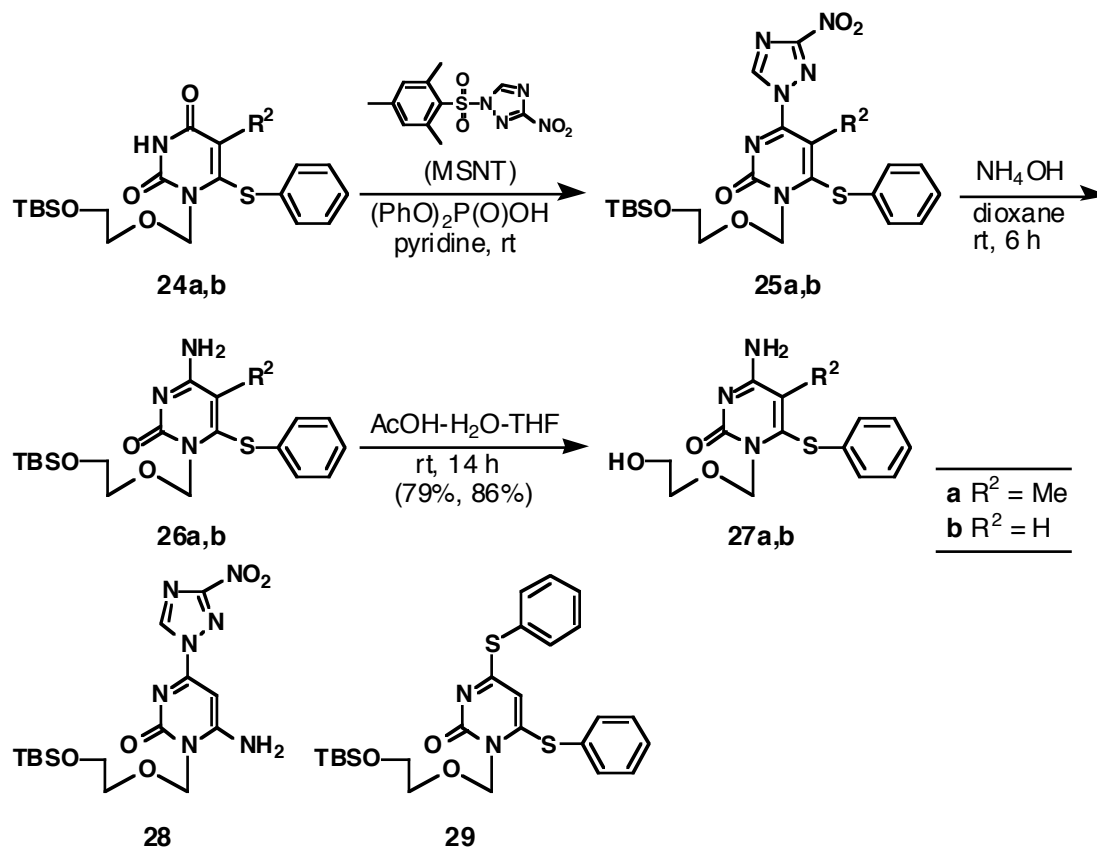


Cytosine誘導体は先に述べたLDAでリチオ化する方法で6位に置換基を導入することが困難であることが報告されている²⁴。そこで、既知のuridineからcytidineへの変換法^{25,26}を応用し、HEPTのcytosine誘導体を合成した (Scheme 6)。HEPTの合成中間体であるthymine誘導体 (**24a**)¹⁴をdiphenyl phosphate存在下、1-(mesitylene-2-sulfonyl)-3-nitro-1,2,4-triazole (MSNT) とpyridine中反応させた。この場合反応進行が非常に遅く、室温、7日間放置しても約30%の**24a**が残存していた。その上、生成物 (**25a**) はクロマトグラフィ精製に用いるシリカゲル中で不安定で、精製後**24a**と**25a**の比が約6:4の混合物が得られたのみであった。Uracil誘導体 (**24b**)¹⁴の場合、室温、15時間で反応は完結した。また、生成物 (**25b**) はシリカゲルクロマトグラフィ精製中分解することなく収率86%で得られた。この反応の機構については、既に報告されている 2',3',5'-tri-*O*-acetyluridine の場合²⁵と同様、まず、MSNTとdiphenyl phosphateより生成する1-(diphenylphosphoryl)-3-nitro-1,2,4-triazoleが**24a,b**の4位をリン酸化する。次いで、先の反応時遊離した3-nitro-1,2,4-triazoleが**24a,b**のリン酸化体と反応し**25a,b**が生成すると推定している。

24aと**25a**の混合物をdioxane中アンモニア水で処理し、**24a**より収率26%で**26a**を得た。ここで**24a**が42%回収された。一方、**25b**をアンモニア水で処理しシリカゲルクロマトグラフィ精製したところ、3種の生成物が単離された。マススペクトル、¹H-NMR、および

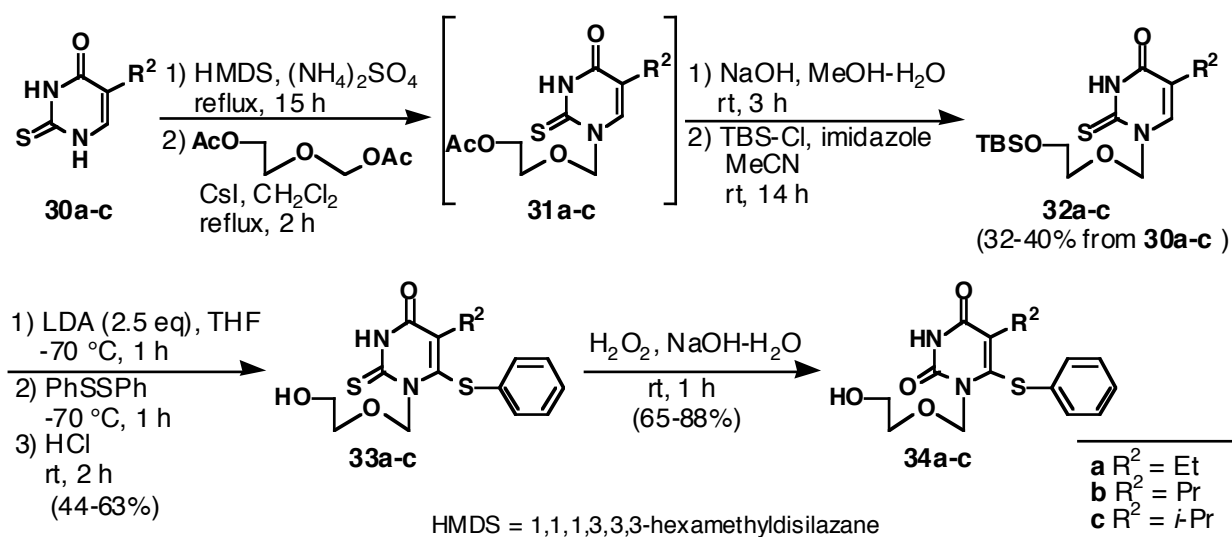
元素分析で構造決定したところ、これらはそれぞれ6-(phenylthio)cytosine誘導体 (**26b**, 57%)、**28** (21%)、および**29** (20%)であった。最後に、**26a,b**のTBS基を除去し目的物**27a,b**を得た。

Scheme 6



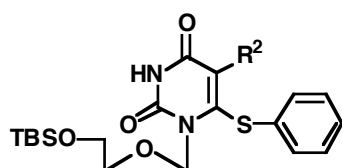
5 位置換体の合成

Scheme 7

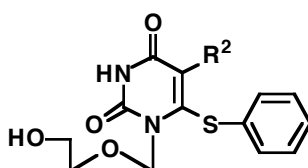


Scheme 7に示したルートで5-alkyl HEPT誘導体を合成した。ここで5-alkyl-2-thiouracil (**30a-c**) を出発原料に用いたのは、2-thiouracil類は酸化的加水分解²⁷により容易にuracil類に誘導でき、双方を同時に合成できると考えたためである。**15**の合成時に用いた方法の変法²⁸を用い**30a-c**の2位および4位をシリル化後acetate (**31a-c**) に誘導、さらにTBS体 (**32a-c**) へと変換した。**18a,b**の合成と同様の方法で**32a-c**の6位にphenylthio基を導入し**33a-c**を得た。その後、**33a-c**をH₂O₂を用いて酸化的加水分解し²⁷**34a-c**に導いた。

Lithium 2,2,6,6-tetramethylpiperidide (LTMP) を用いた6-(phenylthio)uridine誘導体の5位リチオ化とそれに引き続く親電子置換反応による、5位置換6-(phenylthio)uridine誘導体の合成法が報告されている¹⁷。この方法は、共通の中間体より短行程で多種の目的物が得られる効率の良い方法である。この方法を応用し**24b**より5位置換HEPT誘導体を合成した。**24b**を3当量のLTMPで、-70 °C、1時間処理した後、親電子剤 [I₂, (SPh)₂, Me₂CHCOCl, PhCOCl, PhCH₂Br、および、Ph₂CHCHO] で処理し、**35a-f**を収率9-96%で得た。Benzyl bromideを親電子剤に用いた場合、**35e**は低収率(9%) でしか得られなかった。**35a-e**を酸により脱保護し目的の**36a-e**を得た。**35f**はpyridine中SOCl₂で脱水後、TBS基を除去し5-(2,2-diphenylvinyl)誘導体 (**36f**) に導いた。CH₂=CHCH₂Br、MeOCOCOC、あるいはPhNCOを親電子剤に用い上記反応を行った後、単離することなく酸処理し**36g-i** (**24b**よりの一貫収率6-79%) を得た。



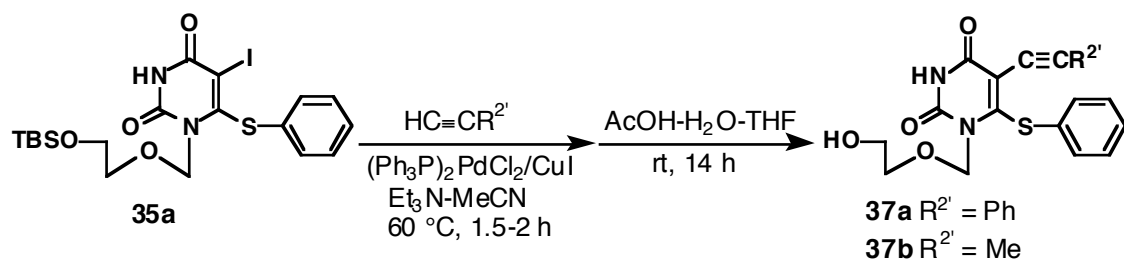
- 35a** R² = I
35b R² = PhS
35c R² = Me₂CHCO
35d R² = PhCO
35e R² = PhCH₂
35f R² = Ph₂CH(OH)CH



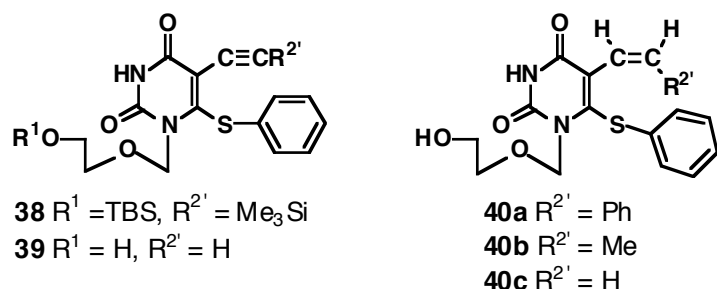
- 36a** R² = I
36b R² = PhS
36c R² = Me₂CHCO
36d R² = PhCO
36e R² = PhCH₂
36f R² = Ph₂C=CH
36g R² = CH₂=CHCH₂
36h R² = MeOCO
36i R² = PhCONH

Iodinated nucleoside と alkyne との palladium-catalyzed cross-coupling 反応は nucleosideの塩基部へのalkyne導入に用いられている^{29,30}。この反応を応用し**35a**より5-alkynyl誘導体を合成した (Scheme 8)。**35a**をphenylacetyleneあるいはpropyneと、MeCN-Et₃N中、触媒量のbis(triphenylphosphine)palladium(II) chlorideおよびcopper(I) iodide存在下反応させ、その後AcOHで処理し**37a,b** (40%, 20%) を得た。また同様に、**35a**と(trimethylsilyl)acetyleneをカップリングし**38** (49%) を得た後、Bu₄NFで処理し**39** (54%) を得た。

Scheme 8



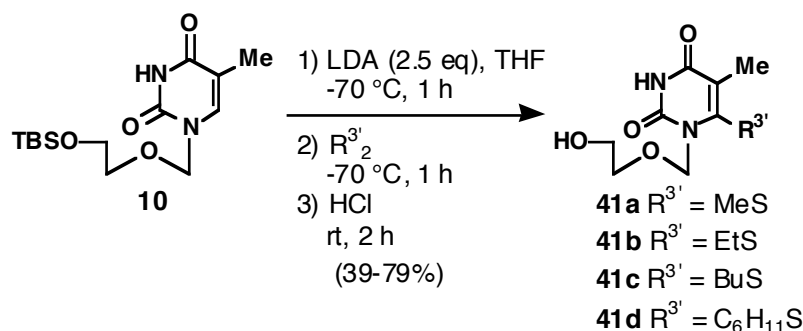
37aをPd-BaSO₄触媒を用い、1当量の水素と反応させ**40a**（24%）に導いた。**37b**および**39**について同様の還元を行ったが、反応が複雑になり**40b,c**は単離できなかった。**40c**は**19a,b**の合成法に従い5-vinyluracilより4ステップで合成した（実験の部参照）。



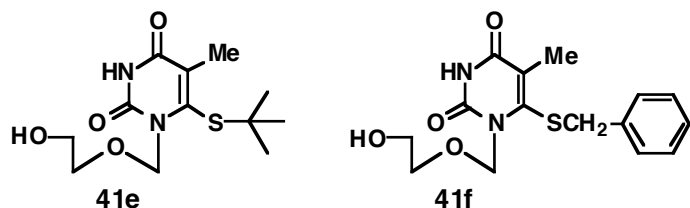
6 位置換体の合成

先に述べた**32a-c**から**33a-c**への合成法を用い、**10**¹⁴と dialkyl disulfideよりHEPTの6-alkylthio誘導体（**41a-d**）を合成した（Scheme 9）。*tert*-Butylthio体（**41e**）の合成において、**10**をdi-*tert*-butyl disulfideと反応させたがdisulfideの立体障害のためか生成物は得られず、出発原料の**10**が回収されるのみであった。

Scheme 9



6-(Phenylthio)uridine誘導体の6位は付加-脱離反応を受けやすく求核置換することが可能であると報告されている³¹。そこで筆者はHEPTに*tert*-butyl mercaptanを反応させることにより pyrimidine 環の6位に



42の6位はHEPTの6位より求核攻撃に対し反応性が高いと考えられる。そこで、**42**をMeONa、C₆H₁₁ONa、PhONa、C₆H₁₁NH₂、あるいはPhNHLiと反応させ、脱保護後、tolueneで再結晶し**44a-e**を得た (Scheme 10)。

Reaction scheme showing the synthesis of compound 42 and its derivatives:

Compound 24a reacts with 4-chlorobenzoic acid in CHCl_3 at room temperature for 2 h to yield compound 42 (91% yield).

Compound 42 reacts with $\text{AcOH-H}_2\text{O-THF}$ at room temperature for 14 h to yield compound 43 (88% yield).

Compound 42 reacts with a nucleophile in $\text{AcOH-H}_2\text{O-THF}$ at room temperature for 14 h to yield compounds 44a-e (53-86% yield).

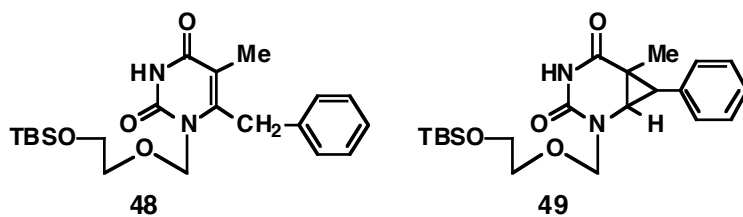
Compounds 44a-e are defined by the substituent $\text{R}^{3'}$:

- 44a $\text{R}^{3'} = \text{MeO}$
- 44b $\text{R}^{3'} = \text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}$
- 44c $\text{R}^{3'} = \text{PhO}$
- 44d $\text{R}^{3'} = \text{C}_6\text{H}_{11}\text{NH}$
- 44e $\text{R}^{3'} = \text{PhNH}$

Compounds 45, 46, and 47 are also shown as products of the reaction of 42 with nucleophiles.

-12-

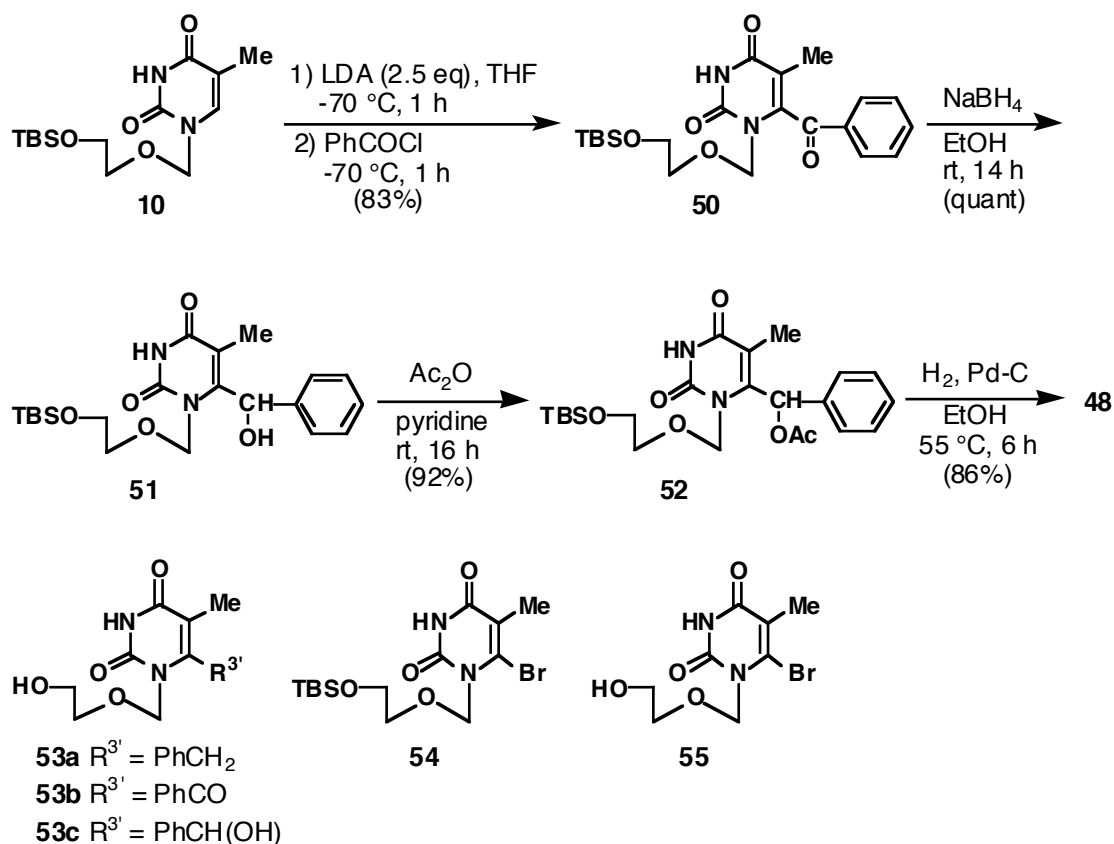
リチオ化された **10** に benzyl bromide を反応させても **48** は得られず、低収率で cyclopropane が付加した化合物 (**49**, 7.7%) が得られ、**10** が 78% 回収された。



Olofson らは benzyl halide を LTMP で処理し生成する benzyl carbene を alkene と反応させることにより、cyclopropene が合成できることを報告している³³。また、田中らは thymidine 誘導体を LDA で処理した後、benzyl bromide と反応させた場合、原料が回収されるとともにスチルベン の生成を確認している³⁴。従って、本反応においては benzyl bromide の α -elimination が優先的に起こり benzyl carbene が生成し、反応が進行しなかったと推定される。

そこで、Scheme 11 に示したルートで 6 位に benzyl 基の導入を行った。**10** を LDA でリチオ化後 benzoyl chloride と反応させ **50** (83%) を得た。**50** を EtOH 中 NaBH_4 で還元し定量的に **51** を得た後、アセチル化し **52** (92%) を得た。**52** の CH-OAc 結合の水素化分解を行い **48** (86%) を得た。最後に、**48**、**50**、および **52** の脱保護を行い **53a-c** (65–90%) を得た。

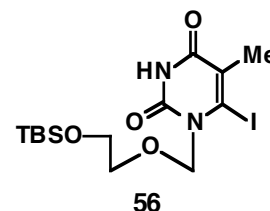
Scheme 11



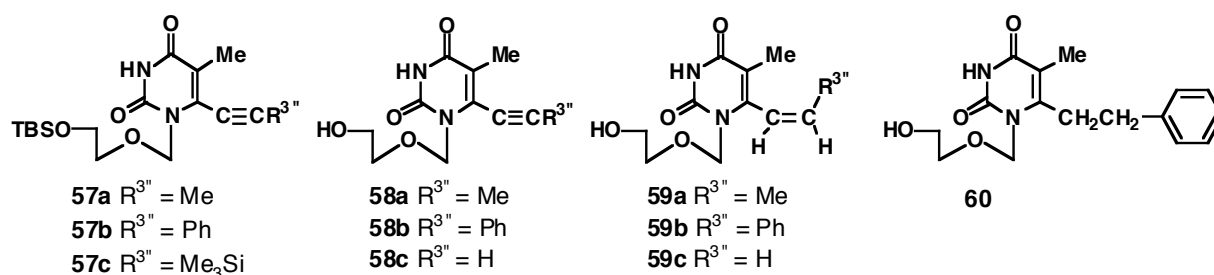
α -Bromoacetophenone をリチオ化された **10** に反応させると **54** が収率 32% で得られ、

6位にphenacyl基を導入することはできなかった。また**10**を57%回収した。先に、*p*-toluenesulfonyl chlorideがCl⁺の供給源になる場合があることを示した。この反応でもα-bromoacetophenoneが同様にBr⁺の供給源として働いたと推定されるが³⁵、詳細については検討していない。**54**は脱保護し**55** (73%) とした。

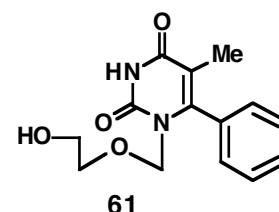
37a,bの合成に用いた方法で6-iodothymine誘導体 (**56**) ¹⁴ と alkyneをカップリングし**57a-c** (58–82%) を得た。酢酸により**57a,b**を脱保護し**58a,b** (91%, 84%) を得た。**57c**の場合、まず塩基により処理しtrimethylsilyl基を除去した。その後、TBS基を除去し**58c** (99%) を得た。



58a-cをPd-BaSO₄触媒存在下、1当量の水素と反応させvinyl誘導体 (**59a-c**, 60–92%) を合成した。また、**58b**を過剰量の水素雰囲気下、接触水素添加し**60**を合成した。

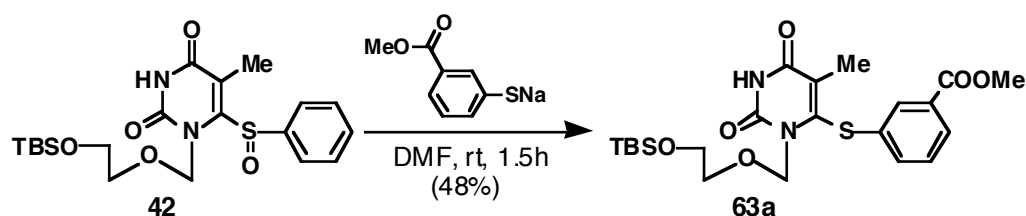


田中らは6-iodouridine誘導体とtetramethylstannaneのpalladium-catalyzed cross-coupling反応により、6-methyluridineの合成を報告している³⁵。この方法を応用し**56**とtetraphenylstannaneから**61**を合成した。



先に述べた**32a-c**から**33a-c**への合成法を用い、**10**とdiaryl disulfideよりHEPT6位benzene環上に置換基を導入した誘導体 (**62a-y**) を合成した。**62a-y**の構造および収率をTable 2に示す。

Scheme 12



上記方法により合成することができないと考えられる、esterやketoneを含む化合物は6-phenylsulfinyl誘導体 (**42**) より合成した。**42**をDMF中sodium 3-(methoxycarbonyl)benzenethiolateと反応させ**63a** (48%) を得た (Scheme 12)。そして脱保

護し目的化合物**63b** (70%) を得た。同様に、**42**を対応するsodium benzenethiolateで処理後、単離することなく脱保護し**63c** (43%) および**63d** (61%) を合成した。

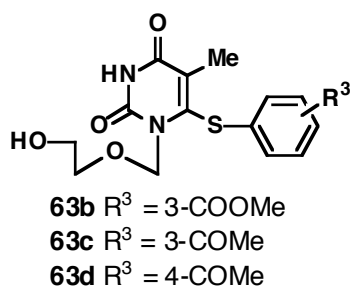
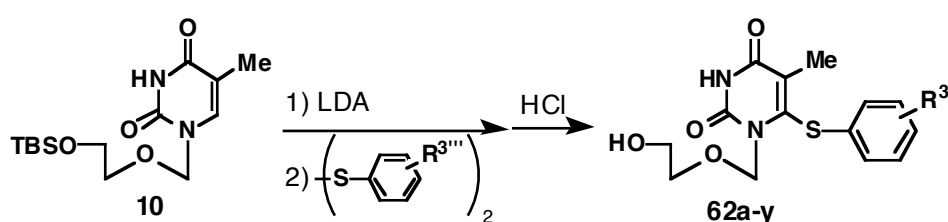


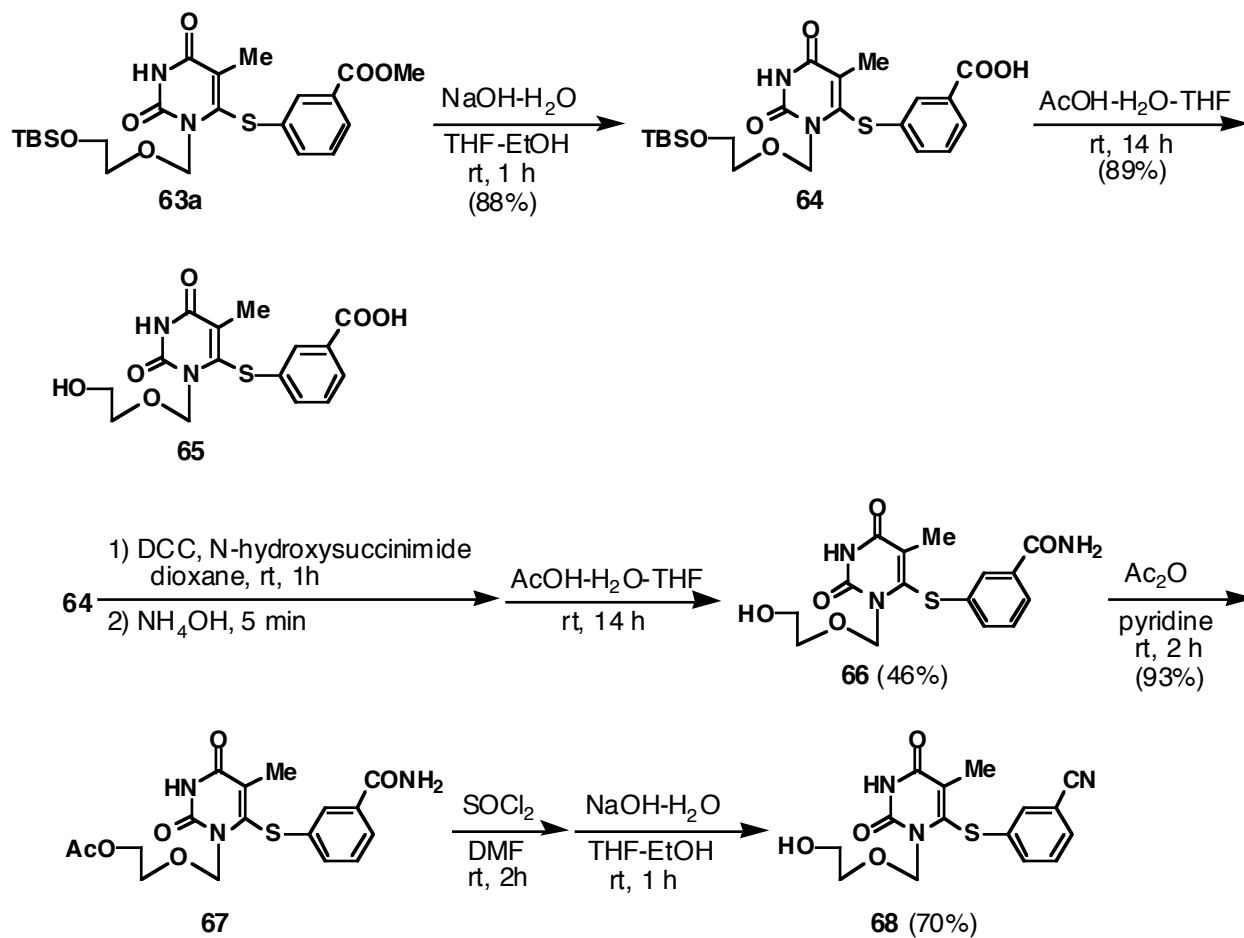
Table 2 Structure and Yield of HEPT Analogs Substituted at the C-6 Phenyl Ring



compd	R^3	$R^{3''}$	% yield	compd	R^3	$R^{3''}$	% yield
62a	2-Me	2-Me	87	62n	3-NO ₂	3-NO ₂	54
62b	2-Cl	2-Cl	58	62o	3-OH	3-OTBS	36
62c	2-NO ₂	2-NO ₂	52	62p	3-OMe	3-OMe	70
62d	2-OMe	2-OMe	69	62q	4-Me	4-Me	67
62e	3-Me	3-Me	63	62r	4-F	4-F	63
62f	3-Et	3-Et	57	62s	4-Cl	4-Cl	77
62g	3- <i>t</i> -Bu	3- <i>t</i> -Bu	56	62t	4-NO ₂	4-NO ₂	16
62h	3-CH ₂ OH	3-CH ₂ OTBS	44	62u	4-CN	4-CN	37
62i	3-CF ₃	3-CF ₃	61	62v	4-OH	4-OTBS	40
62j	3-F	3-F	44	62w	4-OMe	4-OMe	62
62k	3-Cl	3-Cl	68	62x	3,5-Me ₂	3,5-Me ₂	70
62l	3-Br	3-Br	56	62y	3,5-Cl ₂	3,5-Cl ₂	17
62m	3-I	3-I	51				

63aのmethoxycarbonyl基をScheme 13に示すように一般的方法を用い変換した。**63a**をアルカリ加水分解し**64**とした後、脱保護し**65**を得た。活性ester中間体を經由したamide化³⁶により、**64**をamide (**66**) に変換した。その後、acetate (**67**) を經由し、thionyl chloride-DMFを用いた脱水反応³⁷により**68**を合成した。

Scheme 13



第2節 各位置換HEPT誘導体の抗HIV活性

本論文で合成した化合物の抗HIV活性は特に記載しない限り培養MT-4細胞に対するHIV-1 (HTLV-III_B strain) の細胞変性作用を50%抑える薬剤濃度 (EC₅₀: effective concentration of compound required to achieve 50% protection of MT-4 cells against the cytopathic effect of HIV-1) で、細胞毒性については特に記載しない限りHIV-1非感染MT-4細胞増殖を50%抑える薬剤濃度 (CC₅₀: cytotoxic concentration of compound required to reduce the viability of mock-infected MT-4 cells by 50%) で表した³⁸。また、薬剤の毒性と活性 (薬効) の比をウイルス選択性 (SI, selectivity index: CC₅₀ / EC₅₀) として表した。

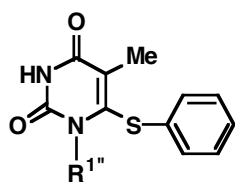
1 位置換体の抗HIV活性 (Table 3)

HEPTの1位(2-hydroxyethoxy)methyl基末端の水酸基をアルキル化した場合、メチル化 (**6a**) しても若干の細胞毒性の上昇がみられるもののHEPTと同程度の抗HIV活性を示した。一方、嵩高い置換基でO-アルキル化された**6b,c**は活性を示さなかった。

(2-Hydroxyethoxy)methyl基を除去 (**7**) あるいはmethyl基 (**8a**) で置換すると活性は消失した。一方、ethyl体 (**8b**) およびbutyl体 (**8c**) は抗HIV活性を示した。

1位置換基末端に水酸基を持たない(alkyloxy)methyl体 (**13a-f**) のうち、嵩高い置換基を持つ[2-(trimethylsilyl)ethoxy]methyl体 (**13e**) 以外は抗HIV活性を示した。これらのうち、ethoxymethyl体 (**13b**) および(benzyloxy)methyl体 (**13f**) は強い活性を持ち、それぞれの活性はHEPTのその21倍および81倍であった。また、ウイルス選択性を示すSI値はそれぞれAZTと同レベルであった。

13bおよび**13f**はリン酸化される水酸基を持たないが、細胞内で抗HIV作用を示した。また、第3章で述べるがこれらの化合物はHIV RT阻害活性を示した。以上の事実より、HEPT誘導体は細胞内でリン酸化されることなく、それら自体がHIV RTを阻害し抗HIV作用を示すと考えられた。HEPTの発見以降、抗HIV作用およびHIV RT阻害活性を示すそれぞれ構造的には全く異なる化合物が種々報告されてきた³⁹。緒論で述べたが、それらの化合物は現在NNRTIと総称されている。HEPT類縁体はacyclonucleosideではあるが、リン酸化されることなくHIV RTを阻害する等の特徴より現在ではNNRTIに分類されている。

Table 3 Inhibition of HIV Replication in MT-4 Cells by 1-Substituted HEPT Analogs

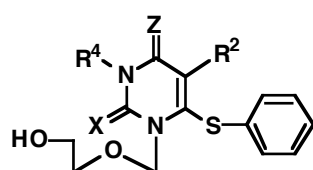
compd	R ¹	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	SI
6a	MeOCH ₂ CH ₂ OCH ₂	8.7	299	34
6b	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁ OCH ₂ CH ₂ OCH ₂	>55	55	<1
6c	PhOCH ₂ CH ₂ OCH ₂	≥20	45	2.3
7	H	>250	250	<1
8a	Me	>150	150	<1
8b	Et	2.2	94	43
8c	Bu	1.2	89	74
13a	MeOCH ₂	2.1	244	116
13b	EtOCH ₂	0.33	231	700
13c	PrOCH ₂	3.6	147	41
13d	BuOCH ₂	4.7	83	18
13e	Me ₃ SiCH ₂ CH ₂ OCH ₂	>32	32	<1
13f	PhCH ₂ OCH ₂	0.088	95	1080
HEPT	HOCH ₂ CH ₂ OCH ₂	7.0	740	106
AZT		0.016	20	1250

2、3、および4位置換体の抗HIV活性 (Table 4)

HEPTの2-oxo基をthio基 (**19a**) にした場合、活性が7倍上昇した。**19a**の5位methyl基を水素原子に置換した2-thiouracil誘導体 (**19b**) は全く活性を示さず、これはHEPTと**5d**との関係¹⁴と同様であった。*N*-3-Alkyl体 (**20a,b**) とcytosine誘導体 (**27a,b**) は抗HIV活性を示さなかった。4-Thiouracil誘導体 (**23a,b**) は宿主細胞であるMT-4細胞に対する毒性がみられ、ウイルス選択性を失っていた。

2-Thiouracil誘導体においても5位methyl基は抗HIV活性に必須であり、この位置の置換基が活性発現に重要であることが示唆された。*N*-3位の水素原子は抗HIV活性に必須であり、HEPT誘導体はこの位置でHIV RTと水素結合している可能性が考えられた。

Table 4 Inhibition of HIV Replication in MT-4 Cells by 2-, 3-, and 4-Substituted HEPT Analogs



compd	R ²	R ⁴	X	Z	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	SI
19a	Me	H	S	O	0.98	123	126
19b	H	H	S	O	>198	198	<1
20a	Me	Me	O	O	>374	>374	-
20b	Me	CH ₂ Ph	O	O	>40	40	<1
23a	Me	H	O	S	>27	27	<1
23b	H	H	O	S	>4.1	4.1	<1
27a	Me	H	O	NH	>91	91	<1
27b	H	H	O	NH	>250	>250	-
HEPT	Me	SPh	O	O	7.0	741	106
AZT					0.016	20	1250

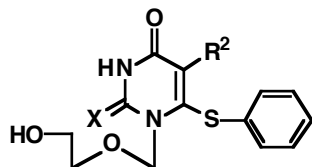
5位置換体の抗HIV活性 (Table 5)

HEPTの5位methyl基を他の低級alkyl基で置換した場合、抗HIV活性が上昇し、活性の強さは*i*-Pr > Et > Prの順であった。Isopropyl体 (**34c**) およびethyl体 (**34a**) の活性はそれぞれHEPTの111倍および58倍であった。これらの化合物に関し、細胞毒性の上昇は見られず、**34a**および**34c**のSI値はHEPTを大きく上回り3000を越え、AZTの3倍程度の数値を示した。2-Thio体 (**33a-c**) も2-oxo体 (**34a-c**) と同程度の抗HIV活性を示した。5位にヨウ素原子 (**36a**)、allyl基 (**36g**)、あるいはvinyl基 (**36f**, **40a**, **40c**) を持つ各化合物はHEPTより高活性であった。しかし、細胞毒性も同時に上昇し、SI値はHEPTより低下した。その他の化合物については、細胞毒性が強くウイルス選択性を失っていた。

以上の結果より、5位置換基の嵩高さと抗HIV活性には関連があると考えられた。

6-(Phenylthio)uridine誘導体において、5位の置換基の大きさによって6位phenylthio基のコンホメーションが連続的に変化することが報告されている^{17,31}。HEPT誘導体の抗HIV活性は6位phenylthio基のコンホメーションに関連している可能性も考えられた。

Table 5 Inhibition of HIV Replication in MT-4 Cells by 5-Substituted HEPT Analogs



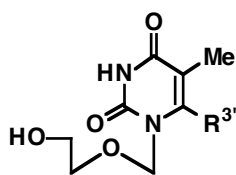
compd	X	R ²	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	SI
33a	S	Et	0.11	148	1350
33b	S	Pr	10	230	23
33c	S	<i>i</i> -Pr	0.059	400	6780
34a	O	Et	0.12	400	3330
34b	O	Pr	3.4	244	72
34c	O	<i>i</i> -Pr	0.063	231	3670
36a	O	I	3.6	20	5.6
36b	O	PhS	>21	21	<1
36c	O	Me ₂ CHCO	>12	12	<1
36d	O	PhCO	>13	13	<1
36e	O	PhCH ₂	>23	23	<1
36f	O	Ph ₂ C=CH	0.84	21	25
36g	O	CH ₂ =CHCH ₂	2.5	183	73
36h	O	MeOCO	>6.6	6.6	<1
36i	O	PhNHCO	>18	18	<1
37a	O	MeC≡C	>19	19	<1
37b	O	PhC≡C	>3.4	3.4	<1
39	O	HC≡C	>18	18	<1
40a	O	Ph(Z)CH=CH	6.0	95	16
40c	O	CH ₂ =CH	1.1	76	69
HEPT	O	Me	7.0	740	106
AZT			0.016	20	1250

6 位置換体の抗HIV活性 (Table 6, 7)

HEPTの6位のphenylthio基をalkylthio基 (**41a-e**) に置換したところ、cyclohexylthio体 (**41d**, $EC_{50} = 8.2 \mu M$)、すなわち、HEPT 6位のbenzene環を飽和した化合物はHEPTと同程度の活性を保持していた。しかし、それ以外は活性を示さなかった。Pyrimidine環と6位置換基のbenzene環の距離がHEPTより1炭素分長いbenzylthio体 (**41f**) は不活性であった。Phenylsulfinyl体 (**43**) は細胞毒性が強く、ウイルス選択性を示さなかった。Phenylthio基のSがOに置換された**44c**の活性はHEPTの1/10以下になり、それ以外のoxy (**44a,b**)、amino (**44d,e**)、およびhalogeno (**47**および**55**) 誘導体は不活性であった。6位に炭素官能基を導入した誘導体の場合、唯一benzyl体 (**53a**; $EC_{50} = 23 \mu M$) がHEPTの1/3程度の活性を示した。Alkynyl体 (**58a-c**) およびvinyl体 (**59a-c**) は不活性であり、ここで2-phenylethynyl体 (**58b**) およびethynyl体 (**58c**) は細胞毒性が上昇していた。Pyrimidine環と6位benzene環間の距離が**53a**より1炭素分長いphenylethyl体 (**60**) および1炭素分短いphenyl体 (**61**) は不活性であった (Table 6)。

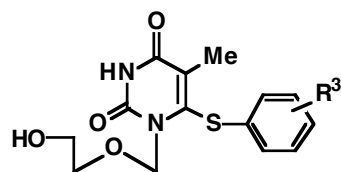
Phenylthio基のbenzene環上の置換基においては、benzene環の3位に置換基を導入した化合物の多くはHEPTと同程度以上の活性を示した。特に、methyl基 (**62e**)、ethyl基 (**62f**)、およびフッ素原子 (**62j**) を導入した化合物は活性が上昇し、さらに3位と5位の双方にmethyl基 (**62x**) や塩素原子 (**62y**) を導入した化合物はより高活性であった。**62x**のSI値は935であり、AZTのそれとほぼ同レベルであった。一方、親水性置換基の導入や2位あるいは4位の置換はほとんどの場合活性を消失させた (Table 7)。

HEPTの6-alkylthio誘導体においては、cyclohexylthio体のみが抗HIV活性を示した。また、benzyl体やphenoxy体もHEPTより弱い活性を示した。以上のことは、HEPT誘導体が抗HIV活性を示すためには、6位置換基に何らかの環状構造が必要であることを示唆している。Pyrimidine環と6位置換基のbenzene環間の距離がHEPTと異なる各化合物は抗HIV活性を示さなかった。このことより、以上の環構造間の距離が抗ウイルス活性発現に重要であると考えられた。

Table 6 Inhibition of HIV Replication in MT-4 Cells by 6-Substituted HEPT Analogs

compd	R ^{3'}	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	SI
41a	MeS	>250	>250	-
41b	EtS	>250	>250	-
41c	BuS	130	>250	-
41d	C ₆ H ₁₁ S	8.2	>664	81
41e	<i>t</i> -BuS	>366	366	-
41f	PhCH ₂ S	>46	46	<1
43	PhSO	>5.4	5.4	
44a	MeO	>488	488	<1
44b	C ₆ H ₁₁ O	>400	400	<1
44c	PhO	85	345	4.1
44d	C ₆ H ₁₁ NH	>337	337	<1
44e	PhNH	>327	327	<1
47	Cl	>250	>250	-
53a	PhCH ₂	23	352	15
53b	PhCO	>366	366	<1
53c	PhCH(OH)	>400	400	<1
55	Br	>180	180	<1
58a	MeC≡C	>250	>250	-
58b	PhC≡C	>14	14	<1
58c	HC≡C	>5.5	5.5	<1
59a	Me(Z)CH=CH	>250	>250	-
59b	Ph(Z)CH=CH	250	>250	-
59c	CH ₂ =CH	>250	>250	-
60	PhCH ₂ CH ₂	>444	444	<1
61	Ph	>166	166	<1
HEPT	PhS	7.0	741	106
AZT		0.016	20	1250

Table 7 Inhibition of HIV Replication in MT-4 Cells by HEPT Analogs with Substituted Phenylthio Groups



compd	R ³	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	SI
62a	2-Me	71	>250	>3.5
62b	2-Cl	>130	130	<1
62c	2-NO ₂	140	>250	>1.8
62d	2-OMe	19	>250	>13
62e	3-Me	2.6	420	162
62f	3-Et	2.7	181	67
62g	3- <i>t</i> -Bu	12	75	6.3
62h	3-CH ₂ OH	>292	292	<1
62i	3-CF ₃	45	196	4.4
62j	3-F	3.3	282	85
62k	3-Cl	13	210	16
62l	3-Br	5.7	141	25
62m	3-I	10	106	11
62n	3-NO ₂	34	170	5.0
62o	3-OH	82	446	5.3
62p	3-OMe	22	>250	>11
62q	4-Me	220	>250	>1.1
62r	4-F	>250	>250	-
62s	4-Cl	>250	>250	-
62t	4-NO ₂	>190	190	<1
62u	4-CN	>250	>250	-
62v	4-OH	>277	277	<1
62w	4-OMe	>250	>250	-
62x	3,5-Me ₂	0.26	243	935
62y	3,5-Cl ₂	1.3	130	110
63b	3-COOMe	7.9	221	28
63c	3-COMe	7.3	228	35
63d	4-COMe	>110	110	<1
65	3-COOH	>352	352	<1
66	3-CONH ₂	>306	306	<1
68	3-CN	10	234	23
HEPT	H	7.0	741	106
AZT		0.016	20	1250

以上の抗HIV活性の結果をまとめHEPT誘導体の構造活性相関を定性的に示すと、Fig. 5のようになった。各位の置換において、疎水性を上げるような置換が活性を上げる傾向が見られた。1位置換体において、acyclo側鎖末端の水酸基が抗HIV活性に不要だったことは、HEPT誘導体が三リン酸化されることなく抗HIV作用を示すことを強く裏付けたと考えられ、興味深い知見であった。5位をethyl基またはisopropyl基に、6位を3,5-dimethylphenylthio基に置換した場合、飛躍的に活性が上昇し、5位および6位を認識する疎水的なポケットがHIV RTに存在することが示唆された。

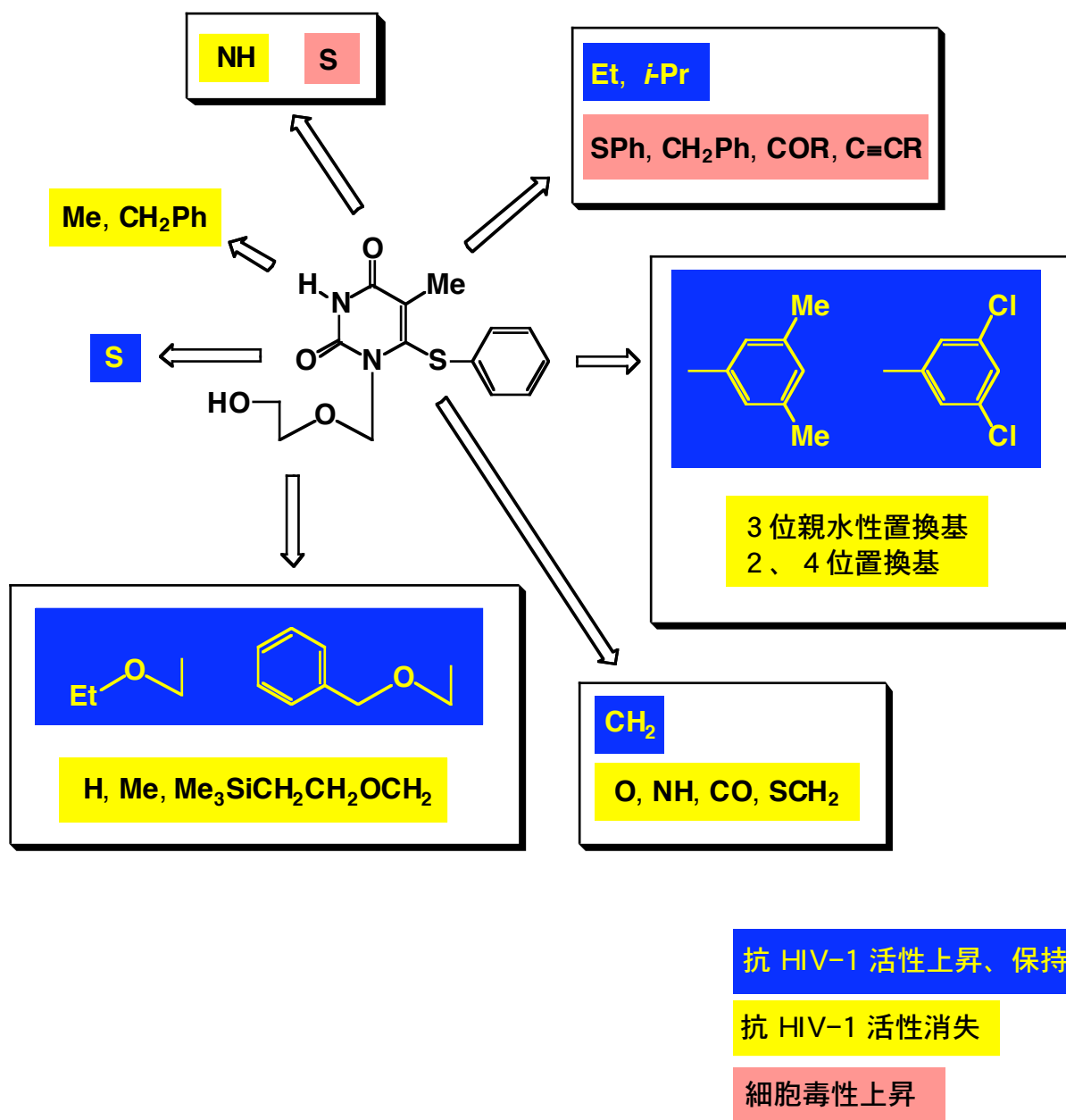


Fig. 5 Qualitative Structure-Activity Relationships of HEPT Analogs

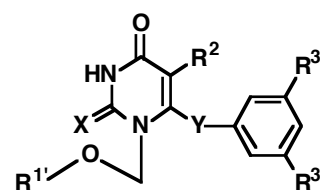
第2章 複数の置換基変換をした高機能HEPT類縁体の合成および抗HIV活性

第1章の各位を単独に置換したHEPT誘導体の構造活性相関を基に、活性上昇に寄与する各位の置換変換を複数の部位に加えた、高い抗HIV活性を示す可能性がある高機能HEPT類縁体を設計した (Fig. 6)。

HEPT-HIV RT複合体のX線結晶解析が報告されているが、HEPTはRTのTyr181、Tyr188、Phe227、Trp229、およびTyr318等で形成される疎水性ポケットに結合していることが示されている (Fig. 7a) ¹⁶。

上記複合体中のHEPTの座標にFig. 6に示すHEPT類縁体を重ね合わせると、定性的には疎水性ポケットによく

フィットした (Fig. 7b)。特に、1位に(benzyloxy)methyl基、5位にisopropyl基、および6位に3,5-dimethylphenylthio基か3,5-dimethylbenzyl基を持つ化合物は疎水性が高いと考えられ、RTのHEPT結合部位である疎水性ポケットに親和性が高い可能性があり、高活性が期待できると考えた。



$R^1 = \text{HOCH}_2\text{CH}_2, \text{Et}, \text{or PhCH}_2$

$R^2 = \text{Et or } i\text{Pr}$

$R^3 = \text{H or Me}$

$X = \text{O or S}$

$Y = \text{S or CH}_2$

Fig. 6 Drug Design of HEPT Analogs

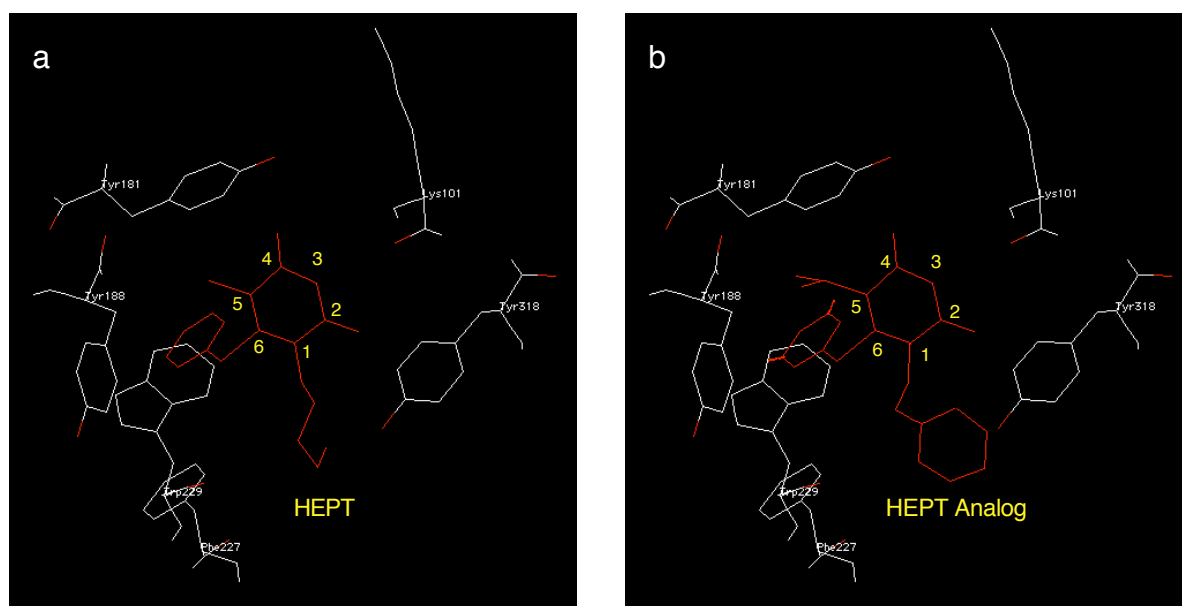
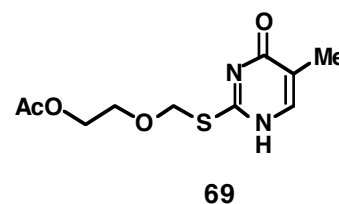


Fig. 7 Diagram of the Amino Acid Residues Around the HEPT-Binding Site for the HIV-1 RT (a) HEPT-RT complex (b) Superimposition of modeled HEPT analog

第1節 Acyclonucleoside簡易合成法の開発

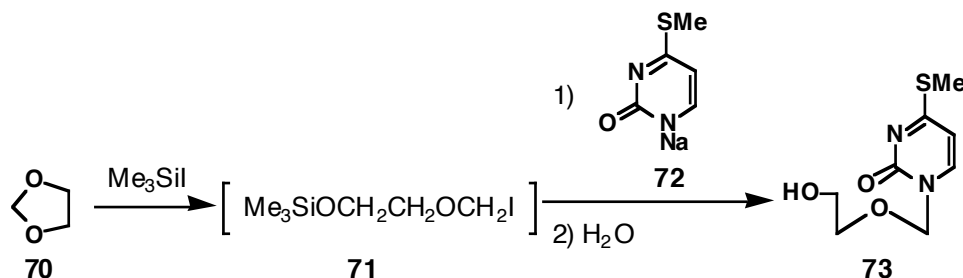
Fig. 6に示したHEPT類縁体はScheme 4、Scheme 5、あるいはScheme 7の経路で合成可能である。しかし、2-thiouracil baseの1位に(2-acetoxyethoxy)methyl基を導入する工程 (**14a,b**から**15a,b**および**30a-c**から**31a-c**の工程)は低収率であり、改良が必要であった。

Rosowskyらが報告した、 SnCl_4 存在下シリル化されたuracil baseと(2-acetoxyethoxy)methyl acetateとの反応は高収率である²²。そこで、本法を用い2-thiouracil誘導体である**15a**を合成したが、収率15%と低収率であった(第1章)。別法として、Kimらが報告した SnCl_4 に代えCsIを用いる方法では、**15a**が収率80%で得られるとされている²⁸。しかしこの方法を用いた**31a-c**の合成は低収率であった(第1章)。さらに、Kimらの報告に従い**15a**の合成を追試したが、主に2-[(2-acetoxyethoxy)-methyl]thio-5-methyl-4(1*H*)-pyrimidone (**69**; 40%) が得られ、**15a**の収率は5%であった。



Keyserらの報告では、1,3-dioxolan (**70**) を Me_3SiI と -78°C で反応させ、生成するiodomethyl 2-(trimethylsilyloxy)ethyl ether (**71**) を4-methylthio-2-pyrimidoneのNa塩 (**72**) と -63°C で反応させると、目的の1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-4-(methylthio)-2-pyrimidone (**73**) が高収率で得られている(Scheme 14)⁴⁰。

Scheme 14



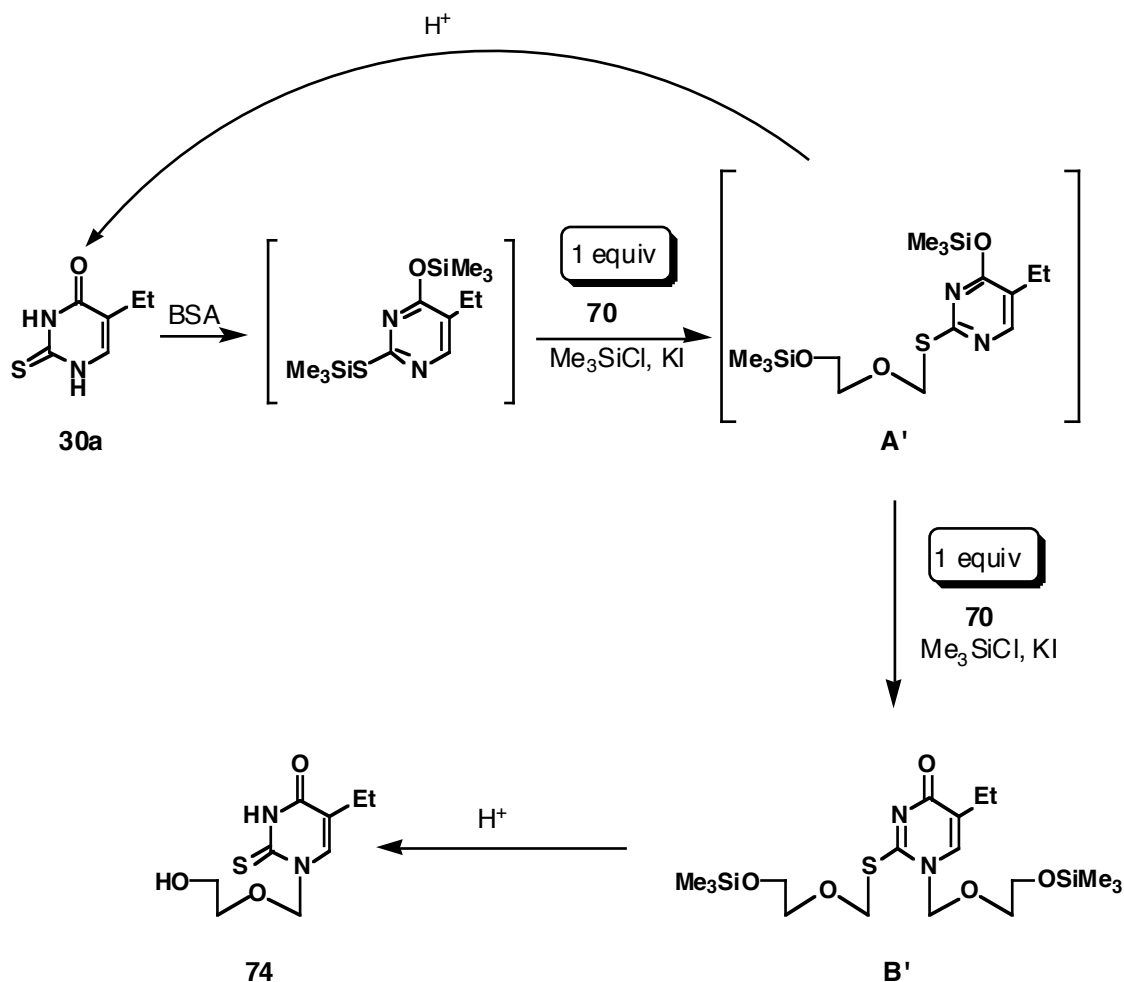
Keyserらが報告した方法は高収率であり、またacetateを経由せず上記2法に比べ短工程である。しかし、低温反応である上に水分に不安定で高価な Me_3SiI を使用するという欠点もあり、大スケールの合成には不向きである。

そこで筆者は、安価な Me_3SiCl とKIを**70**と反応させ生成する**71**をシリル化された5-ethyl-2-thiothymine (**30a**)と反応させる方法を試みた。**30a**をMeCN中2.2当量のBSAでシリル化し、反応液に各1当量の**70**、 Me_3SiCl 、およびKIを同時に加えた。逆相ODSカラムを用いたHPLCにより反応の追跡を行うと、室温、16時間後、反応液の組成は目的物 [**74**, HPLC retention time (rt) = 4.7 min] が10%、不明物 (**A** とする, rt = 5.5 min) が55%、および出発原料 (**30a**, rt = 3.8 min) が35%であった。この反応液に各試薬 (**70**、 Me_3SiCl 、およびKI) をさらに1当量追加し、室温、16時間攪拌すると、**30a** (6%) と**A** (2%) の割合は減少し、**74** (70%) が増加し、新たな不明物 (**B** とする,

rt = 8.5 min, 22%) のピークが出現した。**A**および**B**をHPLCで分取後、massスペクトルを測定すると分子量 (m/z) はそれぞれ230と304であり、**30a** に対し **A** は (2-hydroxyethoxy)methyl基が1ヶ所に、**B**は2ヶ所に導入された化合物と考えられた。この反応液にMeOHを加え酸性条件で反応を止めHPLC分析すると**A**および**B**のピークは消失し、目的物 (**74**, 94%) と出発原料 (**30a**, 6%) の混合物になった。

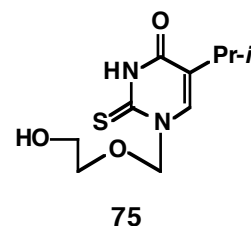
各試薬が1当量の場合、硫黄原子の強い求核性のため5-ethyl-2-thiothymine (**30a**) の2位が**71**を優先的に攻撃し、*S*-2-[(2-trimethylsilyloxy)ethoxy]methyl体 (**A**のシリル体; **A'**) が生成する。そこで、さらに1当量の試薬を加えると、**A'**がさらに[(2-trimethylsilyloxy)ethoxy]methyl化され、**B**のシリル体 (**B'**) が生成する。その後、酸性条件で後処理を行うと**B'**の2位の硫黄原子に結合した[(2-trimethylsilyloxy)ethoxy]-methyl基が除去され、**B'**は**74**に変換される。以上のような理由で、2当量の試薬が必要とされるのではないかと推定した (Scheme 15)。

Scheme 15



詳細に検討していないが、 Me_3SiCl および KI は反応後再生され触媒量で充分である可能性がある。事実、**74**を1当量の KI （他の試薬は2当量用いた）を使用し合成した場合、収率は KI を2当量用いた場合と変わらなかった。

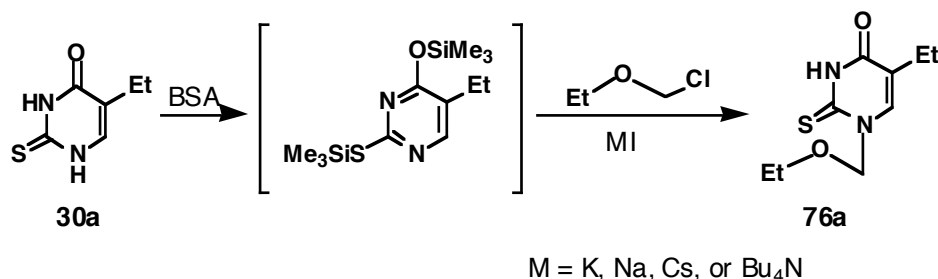
30a,cをシリル化後、各2当量の**70**、 Me_3SiCl 、および KI と室温、16時間反応させた。反応液に MeOH を加え5分間放置後、後処理、シリカゲルカラムクロマトグラフィー精製を行い**74**（80%）および**75**（79%）を得た。



以上の方法により、従来収率良く合成できなかった5-alkyl-1-[(2-hydroxyethoxy)-methyl]-2-thiouracilをone-potで収率良く合成できるようになった。この方法は、反応温度が室温で高価な試薬も使用しないため低コストであり、特に医薬品の工業的生産のような大スケールの合成に有用である。

Scheme 4に示した**12a-f**の合成法を用い**30a**より1-(ethoxymethyl)-5-ethyl-2-thiouracil (**76a**)を合成した場合、低収率（15%）であった。Scheme 7に示した、**30a-c**合成に用いた CsI を使用する方法は、2-thiouracilのシリル体とalkyl chloromethyl etherより1-[(alkyloxy)methyl]-2-thiouracilを収率良く与えると報告されている²⁸。しかし、この方法を用いた場合でも、**30a**より**76a**が37%の収率でしか得られなかった。後者の反応はScheme 15に示した反応と同様、系内で生成するalkyl iodomethyl etherとシリル化されたbaseとの反応である。そこで、反応条件について検討し収率の改善を試みた（Scheme 16）。

Scheme 16

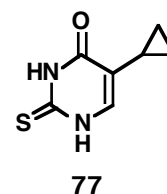
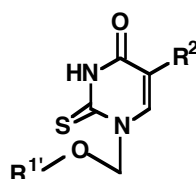


Chloromethyl ethyl etherの当量、iodide（MI）の種類、反応温度、および反応時間を変化させ、HPLCで**30a**（ $\text{rt} = 1.9 \text{ min}$ ）、**76a**（ $\text{rt} = 3.1 \text{ min}$ ）、および副生物（ $\text{rt} = 7.7 \text{ min}$ ）の比を測定した。その結果をTable 8に示す。なお、MIはすべて2当量用いた。以上の結果、MIとして2当量の KI を用いた場合、chloromethyl ethyl etherの当量は2当量、反応温度は 0°C 、反応時間は1時間が適当であることがわかった。MIに関しては、 NaI あるいは CsI でも KI 同様、 0°C 、1時間で反応はほぼ完了した。 Bu_4NI の場合、MIを加えない場合と同程度の結果であり、添加の効果は認められなかった。

Table 8 Reaction of Silylated **30a** with Chloromethyl Ethyl Ether

chloromethyl ethyl ether (eq)	MI	反応時間 (h)	反応温度 (°C)	比率 (%)		
				30a	76a	副生物
2.0	KI	1	25	15	70	15
2.0	KI	1	0	2	93	5
1.5	KI	1	0	35	65	0
1.8	KI	1	0	14	86	0
2.4	KI	1	0	3	90	7
3.0	KI	1	0	8	79	13
2.0	NaI	1	0	5	89	6
2.0	CsI	1	0	3	92	5
2.0	BuN ₄ I	1	0	36	61	3
2.0	BuN ₄ I	3	0	23	74	3
2.0	無	1	0	31	67	2
2.0	無	5	0	11	82	7
2.0	無	9	0	11	82	7

MeCN中、2当量のKI存在下、シリル化された**30a**に2当量のchloromethyl ethyl etherを、0 °C、1時間反応させると反応はほぼ定量的に進行し、後処理後、isopropanolより再結晶し、収率87%で**76a**が得られた。同様の条件で**30a,c**および5-cyclopropyl-2-thiouraci (**77**)⁴¹より目的の**76a-k**を合成した。これらの構造および収率をTable 9に示す。

**Table 9** Structure and Yield of **76a-k**

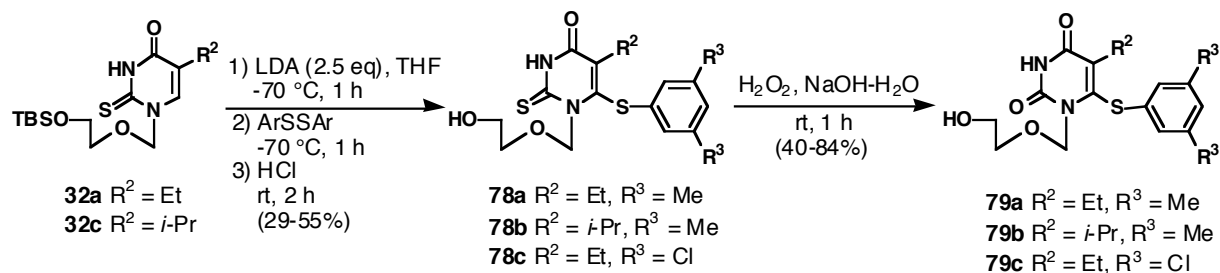
compd	R ^{1'}	R ²	% yield	compd	R ^{1'}	R ²	% yield
76a	Et	Et	87	76g	4-ClC ₆ H ₄ CH ₂	Et	87
76b	<i>i</i> -Pr	Et	75	76h	PhCH ₂ CH ₂	Et	72
76c	C ₆ H ₁₁	Et	56	76i	Et	<i>i</i> -Pr	89
76d	C ₆ H ₁₁ CH ₂	Et	66	76j	PhCH ₂	<i>i</i> -Pr	66
76e	PhCH ₂	Et	87	76k	Et	<i>c</i> -Pr	79
76f	4-MeC ₆ H ₄ CH ₂	Et	79				

第2節 HEPT類縁体の合成

6-Arylthio HEPT類縁体の合成

第1章で述べた**33a,c**の合成と同様に**32a,c**をLDAで処理後、diaryl disulfideと反応させ6位にarylthio基を導入し、その後脱保護を行い目的の5-alkyl-6-(arylthio)-2-thiouracil (**78a-c**)を得た。これらの化合物は**34a,c**の合成と同様に1N NaOH水中H₂O₂を用い酸化的加水分解し、対応するuracil誘導体 (**79a-c**) に導いた (Scheme 17)。

Scheme 17



第1章で述べた**13a-f**の合成法に従って5-alkyl-2-thiouracil (**76a-k**)の6位にarylthio基を導入し、目的の5-alkyl-6-(arylthio)-2-thiouracil (**80a-n**)を合成した。これらの化合物の一部は**34a,c**の合成と同様に酸化的加水分解し、対応するuracil誘導体 (**81a-l**)に導いた (Scheme 18)。**80a-n**および**81a-l**の構造および収率をTable 10に示す。

Scheme 18

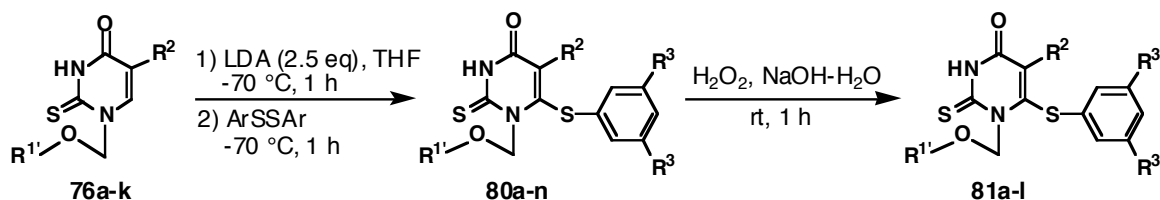
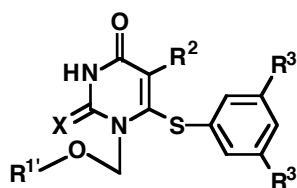


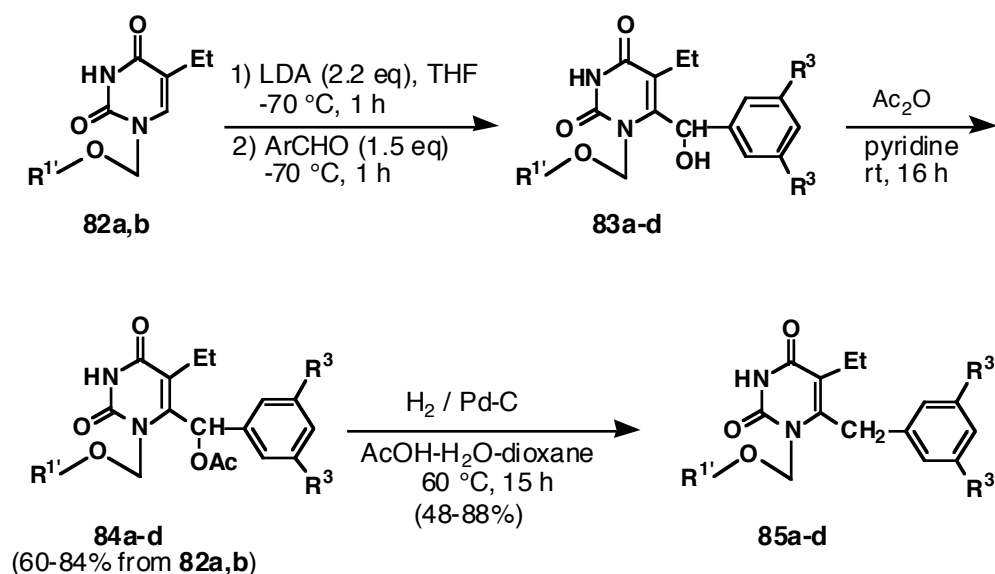
Table 10 Structure and Yield of **80a-n** and **81a-l**

compd	X	R ^{1'}	R ²	R ³	% yield
80a	S	Et	Et	H	88
80b	S	Et	Et	Me	63
80c	S	Et	Et	Cl	42
80d	S	<i>i</i> -Pr	Et	H	63
80e	S	C ₆ H ₁₁	Et	H	71
80f	S	C ₆ H ₁₁ CH ₂	Et	H	72
80g	S	PhCH ₂	Et	H	89
80h	S	PhCH ₂	Et	Me	66
80i	S	4-MeC ₆ H ₄ CH ₂	Et	H	59
80j	S	4-ClC ₆ H ₄ CH ₂	Et	H	36
80k	S	PhCH ₂ CH ₂	Et	H	32
80l	S	Et	<i>i</i> -Pr	H	70
80m	S	PhCH ₂	<i>i</i> -Pr	H	31
80n	S	Et	<i>c</i> -Pr	H	85
81a	O	Et	Et	H	77
81b	O	Et	Et	Me	85
81c	O	Et	Et	Cl	56
81d	O	<i>i</i> -Pr	Et	H	81
81e	O	C ₆ H ₁₁	Et	H	79
81f	O	C ₆ H ₁₁ CH ₂	Et	H	83
81g	O	PhCH ₂	Et	H	77
81h	O	PhCH ₂	Et	Me	81
81i	O	PhCH ₂ CH ₂	Et	H	75
81j	O	Et	<i>i</i> -Pr	H	65
81k	O	PhCH ₂	<i>i</i> -Pr	H	66
81l	O	Et	<i>c</i> -Pr	H	91

6-Benzyl HEPT類縁体の合成

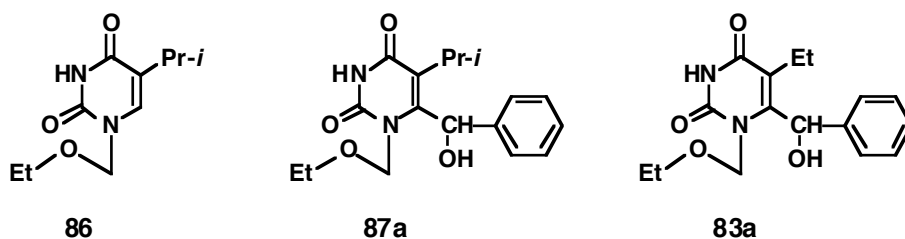
1-[(Alkyloxy)methyl]-6-benzyl-5-ethyluracilの合成は第1章で述べた**48**の合成法を若干変更して行った。出発原料である**82a,b**は**76a**および**31a**を酸化的加水分解し合成した。**82a,b**をLDA (2.2当量、 -70°C 、1時間)で処理後、arylaldehyde (1.5当量、 -70°C 、1時間)と反応させ、生成する**83a-d**を単離することなくアセチル化し、acetate (**84a-d**)を収率60–84%で得た。次いで、**84a-d**の水素化分解を酢酸–水–dioxane中、10% Pd–C触媒存在下、1気圧の水素雰囲気中、 60°C 、15時間行い目的物**85a-d**を得た (Scheme 19)。

Scheme 19^a



^a For **82a**, **83a,b**, **84a,b**, and **85a,b**, $\text{R}^{1'} = \text{Et}$. For **82b**, **83c,d**, and **84c,d**, $\text{R}^{1'} = \text{TBSOCH}_2\text{CH}_2$. For **85c,d**, $\text{R}^{1'} = \text{HOCH}_2\text{CH}_2$. $\text{R}^3 = \text{H}$ or Me (see the Experimental Section).

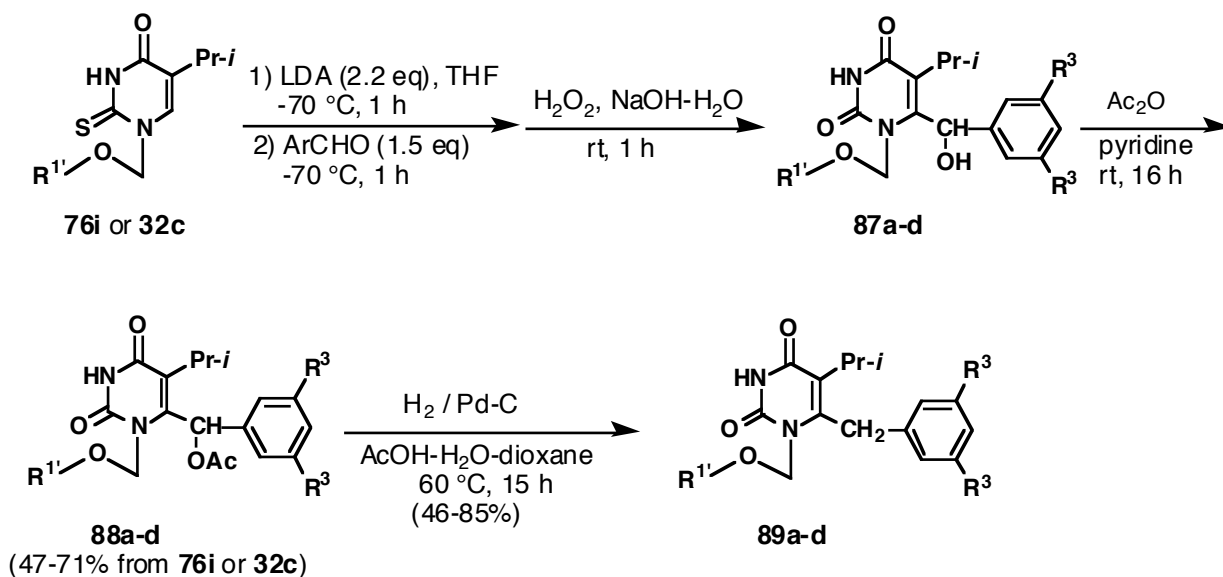
76iより誘導できる**86**を用いScheme 19の反応を行った場合、1-(ethoxymethyl)-5-isopropyl-6-(phenylhydroxymethyl)uracil (**87a**)の精製後の単離収率は18%と低収率であった。試しに、対応する5-ethyl体 (**83a**)を**82a**より合成し単離してみると、収率は90%であり、5位の置換基に依存した収率の大きな変化が認められた。



2-Thiouracil誘導体である**76i**の場合、リチオ化を経由した6位へのphenylthio基の導入 (**80i**の合成)は収率70%と比較的高収率だったので、**76i**および**32c**を出発原料に変え合成を行った。**83a-d**の合成と同様に**76i**あるいは**32c**をLDAで処理し、その後 aryl

aldehydeと反応させた。TLCで原料が消失し単一の生成物を与えることを確認した後、生成物を単離することなくNaOH水中H₂O₂で2-thio基を酸化的加水分解し**87a-d**とした。これらも単離することなくアセチル化しacetate (**88a-d**) を得た。ここでの一貫収率は47-71%であった。最後に、**85a-d**と同様の条件で**88a-d**を水素化分解し目的物**89a-d**を得た (Scheme 20)。

Scheme 20^a



^a For **76i**, **87a,b**, **88a,b**, and **89a,b**, R^{1'} = Et. For **32c**, **87c,d**, and **88c,d**, R^{1'} =

TBSOCH₂CH₂. For **89c,d**, R^{1'} = HOCH₂CH₂. R³ = H or Me (see the Experimental Section).

第3節 抗HIV活性

6-Arylthio HEPT類縁体の抗HIV活性

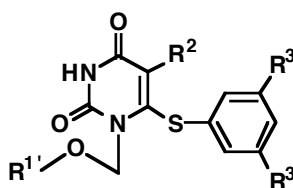
HEPT6位のphenylthio基のbenzene環上の3位と5位の両方にmethyl基あるいは塩素原子を導入したり、5位methyl基をethyl基あるいはisopropyl基に置換すると、抗HIV活性が上昇することは第1章で既に示した。本章で合成したその両方の位置の置換基を変換した**79a-c**はより強い抗HIV活性を示した。これらの化合物のEC₅₀値はnMレベル (**79a**, EC₅₀ = 0.013 μ M; **79b**, EC₅₀ = 0.0027 μ M; **79c**, EC₅₀ = 0.014 μ M) であった。特に、6位に(3,5-dimethylphenyl)thio基を持つ化合物 (**79a**, CC₅₀ = 149 μ M; **79b**, CC₅₀ = 128 μ M) は細胞毒性が低く、SI値は40000前後を示した。すなわち、これらの化合物は宿主細胞の増殖を抑制する濃度の約1/40000の濃度でHIV増殖を抑制した (Table 11)。

1位に(Alkyloxy)methyl基を持つHEPT類縁体 (**81a-l**) において、(cyclohexyloxy)-methyl体 (**81e**) 以外の化合物は強い抗HIV活性を示し、それらのEC₅₀値は μ Mレベル以下であった (Table 11)。

1位にethoxymethyl基を持つHEPT類縁体の5位置換基に関して、ethyl体 (**81a**, EC₅₀ = 0.019 μ M) およびisopropyl体 (**81j**, EC₅₀ = 0.012 μ M) は対応するmethyl体 (**13b**, EC₅₀ = 0.33 μ M) に比べ強い抗HIV活性を示し、それぞれ**13b**の17倍および28倍の活性を示した。Cyclopropyl体 (**81i**) は**13b**と同レベルの抗HIV活性を示したが、**81a**や**81j**には及ばなかった。活性の強さは*i*-Pr > Et >> *c*-Pr $\approx$ Meの順であった。1位に(benzyl-oxy)methyl基を持つ化合物 (**13f**, **81g,k**) に関しても、同様の構造活性相関が5位の置換基に関して見られた (Table 11)。

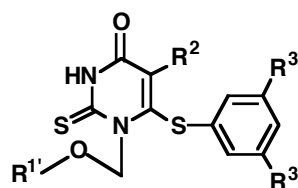
6位の置換基に関し、(3,5-Dimethylphenyl)thio体 (**81b,h**) および(3,5-dichlorophenyl)thio体 (**81c**) は対応するphenylthio体より高活性であった。但し、**81c**は細胞毒性も強くなった (Table 11)。

2-Thiouracil誘導体 (**78a-c**および**80a-n**) もuracil誘導体同様強い抗HIV活性を示した (Table 12)。HEPTの2-thio体である**19a**はHEPTの7倍の活性を示したが、Table 11, 12のEC₅₀値がnMレベルの化合物では、uracil誘導体も2-thiouracil誘導体もほぼ同じレベルの活性であった。すなわち、これらの一群の高活性化合物においては、pyrimidine環の2位の酸素原子から硫黄原子への置換は活性の上昇に寄与しなかった。

Table 11 Inhibition of HIV Replication in MT-4 Cells by 6-(Arythio)uracils

compd	R ^{1'}	R ²	R ³	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	SI
79a	HOCH ₂ CH ₂	Et	Me	0.013	149	35500
79b	HOCH ₂ CH ₂	<i>i</i> -Pr	Me	0.0027	128	47400
79c	HOCH ₂ CH ₂	Et	Cl	0.014	51	3640
81a	Et	Et	H	0.019	161	8500
81b	Et	Et	Me	0.0054	>100 ^a	>18500
81c	Et	Et	Cl	0.0074	45	6080
81d	<i>i</i> -Pr	Et	H	0.34	143	421
81e	C ₆ H ₁₁	Et	H	4.0	>100 ^a	>25
81f	C ₆ H ₁₁ CH ₂	Et	H	0.45	17	38
81g	PhCH ₂	Et	H	0.0059	34	5800
81h	PhCH ₂	Et	Me	0.0032	>20 ^a	>6250
81i	PhCH ₂ CH ₂	Et	Me	0.096	38	396
81j	Et	<i>i</i> -Pr	H	0.012	106	8830
81k	PhCH ₂	<i>i</i> -Pr	H	0.0027	>20 ^a	>7410
81l	Et	<i>c</i> -Pr	H	0.1	224	2240

^aHigher concentrations could not be achieved because of crystallization of the compound in the culture medium.

Table 12 Inhibition of HIV Replication in MT-4 Cells by 6-(Arythio)-2-thiouracils

compd	R ^{1'}	R ²	R ³	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	SI
78a	HOCH ₂ CH ₂	Et	Me	0.0078	277	35500
78b	HOCH ₂ CH ₂	<i>i</i> -Pr	Me	0.005	52	10200
78c	HOCH ₂ CH ₂	Et	Cl	0.043	64	1490
80a	Et	Et	H	0.026	81	3120
80b	Et	Et	Me	0.0044	>100 ^a	>22700
80c	Et	Et	Cl	0.013	45	3460
80d	<i>i</i> -Pr	Et	H	0.22	>100 ^a	>455
80e	C ₆ H ₁₁	Et	H	1.6	223	139
80f	C ₆ H ₁₁ CH ₂	Et	H	0.35	>100 ^a	>286
80g	PhCH ₂	Et	H	0.0078	>100 ^a	>12800
80h	PhCH ₂	Et	Me	0.0069	>20 ^a	>2900
80i	4-MeC ₆ H ₄ CH ₂	Et	H	0.078	>20 ^a	>256
80j	4-ClC ₆ H ₄ CH ₂	Et	H	0.012	>20 ^a	>1670
80k	PhCH ₂ CH ₂	Et	H	0.091	>20 ^a	>220
80l	Et	<i>i</i> -Pr	H	0.014	>100 ^a	>7140
80m	PhCH ₂	<i>i</i> -Pr	H	0.0068	>20 ^a	>2940
80n	Et	<i>c</i> -Pr	H	0.095	46	484

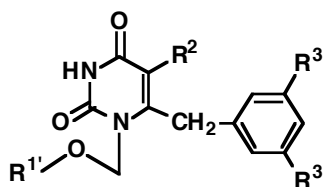
^aHigher concentrations could not be achieved because of crystallization of the compound in the culture medium.

6-Benzyl HEPT類縁体の抗HIV活性

Table 13に示す、6位にbenzyl基を持つHEPT類縁体の多くもEC₅₀値がnMレベルの強い抗HIV活性を示し、既存抗HIV剤のAZTと同等あるいはそれ以上の活性を有していた。これらにおいても6位にphenylthioを持つHEPT類縁体 (Table 17) と同様の構造活性相関が見られた。5位置換基に関して、ethyl体 (**85c**, EC₅₀ = 0.35 μM) およびisopropyl体 (**89c**, EC₅₀ = 0.063 μM) は対応するmethyl体 (**53a**, EC₅₀ = 23 μM) より高活性であった。1位置換基に関して、ethoxymethyl基を持つ**85a** (EC₅₀ = 0.041 μM) や**89a** (EC₅₀ = 0.0042 μM) は高活性であった。またここでも、6位benzene環上の3位と5位の両方にmethyl基を導入すると活性が上昇し、この系統の化合物 (**85b,d**および**89b,d**) のEC₅₀値はいずれもnMレベル以下であった。

6-(3,5-Dimethylbenzyl)-1-(ethoxymethyl)-5-isopropyluracil (**89b**, EC₅₀ = 0.0006 μM) は本研究で合成した化合物の中で最高の活性を示す化合物であり、NNRTIの既存薬であるnevirapineの100倍以上の活性を示した。**89b**は既報告の抗HIV剤の中でも最強の化合物に属する。この一連のHEPT類縁体の細胞毒性はHEPTと同程度であり、ウイルス選択性が非常に高い安全な薬剤であった。特に、**85b**のSI値は130000と本研究で合成した化合物の中で最大の値を示した。

Table 13 Inhibition of HIV Replication in MT-4 Cells by 6-Benzyluracils



compd	R ¹	R ²	R ³	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	SI
85a	Et	Et	H	0.041	245	6000
85b	Et	Et	Me	0.0016	207	130000
85c	HOCH ₂ CH ₂	Et	H	0.35	391	1100
85d	HOCH ₂ CH ₂	Et	Me	0.013	281	22000
89a	Et	<i>i</i> -Pr	H	0.0042	186	44000
89b	Et	<i>i</i> -Pr	Me	0.0006	43	72000
89c	HOCH ₂ CH ₂	<i>i</i> -Pr	H	0.063	295	4700
89d	HOCH ₂ CH ₂	<i>i</i> -Pr	Me	0.0027	221	82000
AZT				0.003	7.8	2600
Nevirapine				0.077	224	2900

第3章 HEPT類縁体の抗HIV作用機序および臨床的有用性の検討

第1節 HEPT類縁体の抗HIV作用機序の検討

HEPT-TP (**5b**) はHIV RT阻害作用を示さず、HEPT自体が微弱な ($IC_{50} = 53 \mu M$) RT阻害作用を示す¹⁴。このようなHEPTの性質はRT基質類縁体 (ヌクレオシド類縁体) であるAZTの性質とは異なっている。そこで、HEPT類縁体の抗HIV作用機序についてより詳細に検討するため、Table 14に示したHEPT類縁体の*in vitro* HIV RT阻害活性を、template-primerにpoly(A)·oligo(T)、基質にthymidine 5'-triphosphate (TTP) を用い測定した。その結果、いずれのHEPT類縁体もHIV RTを阻害した。**89a**について、template-primer: poly(C)·oligo(dG)、基質; deoxyguanosine 5'-triphosphate (dGTP) の組合せでもRT阻害活性を調べた。その結果 $IC_{50} = 0.012 \mu M$ となり、poly(A)·oligo(T)、TTP ($IC_{50} = 0.21 \mu M$) の場合より低濃度でRTを阻害した (Table 14)。

89aの阻害様式をdouble-reciprocal plot analysisにより解析した結果、基質のTTP ($K_i = 0.20 \mu M$) およびdGTP ($K_i = 0.01 \mu M$) に対し非拮抗阻害、template-primerのpoly(A)·oligo(T) ($K_i = 0.11 \mu M$) に対し混合様式、poly(C)·oligo(dG) ($K_i = 0.011 \mu M$) に対し不拮抗阻害であった (Fig. 8)。すなわち、**89a**は基質の拮抗阻害剤であるAZT-TP⁴²とは異なる様式でHIV RTを阻害していた。

Table 14に示したHEPT類縁体の*in vitro* RT阻害濃度と細胞系におけるHIV増殖抑制濃度 (第1章および第2章) を両対数でプロットすると強い正の相関が認められた (Fig. 9)。

Table 14 Inhibitory Effect of HEPT Analogs on HIV RT Activity

compd	template-primer	substrate	$IC_{50} (\mu M)$
13b	poly(A)·oligo(T)	TTP	4.1
13c	poly(A)·oligo(T)	TTP	34
13f	poly(A)·oligo(T)	TTP	4.0
33b	poly(A)·oligo(T)	TTP	11
81a	poly(A)·oligo(T)	TTP	0.27
81g	poly(A)·oligo(T)	TTP	0.16
85b	poly(A)·oligo(T)	TTP	0.11
89a	poly(A)·oligo(T)	TTP	0.21
	poly(C)·oligo(dG)	dGTP	0.012
HEPT	poly(A)·oligo(T)	TTP	53
AZT-TP	poly(A)·oligo(T)	TTP	0.007
	poly(C)·oligo(dG)	dGTP	>1000

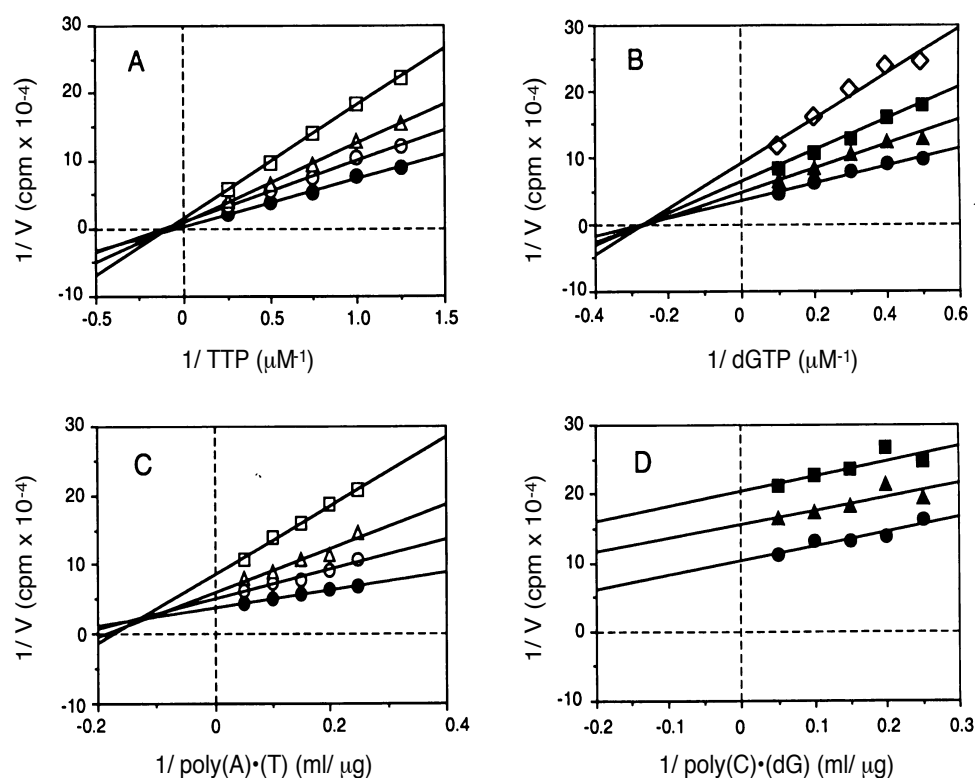


Fig. 8 Double-reciprocal Plot analysis of Inhibition of HIV-1 RT by **89a**

Reactions in A and B were performed with 12 $\mu\text{g/ml}$ poly(A) $\cdot$ (T) (A) or 24 $\mu\text{g/ml}$ poly(C) $\cdot$ (dG) (B) and various concentrations of [^3H]TTP (A) or [^3H]dGTP (B). Reactions in C and D were performed with various concentrations of poly(A) $\cdot$ (T) (C) or poly(C) $\cdot$ (dG) (D) and 5 μM [^3H]TTP (C) or 10 μM [^3H]dGTP (D). Concentrations of **89a** were 0 ($\bullet$), 0.004 ($\blacktriangle$), 0.008 ($\blacksquare$), 0.016 ($\diamond$), 0.08 ($\circ$), 0.16 ($\triangle$), and 0.32 ($\square$) μM .

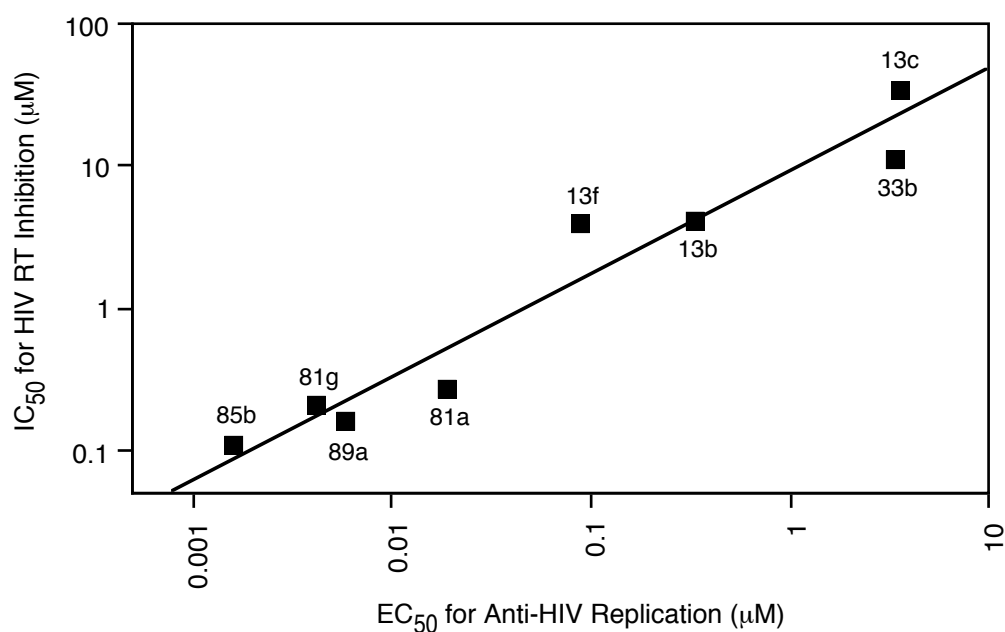


Fig. 9 Correlation Between the Inhibitory Effects of a Series of HEPT Analogs on HIV Replication in Cell Cultures and Their Inhibitory Effects on HIV RT Activity

89aは拮抗阻害剤であるAZT-TPとは異なる阻害様式を示した。また、HEPT類縁体のRT阻害濃度と細胞系におけるHIV増殖抑制濃度には強い正の相関が認められた。以上の結果より、HEPT類縁体はAZTとは異なる様式でHIV RTを阻害し、HIV増殖を抑制していることが強く示唆された。

HIV RTは560アミノ酸残基（分子量：66,000）のp66サブユニットと440アミノ酸残基（分子量：51,000）のp51サブユニットで構成されたヘテロダイマーである。p66サブユニットの基質（ヌクレオシド三リン酸）が結合するpolymerase触媒活性中心より10数Å離れたサイト（Tyr181、Tyr183、Tyr188、Phe227、およびTrp229より形成される疎水性ポケット）にHEPTは結合している¹⁶。Hopkinsらは**89a**とHIV RTの共結晶のX線結晶解析の結果を報告し、**89a**もHEPTと同じ疎水性ポケットに結合していることを示した⁴³。**89a**は基質のヌクレオシド三リン酸に対し非拮抗的に上記疎水性ポケットに結合する。そしてpolymerase触媒活性中心のアミノ酸残基であるAsp110、Asp185、およびAsp186のコンホメーションを変化させ⁴³、HIV RTのpolymerase反応速度を低下させている⁴⁴。先に示した**89a**のHIV RT阻害様式は以上のような結果と矛盾しない。

89aがHIV RTに結合した場合、pyrimidine環5位のisopropyl基とTyr181側鎖のbenzene環の立体的干渉によりTyr181のコンホメーションが大きく変化している⁴³。そして、**89a**の6位benzene環とTyr181の疎水結合がより強くなるようにTyr181の側鎖のコンホメーションが変化している。一方HEPTの場合、5位置換基は立体的に小さいmethyl基であるためTyr181のコンホメーション変化は小さく、Tyr181と6位benzene環との疎水結合には不利である⁴³。このTyr181のコンホメーション変化の大きさの差がHEPTと**89a**とのHIV RT結合強度の差に反映し、抗HIV活性の差に反映していると考えられている⁴³。

第2節 HEPT類縁体**89a** (MKC-442) の臨床的有用性の検討

第2章で見出した高活性HEPT類縁体のいくつかについて、動物毒性試験および薬物動態試験が行われた⁴⁵。その結果、**89a**が低毒性で良い経口吸収性を示し、医薬品として開発可能であると判断され、臨床化合物として選択されMKC-442という開発コード番号が与えられた。そこで、**89a** (MKC-442) の臨床的有用性を調べるため、AZT耐性ウイルスに対する抗HIV作用、AZTと併用時における相乗効果、およびマウス骨髄前駆細胞に対する*in vitro*増殖抑制作用について検討した。

AIDS患者より分離されたAZT耐性HIV-1 (A012D¹², A018C⁴⁶) について、MKC-442の抗ウイルス活性を測定した。その結果、MKC-442はAZT耐性株に対してAZTのような活性低下を示さず、HTLV-III_Bに対する場合と同程度の活性を示した (Table 15)。

Table 15 Inhibitory Effects of MKC-442 and AZT on Replication of AZT-Resistant HIV-1 Strains in MT-4 Cells

compd	strain	EC ₅₀ (nM)	CC ₅₀ (μM)
MKC-442	A012D	4.7	102
	A018C	7.6	
	HTLV-III _B	4.2	
AZT	A012D	189	10
	A018C	216	
	HTLV-III _B	3.3	

MKC-442とAZTとの併用時の臨床効果を予測するため、併用した場合の抗HIV活性について検討し、EC₅₀、EC₇₀、およびEC₉₀におけるcombination index (CI) を算出した^{47,48}。CI値が1より小さい場合は併用した両薬剤が互いの薬効を増強しあう相乗的作用 (synergism) を示し、CI値が1より大きい場合は互いの薬効を打消しあう拮抗的作用 (antagonism) を示す。CI値が1の場合は相加的 (summation) を示す。MKC-442とAZTをそれぞれの比率が2:1、4:1、および8:1で併用した場合、いずれの比率でもCI値が1以下であり、MKC-442とAZTは相乗作用を示した (Table 16)。従って、MKC-442はAZTとの併用に適していると考えられた。

AZT等NRTIの特徴的な副作用として問題になっている骨髄抑制を予測するため、MKC-442のマウス骨髄前駆細胞の増殖抑制作用について検討した。その結果、MKC-442はAZTとは異なり5 μM以下の濃度では抑制作用を示さず、骨髄に対する毒性が低い可能性が示唆された (Table 17)。

以上の結果、MKC-442はその抗HIV活性の強さ、AZT耐性HIV株に対する効果、培養細胞および生体に対する低毒性、AZTとの相乗的抗HIV作用により、臨床的有用性を持つことが示唆された。現在、MKC-442を用いたフェイズ3臨床試験が実施中であるが、治療効果が確認されている⁴⁹。

Table 16 CIs for MKC-442 with AZT in MT-4 Cells Infected with HIV

MKC-442:AZT ^a	CI ^b		
	50	70	90
2:1	0.52	0.40	0.28
4:1	0.47	0.37	0.27
8:1	0.56	0.47	0.37

^aThe concentration ratio in the mixture is shown. The highest concentration of MKC-442 examined in combination with AZT was 32nM. ^bCIs giving 50, 70, 90% inhibition of HIV cytopathicity in MT-4 cells are shown. CIs were determined under mutually nonexclusive assumption. A CI value of <1, =1, or >1 would be indicative of synergy, summation, or antagonism, respectively.

Table 17 Inhibitory Effect of MKC-442 and AZT on Colony Formation of Murine Bone Marrow Progenitor Cells.

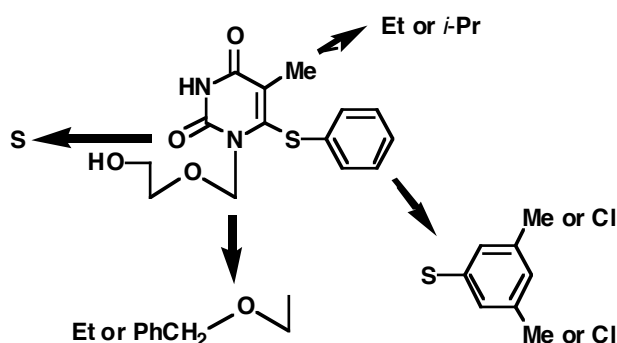
compd	conc (μM)	number of colonies ^a	
		GM-CSF ^b	IL-3 ^b
control		89 ± 5	137 ± 14
MKC-442	50	57 ± 4**	109 ± 2*
	5	77 ± 6	137 ± 11
	0.5	75 ± 3*	137 ± 10
	0.05	89 ± 3	136 ± 5
AZT	50	14 ± 3**	10 ± 2**
	5	47 ± 3**	74 ± 5**
	0.5	70 ± 6**	109 ± 8**
	0.05	85 ± 7	141 ± 4

^aValues are means ± deviations in triplicate experiments.

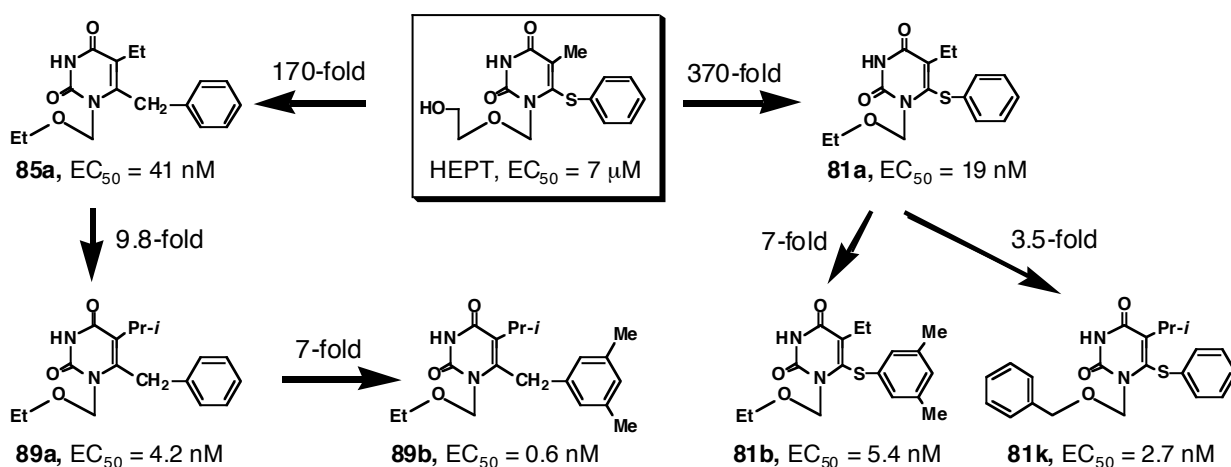
^bSee the Experimental Section. *: p<0.05. **: p<0.01

結 論

- 1) 6位置置換uridine nucleosideの合成法を6位置置換acyclouridine nucleoside合成に応用し、pyrimidine環の各位置の置換基を変換した数多くのHEPT誘導体の合成に成功した。
- 2) 1) で合成したHEPT誘導体の抗HIV活性を測定し構造活性相関を明らかにした。すなわち、下図に示した置換基変換がHEPTの抗HIV活性を上昇させることを見出した。



- 3) 温和な条件下、one-potで合成でき、しかも低コストの製造法で医薬品の工業的生産等大スケールの合成に適した、acyclonucleosideの簡易な合成法の開発に成功した。
- 4) 2) で明らかにした構造活性相関を基に活性上昇に寄与するpyrimidine環各位の置換基変換を複数加えたHEPT類縁体を設計し、その合成を行った。その結果、nMレベルのEC₅₀値を持つ非常に強い抗HIV活性を示す化合物を多数発見した。



- 5) 高活性HEPT類縁体について、抗HIV作用機序についての検討および*in vitro*において臨床的有用性の検討を加え、HEPT類縁体がAZT-TPとは異なる阻害様式でHIV RTを阻害し抗ウイルス作用を示すことを、また臨床的に有用である可能性を見出した。

謝 辞

本論文を作成するにあたり、御指導、御鞭撻を賜りました大阪大学大学院薬学研究科今西武教授、ならびに土井健史教授に深く感謝申し上げます。

また、本研究を遂行するにあたり、御指導、御助言、御協力頂きました、共同研究者である、昭和大学薬学部宮坂貞名誉教授ならびに田中博道教授、鹿児島大学医学部馬場昌範教授、ベルギーKatholieke Universiteit Leuven Erik De Clercq 教授、イギリス University of Birmingham 故Richard T. Walker 教授、三菱化学株式会社（現三菱東京製薬株式会社）姥澤賢博士、湯浅聡博士、関谷浩一修士、上田（旧姓井上）直子修士に感謝致します。

最後に、本論文を作成するにあたり、御指導、御鞭撻、御尽力賜りました北海道大学大塚栄子名誉教授に深く感謝申し上げます。

実験の部

一般的手法

融点は柳本微量融点測定装置を用いて測定し未補正である。 ^1H および ^{13}C NMR は Bruker AC-250 (250 MHz) を用いて測定し、内部標準として tetramethylsilane を用い、parts per million (ppm) で表した。IR 吸収は JASCO A-102 spectrophotometer を用いて測定した。UV 吸収は Shimadzu UV-260 spectrophotometer を用いて測定した。Mass スペクトルは Hitachi M-80A spectrometer を用いて測定した。元素分析は Perkin-Elmer 240-C elemental analyzer を用いて行った。

シリカゲルカラムクロマトグラフィーは Merck Silica gel 60 H を用いて、逆相オクタデシルシリル (ODS) シリカゲルカラムクロマトグラフィーは MCI Gel ODS 1MY (三菱化学) を用いて行った。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は Waters M-600 を用いて行った。HPLC 用カラムは ODS シリカゲルカラム (分析用カラムとして J'sphere ODS-M80; ϕ 4.6 x 150 mm、4 μM 、YMC、分取用カラムとして YMC-pack ODS SH-343-5; ϕ 20 x 250 mm、5 μM 、YMC) を用いて、溶離液として MeCN- H_2O あるいは MeOH- H_2O を用いた。TLC は Merck precoated silica gel plate 60 F₂₅₄ を用いて、 CHCl_3 -MeOH あるいは EtOAc-hexane の混合溶媒を用いて展開した。

第 1 章第 1 節の実験

1位置換体の合成

1-[(2-Alkyloxy)ethoxy]methyl]-6-(phenylthio)thymines (6a-c) の一般合成法

HEPT (2.46 g, 8 mmol) の THF (20 mL) 溶液に窒素気流下 0 °C で、NaH (60% in oil, 0.67 g, 16.8 mmol) を加え、反応液を室温にもどし、1 時間攪拌した。反応液に alkyl halide (8 mmol) を加え、室温でさらに 14 時間攪拌した。反応液に 1N HCl 水 (30 mL) と EtOAc (30 mL) を加え分配し、有機層を飽和 NaHCO_3 水 (20 mL) および飽和 NaCl 水 (20 mL) で洗浄後、 MgSO_4 で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3) で精製後、適当な溶媒で結晶化し目的物を得た。

1-[(2-Methoxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (6a)

MeI を用いた。

Yield 87%; mp 102–104 °C (EtOH- H_2O); UV (MeOH) λ_{max} 275 nm (ϵ 8000), 244 nm (ϵ 10000); MS m/z 322 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.03 (s, 3H, 5-Me), 3.33 (s, 3H, OMe), 3.40–3.78 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.60 (s, 2H, NCH_2O), 7.16–7.37 (m, 5H, SPh), 8.50 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 55.89; H, 5.63; N, 8.69; S, 9.95. Found: C, 55.82; H, 5.63; N, 8.66; S, 10.05.

1-[(2-Pentyloxy)ethoxy]methyl]-6-(phenylthio)thymine (6b)

Pentyl iodide を用いた。

Yield 21%; mp 76–78 °C (EtOH–H₂O); UV (MeOH) λ_{max} 274 nm (ϵ 8100), 244 nm (ϵ 10200); MS m/z 378 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.88 [t, J = 6.8 Hz, 3H, O(CH₂)₄Me], 1.19–1.72 [m, 6H, OCH₂(CH₂)₃Me], 2.02 (s, 3H, 5–Me), 3.30–3.62 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 3.40 [t, J = 6.8 Hz, 2H, OCH₂(CH₂)₃Me], 5.61 (s, 2H, NCH₂O), 7.12–7.58 (m, 5H, SPh), 8.83 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₉H₂₆N₂O₄S: C, 60.30; H, 6.92; N, 7.40; S, 8.47. Found: C, 60.18; H, 7.05; N, 7.42; S, 8.64.

1-[(2-Benzoyloxy)ethoxy]methyl]-6-(phenylthio)thymine (6c)

Benzyl bromide を用いた。

Yield 80%; mp 107–109 °C (Et₂O–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 274 nm (ϵ 7800), 244 nm (ϵ 9800); MS m/z 398 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.00 (s, 3H, 5–Me), 3.46–3.86 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 4.50 (s, 2H, OCH₂Ph), 5.60 (s, 2H, NCH₂O), 7.12–7.38 (m, 10H, Ph x 2), 8.50 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₂₁H₂₂N₂O₄S: C, 63.30; H, 5.56; N, 7.03; S, 8.05. Found: C, 63.15; H, 5.56; N, 7.00; S, 8.22.

6-(Phenylthio)thymine (7)

HEPT (1.30 g, 4.2 mmol) に MeOH (20 mL) と濃塩酸 (3 mL) を加え、得られた溶液を 80 °C、40 分間攪拌した。溶液を室温まで冷却し、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃–MeOH 20:1, v/v) で精製後、EtOAc–MeOH で結晶化し **7** を得た。

Yield 0.24 g (24%); mp 238–242 °C (EtOAc–MeOH); UV (MeOH) λ_{max} 288 nm (ϵ 9100), 245 nm (ϵ 7200); MS m/z 234 (M⁺); ¹H NMR (Me₂SO-*d*₆) δ 1.89 (s, 3H, 5–Me), 7.25–7.43 (m, 5H, SPh), 10.9, 11.2 (br x 2, 1H x 2, NH x 2). Anal. Calcd. for C₁₁H₁₀N₂O₂S: C, 56.40; H, 4.30; N, 11.96; S, 13.68. Found: C, 56.68; H, 4.24; N, 12.02; S, 13.64.

1-Alkyl-6-(phenylthio)thymines (8a-c) の一般合成法

6-(Phenylthio)thymine (**7**, 200 mg, 0.85 mmol)、Me₂SO (2 mL)、alkyl iodide (0.85 mmol)、および K₂CO₃ (117 mg, 0.85 mmol) を混合し、混合液を 80 °C、2時間攪拌した。反応液を室温まで冷却後、濃塩酸で中和し、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃) で精製し、monoalkyl 体の分画を減圧濃縮後、適当な溶媒で結晶化し目的物を得た。

1-Methyl-6-(phenylthio)thymine (8a)

MeI を用いた。

Yield 13%; mp 229–230 °C (CHCl₃); UV (MeOH) λ_{max} 286 nm (ϵ 8600), 242 nm (ϵ 8900); MS m/z 248 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.21 (s, 3H, 5–Me), 3.44 (s, 3H, 1–Me), 7.13–7.43 (m, 5H, SPh), 9.09 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₂H₁₂N₂O₂S·1/8H₂O: C, 57.53; H, 4.93; N, 11.18; S, 12.80. Found: C, 57.52; H, 4.81; N, 11.04; S, 12.64.

同時に、Dimethyl-6-(phenylthio)thymine が収率 34% で単離された。

1-Methyl-6-(phenylthio)thymine (8a) より 1-methylthymine (9)への誘導

8a (5 mg, 0.02 mmol)、2,2'-azobisisobutyronitrile (1 mg)、および Bu_3SnH (27 μL , 0.1 mmol) を dry benzene (2 mL) に溶かし、4 時間還流した。反応液を減圧濃縮し、残査を 50% CF_3COOH 水 (5 mL) に溶かし、室温、14 時間放置した。反応液の 1 部を TLC (CHCl_3 -MeOH 10:1, v/v) で精製すると、唯一の生成物が得られ、UV 吸収を測定した。UV (H_2O) λ_{max} 273 nm, (1N NaOH- H_2O) λ_{max} 271 nm. これらのデータは 1-methylthymine の吸収¹⁸と一致した。

1-Ethyl-6-(phenylthio)thymine (8b)

EtI を用いた。

Yield 10%; mp 158–160 °C (acetone-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 286 nm (ϵ 10000), 239 nm (ϵ 10000); MS m/z 262 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.18 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_2Me), 2.08 (s, 3H, 5-Me), 4.13 (q, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2Me), 7.13–7.38 (m, 5H, SPh), 8.22 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$: C, 59.52; H, 5.38; N, 10.68; S, 12.22. Found: C, 59.39; H, 5.35; N, 10.34; S, 12.47.

1-Butyl-6-(phenylthio)thymine (8c)

BuI を用いた。

Yield 18%; mp 124–127 °C (EtOAc); UV (MeOH) λ_{max} 286 nm (ϵ 10000), 240 nm (ϵ 9800); MS m/z 290 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.89 (t, J = 7.3 Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 1.26–1.35 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 2.11 (s, 3H, 5-Me), 4.03 (t, J = 7.8 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 7.16–7.38 (m, 5H, SPh), 8.43 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$: C, 62.04; H, 6.25; N, 9.65; S, 11.04. Found: C, 61.90; H, 6.33; N, 9.40; S, 10.89.

1-[(Alkyloxy)methyl]thymines (12a-f) の一般合成法

Thymine (**11**, 25 g, 0.2 mol) を *N,O*-bis(trimethylsilyl)acetamide (BSA, 109 mL, 0.44 mol) と CH_2Cl_2 (250 mL) の混合溶液に加え、得られた懸濁液を室温、2 時間攪拌した。得られた溶液に Bu_4NI (0.74 g, 2 mmol) と alkyl chloromethyl ether (0.24 mol) を加え、還流下 2 時間攪拌した。反応液を室温に冷却し、飽和 NaHCO_3 水 (100 mL) と氷 (50 mL) に加え 30 分間攪拌した。有機層を飽和 NaCl 水 (150 mL) で洗浄後、 MgSO_4 で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残査を適当な溶媒より再結晶し目的物を得た。

1-(Methoxymethyl)thymine (12a)

Chloromethyl methyl ether を用いた。

Yield 54%; mp 142–143 °C (EtOAc); UV (MeOH) λ_{max} 263 nm (ϵ 8600); MS m/z 170 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.95 (d, J = 1.1 Hz, 3H, 5-Me), 3.40 (s, 3H, OMe), 5.09 (s, 2H, NCH_2O), 7.13 (q, J = 1.1 Hz, 1H, 6-H), 8.62 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$: C, 49.41; H, 5.92; N, 16.64. Found: C, 49.62; H, 5.91; N, 16.45.

1-(Ethoxymethyl)thymine (12b)

Chloromethyl ethyl ether を用いた。

Yield 62%; mp 108–109 °C (isopropanol–Et₂O); UV (MeOH) λ_{max} 264 nm (ϵ 8600); MS m/z 184 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.22 (t, J = 7.0 Hz, 3H, OCH₂Me), 1.95 (d, J = 1.2 Hz, 3H, 5–Me), 3.60 (q, J = 7.0 Hz, 2H, OCH₂Me), 5.14 (s, 2H, NCH₂O), 7.15 (q, J = 1.2 Hz, 1H, 6–H), 8.89 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₈H₁₂N₂O₃: C, 52.17; H, 6.57; N, 15.21. Found: C, 52.13; H, 6.50; N, 15.30.

1-[(Propyloxy)methyl]thymine (12c)

Chloromethyl propyl ether を用いた。

Yield 63%; mp 141–142 °C (isopropanol); UV (MeOH) λ_{max} 264 nm (ϵ 8900); MS m/z 198 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.91 (t, J = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₂Me), 1.60 (m, 2H, OCH₂CH₂Me), 1.95 (d, J = 1.2 Hz, 3H, 5–Me), 3.49 (t, J = 6.7 Hz, 2H, OCH₂CH₂Me), 5.14 (s, 2H, NCH₂O), 7.16 (q, J = 1.2 Hz, 1H, 6–H), 8.93 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₉H₁₄N₂O₃: C, 54.53; H, 7.12; N, 14.13. Found: C, 54.51; H, 7.00; N, 14.17.

1-[(Butyloxy)methyl]thymine (12d)

Butyl chloromethyl ether を用いた。

Yield 49%; mp 128–129 °C (isopropanol); UV (MeOH) λ_{max} 264 nm (ϵ 8700); MS m/z 212 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.91 (t, J = 7.3 Hz, 3H, OCH₂CH₂CH₂Me), 1.35 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂Me), 1.56 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂Me), 1.95 (d, J = 1.2 Hz, 3H, 5–Me), 3.53 (t, J = 6.5 Hz, 2H, OCH₂CH₂CH₂Me), 5.14 (s, 2H, NCH₂O), 7.15 (q, J = 1.2 Hz, 1H, 6–H), 9.25 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₀H₁₆N₂O₃: C, 56.59; H, 7.60; N, 13.20. Found: C, 56.59; H, 7.45; N, 13.30.

1-[(2-Trimethylsilyl)ethoxy]methylthymine (12e)

Chloromethyl 1-[(2-trimethylsilyl)ethyl] ether を用いた。

Yield 87%; mp 136–137 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 264 nm (ϵ 8500); MS m/z 256 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.02 (s, 9H, SiMe₃), 0.94 (t, J = 8.3 Hz, 2H, SiCH₂CH₂O), 1.94 (d, J = 1.2 Hz, 3H, 5–Me), 3.61 (t, J = 8.3 Hz, 2H, SiCH₂CH₂O), 5.11 (s, 2H, NCH₂O), 7.14 (q, J = 1.2 Hz, 1H, 6–H), 8.67 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₁H₂₀N₂O₃Si: C, 51.53; H, 7.86; N, 10.93. Found: C, 51.53; H, 7.83; N, 10.84.

1-[(Benzyloxy)methyl]thymine (12f)

Benzyl chloromethyl ether を用いた。

Yield 86%; mp 133–134 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 264 nm (ϵ 8800); MS m/z 246 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.91 (d, J = 1.2 Hz, 3H, 5–Me), 4.64 (s, 2H, OCH₂Ph), 5.22 (s, 2H, NCH₂O), 7.11 (q, J = 1.2 Hz, 1H, 6–H), 7.27–7.34 (m, 5H, CH₂Ph), 8.82 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₃H₁₄N₂O₃: C, 63.40; H, 5.73; N, 11.38. Found: C, 63.04; H, 5.73; N, 11.40.

5-Alkyl-1-[(alkyloxy)methyl]-6-(phenylthio)thymines (13a-f) の一般合成法

12a-f (2 mmol) の THF (8 mL) 溶液を–70 °Cに冷却し、窒素気流下、0.5 M LDA–THF 溶液 (10 mL, 5 mmol) を反応液温が–70 °Cを越えないように滴下した。1 時間攪拌後、

diphenyl disulfide (873 mg, 4 mmol) の THF (5 mL) 溶液を反応液温が -70°C を越えないように滴下し、1 時間攪拌した。反応液に AcOH (0.25 mL) を加え反応を止め、反応液温を室温まで上昇させた。反応液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 -hexane; 8:2, v/v) で精製し目的物を得た。

1-(Methoxymethyl)-6-(phenylthio)thymine (13a)

Yield 73%; mp $148\text{--}150^{\circ}\text{C}$ (EtOAc); UV (MeOH) λ_{max} 274 nm (ϵ 7800), 244 nm (ϵ 9700); MS m/z 278 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.03 (s, 3H, 5-Me), 3.39 (s, 3H, OMe), 5.50 (s, 2H, NCH_2O), 7.10–7.38 (m, 5H, SPh), 8.42 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: C, 56.10; H, 5.07; N, 10.06; S, 11.52. Found: C, 56.06; H, 5.04; N, 10.06; S, 11.66.

1-(Ethoxymethyl)-6-(phenylthio)thymine (13b)

Yield 85%; mp 134°C (EtOH); UV (MeOH) λ_{max} 275 nm (ϵ 7900), 244 nm (ϵ 9700); MS m/z 292 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.14 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H, OCH_2Me), 2.03 (s, 3H, 5-Me), 3.59 (q, $J = 6.8$ Hz, 2H, OCH_2Me), 5.55 (s, 2H, NCH_2O), 7.10–7.38 (m, 5H, SPh), 8.42 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: C, 57.52; H, 5.52; N, 9.58; S, 10.97. Found: C, 57.44; H, 5.60; N, 9.55; S, 11.00.

1-[(Propyloxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (13c)

Yield 77%; mp $136\text{--}138^{\circ}\text{C}$ (EtOAc-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 275 nm (ϵ 7200), 244 nm (ϵ 9200); MS m/z 306 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.87 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 1.43–1.68 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 2.02 (s, 3H, 5-Me), 3.48 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 5.54 (s, 2H, NCH_2O), 7.13–7.40 (m, 5H, SPh), 8.22 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: C, 58.80; H, 5.92; N, 9.14; S, 10.46. Found: C, 59.07; H, 5.91; N, 8.89; S, 10.25.

1-[(Butyloxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (13d)

Yield 65%; mp $118\text{--}120^{\circ}\text{C}$ (EtOAc-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 272 nm (ϵ 7200), 242 nm (ϵ 11300); MS m/z 320 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 1.20–1.63 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 2.02 (s, 3H, 5-Me), 3.52 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 5.54 (s, 2H, NCH_2O), 7.18–7.48 (m, 5H, SPh), 8.32 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: C, 59.98; H, 6.29; N, 8.74; S, 10.01. Found: C, 60.09; H, 6.48; N, 8.55; S, 10.03.

6-(Phenylthio)-1-[(2-trimethylsilyl)ethoxy]methyl}thymine (13e)

Yield 57%; mp $87\text{--}89^{\circ}\text{C}$ (hexane); UV (MeOH) λ_{max} 275 nm (ϵ 7400), 244 nm (ϵ 9200); MS m/z 364 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ -0.07 (s, 9H, SiMe_3), 0.87 (t, $J = 8.2$ Hz, 2H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.03 (s, 3H, 5-Me), 3.60 (t, $J = 8.2$ Hz, 2H, $\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.53 (s, 2H, NCH_2O), 7.13–7.37 (m, 5H, SPh), 8.88 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3\text{SSi}$: C, 56.01; H, 6.64; N, 7.69; S, 8.79. Found: C, 55.76; H, 6.65; N, 7.67; S, 8.92.

1-[(Benzyloxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (13f)

Yield 58%; mp 157–161 °C (EtOH–H₂O); UV (MeOH) λ_{max} 273 nm (ϵ 8000), 244 nm (ϵ 10200); MS m/z 354 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.00 (s, 3H, 5-Me), 4.64 (s, 2H, OCH₂Ph), 5.63 (s, 2H, NCH₂O), 7.03–7.37 (m, 10H, SPh, OCH₂Ph), 8.87 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₉H₁₈N₂O₃S: C, 64.39; H, 5.12; N, 7.90; S, 9.05. Found: C, 64.19; H, 5.10; N, 7.84; S, 8.99.

2位置換体の合成

1-[(2-Acetoxyethoxy)methyl]-2-thiothymine (15a) および 1-[(2-acetoxyethoxy)-methyl]-2-thiouracil (15b) の一般合成法

2-Thiothymine (**14a**, 4.26 g, 30 mmol) あるいは 2-thiouracil (**14b**, 3.84 g, 30 mmol) を CH₂Cl₂ (75 mL) に懸濁し、BSA (17.8 mL, 72 mmol) を加え、室温、20分間攪拌すると溶液になった。この溶液を 0 °C に冷却し、(2-acetoxyethoxy)methyl acetate (7.2 g, 45 mmol) および SnCl₄ (4.5 mL, 45 mmol) を加え、室温まで温度を上げながら 14 時間攪拌後、反応を TLC で追跡すると 3 成分存在した。反応液を飽和 NaHCO₃ 水 (300 mL) に加え、中和後、CHCl₃ (3 x 100 mL) で抽出した。有機層を合わせ、飽和 NaHCO₃ 水 (3 x 100 mL) で洗浄し、有機層を MgSO₄ で乾燥後、濾過、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃–MeOH; 50:1, v/v) で分離、精製した。TLC で最大 R_f 値のスポットが目的物であり、最小 R_f 値のスポットは原料、それらの中間のスポットは不明物であった。

1-[(2-Acetoxyethoxy)methyl]-2-thiothymine (15a)

Yield 1.16 g (15%); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.00 (d, J = 1.3 Hz, 3H, 5-Me), 2.08 (s, 3H, MeCO), 3.88, 4.25 (A₂B₂, 4H, OCH₂CH₂O), 5.66, (s, 2H, NCH₂O), 7.31 (d, J = 1.3 Hz, 1H, 6-H), 9.65 (br, 1H, NH).

1-[(2-Acetoxyethoxy)methyl]-2-thiouracil (15b)

Yield 1.26 g (18%); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.09 (s, 3H, MeCO), 3.89, 4.25 (A₂B₂, 4H, OCH₂CH₂O), 5.68, (s, 2H, NCH₂O), 6.08 (d, J = 7.8 Hz, 1H, 5-H), 7.50 (d, J = 7.8 Hz, 1H, 6-H), 10.72 (br, 1H, NH).

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-2-thiothymine (16a) および 1-[(2-hydroxyethoxy)-methyl]-2-thiouracil (16b) の一般合成法

15a,b (3.13 mmol) の EtOH (5 mL) 溶液に 1N NaOH 水 (5 mL) を加え、室温、10 分間攪拌した。反応液を陽イオン交換樹脂 Dowex 50W-X8 (H⁺) で中和後、濾過し、減圧濃縮した。残査を EtOH で結晶化し目的物を得た。

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-2-thiothymine (16a)

Yield 89%; mp 138.5–140.5 °C (EtOH); UV (MeOH) λ_{max} 280 nm (ϵ 16000); ¹H NMR (Me₂SO-*d*₆) δ 1.82 (d, J = 1.0 Hz, 3H, 5-Me), 3.49 (m, 2H, HOCH₂CH₂O), 3.57 (t, J = 4.9 Hz, 2H, HOCH₂CH₂O), 4.68 (t, J = 5.3 Hz, 1H, OH), 5.55 (s, 2H, NCH₂O), 7.74 (q, J = 1.0 Hz, 1H, 6-H), 12.60 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₈H₁₂N₂O₃S: C, 44.43;

H, 5.59; N, 12.95; S, 14.83. Found: C, 44.47; H, 5.72; N, 12.87; S, 14.53.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-2-thiouracil (16b)

Yield 92%; mp 156 °C (EtOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 276 nm (ϵ 14000); ^1H NMR ($\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) δ 3.48 (m, 2H, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.57 (t, $J = 4.7$ Hz, 2H, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.69 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H, OH), 5.56 (s, 2H, NCH_2O), 5.97 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5-H), 7.82 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 12.64 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: C, 41.57; H, 4.98; N, 13.85; S, 15.85. Found: C, 41.42; H, 4.92; N, 13.88; S, 15.60.

**1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-2-thiothymine (17a) および
1-([(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-2-thiouracil (17b) の一般合成法**

16a,b (3 mmol) を DMF (10 mL) に溶かし、imidazole (245 mg, 3.6 mmol) および *tert*-butyldimethylsilyl chloride (543 mg, 3.6 mmol) を加え、室温、14時間攪拌した。反応液を水 (50 mL) に加え、析出する沈澱を濾取し、飽和 NaHCO_3 水 (3 x 50 mL) および水 (3 x 50 mL) で洗浄した。沈澱を減圧乾燥後、toluene-hexane より再結晶し目的物を得た。

1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-2-thiothymine (17a)

Yield 89%; mp 86–87 °C (toluene-hexane); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 280 nm (ϵ 16000); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.08 (s, 6H, Me_2Si), 0.90 (s, 9H, Me_3C), 1.98 (d, $J = 1.3$ Hz, 3H, 5-Me), 3.71, 3.78 (A_2B_2 , 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.65 (s, 2H, NCH_2O), 7.36 (q, $J = 1.3$ Hz, 1H, 6-H), 9.64 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3\text{SSi}$: C, 50.88; H, 7.93; N, 8.48; S, 9.70. Found: C, 50.73; H, 8.05; N, 8.56; S, 9.65.

1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-2-thiouracil (17b)

Yield 69%; mp 132.5–133.5 °C (toluene-hexane); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 276 nm (ϵ 14000); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.08 (s, 6H, Me_2Si), 0.90 (s, 9H, Me_3C), 3.71, 3.79 (A_2B_2 , 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.63 (s, 2H, NCH_2O), 6.01 (dd, $J = 7.9, 2.3$ Hz, 1H, 5-H), 7.55 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 9.42 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3\text{SSi}$: C, 49.34; H, 7.64; N, 8.85; S, 10.13. Found: C, 49.18; H, 7.88; N, 8.85; S, 9.83.

1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-6-(phenylthio)-2-thiothymine (18a)

13a-f の合成法に従い **17a** より **18a** を得た。

Yield 79%; mp 87.5–88.5 °C (EtOAc-hexane); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.05 (s, 6H, Me_2Si), 0.88 (s, 9H, Me_3C), 1.98 (s, 3H, 5-Me), 3.70–3.78 (m, 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.20 (s, 2H, NCH_2O), 7.18–7.36 (m, 5H, SPh), 9.38 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2\text{Si}$: C, 54.76; H, 6.89; N, 6.39; S, 14.62. Found: C, 55.01; H, 6.94; N, 6.53; S, 14.36.

1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-6-(phenylthio)-2-thiouracil (18b)

13a-f の合成法に従い **17b** より **18b** を得た。

Yield 61%; mp 116–117 °C (EtOAc–hexane); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.10 (s, 6H, Me_2Si), 0.93 (s, 9H, Me_3C), 3.80–3.92 (m, 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.24 (s, 1H, 5-H), 6.17 (s, 2H, NCH_2O), 7.49–7.60 (m, 5H, SPh), 9.52 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2\text{Si}$: C, 53.74; H, 6.65; N, 6.60; S, 15.10. Found: C, 53.52; H, 6.71; N, 6.62; S, 14.83.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-2-thiothymine (19a) および 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-2-thiouracil (19b) の一般合成法

18a,b (1 mmol) を AcOH–THF– H_2O (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌後、減圧濃縮し、残渣を toluene より再結晶した。

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)2-thiothymine (19a)

Yield 91%; mp 120 °C (toluene); UV (MeOH) λ_{max} 284 nm (ϵ 22000); MS m/z 324 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.88 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H, OH), 2.05 (s, 3H, 5-Me), 3.65–3.81 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.17 (s, 2H, NCH_2O), 7.19–7.39 (m, 5H, SPh), 9.69 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$: C, 51.83; H, 4.97; N, 8.64; S, 19.77. Found: C, 51.84; H, 5.06; N, 8.64; S, 19.89.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-2-thiouracil (19b)

Yield 74%; mp 150–151 °C (toluene); UV (MeOH) λ_{max} 284 nm (ϵ 24000); MS m/z 310 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.02 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H, OH), 3.78–3.95 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.25 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, 5-H), 6.17 (s, 2H, NCH_2O), 7.46–7.59 (m, 5H, SPh), 9.36 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$: C, 50.31; H, 4.55; N, 9.03; S, 20.66. Found: C, 50.39; H, 4.59; N, 9.05; S, 20.69.

3位置換体の合成

3-Alkyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymines (20a,b) の一般合成法

HEPT (617 mg, 2 mmol) の DMF (4 mL) 溶液に diisopropylethylamine (0.38 mL, 2.2 mmol) と MeI あるいは benzyl bromide (2.2 mmol) を加え、室温、16 時間攪拌した。反応液を減圧濃縮後、残渣を EtOAc (30 mL) に溶かした。溶液を 10% NH_4Cl 水 (3 x 10mL)、水 (3 x 10mL)、および 飽和 NaCl 水 (3 x 10mL) で洗浄後、EtOAc 層を MgSO_4 で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3) で精製後、EtOAc–hexane より結晶化し目的物を得た。

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-3-methyl-6-(phenylthio)thymine (20a)

Yield 47%; mp 74–75 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 275 nm (ϵ 7900), 243 nm (ϵ 11000); MS m/z 322 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.13 (s, 3H, 5-Me), 3.41 (s, 3H, N-Me), 3.65 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.63 (s, 2H, NCH_2O), 7.17–7.38 (m, 5H, SPh). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 55.89; H, 5.63; N, 8.69; S, 9.95. Found: C, 55.54; H, 5.50; N, 8.59; S, 9.91.

出発物質の HEPT を 42% 回収した。

3-Benzyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (20b)

20b は結晶化せず、syrup として得られた。

Yield 30%; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 275 nm (ϵ 7800), 243 nm (ϵ 11000); MS m/z 398 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.08 (s, 3H, 5-Me), 3.61 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.14 (s, 2H, NCH_2Ph), 5.59 (s, 2H, NCH_2O), 7.16–7.51 (m, 10H, Ph x 2). Anal. Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 63.30; H, 5.56; N, 7.03; S, 8.05. Found: C, 63.06; H, 5.50; N, 6.98; S, 8.15.

出発物質の HEPT を 36% 回収した。

4位置換体の合成

1-[(2-Benzoyloxy)ethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (21a) および 1-[(2-benzoyloxy)ethoxy)methyl]-6-(phenylthio)uracil (21b) の一般合成法

HEPT あるいは **5d** (0.4 mmol) の pyridine (2 mL) 溶液に benzoyl chloride (0.07 mL, 0.6 mmol) を加え、室温、2時間攪拌した。反応液を飽和 NaHCO_3 水 (10 mL) に加えた後、EtOAc (3 x 10 mL) で抽出した。有機層を飽和 NaHCO_3 水 (3 x 10 mL) および飽和 NaCl 水 (3 x 10 mL) で洗浄後、 MgSO_4 で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残渣に toluene (3 x 10 mL) を加え減圧濃縮後、toluene-hexane で結晶化し目的物を得た。

1-[(2-Benzoyloxy)ethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (21a)

Yield 99%; mp 136–136.5 °C (toluene-hexane); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.97 (s, 3H, 5-Me), 3.92 (t, $J = 4.7$ Hz, 2H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.39 (t, $J = 4.7$ Hz, 2H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.63 (s, 2H, NCH_2O), 7.15–7.29 (m, 5H, SPh), 7.43 [m, 2H, COPh(H-3,5)], 7.57 [tt, $J = 7.4, 1.4$ Hz, 1H, COPh(H-4)], 8.02 [dd, $J = 8.4, 1.4$ Hz, 2H, COPh(H-2,6)], 8.11 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$: C, 61.15; H, 4.89; N, 6.79; S, 7.77. Found: C, 61.15; H, 4.87; N, 6.77; S, 7.75.

1-[(2-Benzoyloxy)ethoxy)methyl]-6-(phenylthio)uracil (21b)

Yield 85%; mp 150–151 °C (toluene-hexane); ^1H NMR (CDCl_3) δ 4.02 (t, $J = 4.6$ Hz, 2H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.54 (t, $J = 4.6$ Hz, 2H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.96 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 5-H), 5.63 (s, 2H, NCH_2O), 7.40–7.58 [m, 8H, SPh, COPh(H-3,4,5)], 8.08 [dd, $J = 9.6, 1.5$ Hz, 2H, COPh(H-2,6)], 8.14 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$: C, 60.29; H, 4.55; N, 7.03; S, 8.05. Found: C, 60.31; H, 4.48; N, 7.02; S, 7.81.

1-[(2-Benzoyloxy)ethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-4-thiothymine (22a) および 1-[(2-benzoyloxy)ethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-4-thiouracil (22b) の一般合成法

21a,b (0.24 mmol) の toluene (1.5 mL) 溶液に Lawesson's reagent (49 mg, 0.12 mmol) を加え、100 °C、2時間攪拌した。反応液を室温まで冷却し、飽和 NaHCO_3 水 (10 mL) に加えた後、EtOAc (3 x 10 mL) で抽出した。有機層を飽和 NaHCO_3 水 (3 x 10 mL) および飽和 NaCl 水 (3 x 10 mL) で洗浄後、 MgSO_4 で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc-hexane; 4:6, v/v) で精製後、

EtOH で結晶化し目的物を得た。

1-[(2-Benzoyloxy)ethoxy]methyl]-6-(phenylthio)-4-thiothymine (22a)

Yield 69%; mp 110.5–111.5 °C (EtOH); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.20 (s, 3H, 5-Me), 3.96, 4.40 (A_2B_2 , 4H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.68 (s, 2H, NCH_2O), 7.15–7.28 (m, 5H, SPh), 7.42 [m, 2H, COPh(H-3,5)], 7.55 [tt, $J = 7.5, 1.4$ Hz, 1H, COPh(H-4)], 8.01 [dd, $J = 8.4, 1.4$ Hz, 2H, COPh(H-2,6)], 10.66 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$: C, 58.86; H, 4.70; N, 6.54; S, 14.96. Found: C, 58.78; H, 4.64; N, 6.46; S, 15.04.

1-[(2-Benzoyloxy)ethoxy]methyl]-6-(phenylthio)-4-thiouracil (22b)

Yield 78%; mp 157–158 °C (EtOH); ^1H NMR (CDCl_3) δ 4.02, 4.54 (A_2B_2 , 4H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.63 (s, 2H, NCH_2O), 5.72 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H, 5-H), 7.26–7.62 [m, 8H, SPh, COPh(H-3,4,5)], 8.07 [dd, $J = 8.4, 1.4$ Hz, 2H, COPh(H-2,6)], 9.02 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$: C, 57.96; H, 4.38; N, 6.76; S, 15.47. Found: C, 58.17; H, 4.34; N, 6.66; S, 15.32.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-4-thiothymine (23a) および 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-4-thiouracil (23b) の一般合成法

22a,b (0.17 mmol) を THF (1 mL) および EtOH (5 mL) に溶かし、1N NaOH 水 (0.5 mL) を加え、室温、1時間攪拌した。反応液を 2N HCl 水で中和後、減圧濃縮した。残渣に EtOAc (20 mL) と水 (20 mL) を加え分配し、有機層を飽和 NaHCO_3 水 (3 x 10 mL) および飽和 NaCl 水 (3 x 10 mL) で洗浄後、 MgSO_4 で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残渣を toluene で再結晶し目的物を得た。

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-4-thiothymine (23a)

Yield 55%; mp 126–128 °C (toluene); UV (MeOH) λ_{max} 356 nm (ϵ 16000), 246 nm (ϵ 11000); MS m/z 324 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.31 (s, 3H, 5-Me), 3.63–3.71 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.84 (s, 2H, NCH_2O), 7.19–7.38 (m, 5H, SPh), 10.26 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$: C, 51.83; H, 4.97; N, 8.64; S, 19.97. Found: C, 52.01; H, 5.03; N, 8.58; S, 19.57.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-4-thiouracil (23b)

Yield 68%; mp 164–165 °C (toluene); UV (MeOH) λ_{max} 352 nm (ϵ 23000), 274 nm (ϵ 7400); MS m/z 310 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.01 (br, 1H, OH), 3.80 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.61 (s, 2H, NCH_2O), 5.78 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, 5-H), 7.49–7.61 (m, 5H, SPh), 9.16 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$: C, 50.31; H, 4.55; N, 9.03; S, 20.66. Found: C, 50.46; H, 4.60; N, 9.05; S, 20.36.

4-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-6-(phenylthio)pyrimidin-2-ones (25a,b) の一般合成法

24a,b (2.37 mmol) の pyridine (12 mL) 溶液に 1-(mesitylene-2-sulfonyl)-3-nitro-1,2,4-triazole (MSNT) (727 mg, 2.45 mmol) と diphenyl phosphate (61.3 mg, 0.245 mmol) を加え、室温で攪拌した。反応時間後、水 (0.5 mL) を反応液に加え、30

分間放置した。溶液を減圧濃縮後、残渣に toluene (3 x 10 mL) を加え減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃-hexane; 7:3, v/v) で精製し、目的物を得た。

1-([[(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-4-(3-nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-5-methyl-6-(phenylthio)pyrimidin-2-one (25a)

24a を 7 日間反応し約 30% の **24a** が残存していたが、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製を行った。その結果 **24a** と **25a** (約 6:4) の混合物が得られた。**25a** はシリカゲル中で分解し **24a** に戻ると推定されたので、この混合物を次の反応に使用した。

1-([[(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-4-(3-nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-6-(phenylthio)pyrimidin-2-one (25b)

24b から **25b** の場合、室温、15 時間攪拌すると反応は完結した。

Yield 71%; mp 66–69 °C (hexane); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.09 (s, 6H, Me₂Si), 0.91 (s, 9H, Me₃C), 3.83 (s, 4H, SiOCH₂CH₂O), 5.85 (s, 2H, NCH₂O), 6.26 (s, 1H, 5-H), 7.60–7.74 (m, 5H, SPh), 9.22 (s, 1H, 5''-H). Anal. Calcd. for C₂₁H₂₈N₆O₅SSi: C, 49.98; H, 5.59; N, 16.65; S, 6.35. Found: C, 50.11; H, 5.67; N, 16.76; S, 6.18.

1-([[(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-6-(phenylthio)cytosines (26a,b) の一般合成法

25a,b (0.85 mmol) の dioxane (10 mL) 溶液に濃アンモニア水 (d=0.88, 4 mL) を加え、室温、6時間攪拌した。反応液を減圧濃縮後、残渣に toluene (3 x 10 mL) を加え減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃-MeOH; 98:2, v/v) で精製後、EtOAc で結晶化し目的物を得た。

1-([[(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-5-methyl-6-(phenylthio)- cytosine (26a)

Yield 26% (from **24a**); mp 142–145 °C (EtOAc); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.03 (s, 6H, Me₂Si), 0.86 (s, 9H, Me₃C), 2.01 (s, 3H, 5-Me), 3.68 (s, 4H, SiOCH₂CH₂O), 5.69 (s, 2H, NCH₂O), 7.13–7.33 (m, 5H, SPh). Anal. Calcd. for C₂₀H₃₁N₃O₃SSi: C, 56.97; H, 7.41; N, 9.97; S, 7.60. Found: C, 56.57; H, 7.54; N, 10.10; S, 7.30.

23a を 43% 回収した。

1-([[(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-6-(phenylthio)cytosine (26b)

Yield 57%; mp 242–244 °C (EtOAc); MS *m/z* 350 (M⁺-Bu-*t*); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.08 (s, 6H, Me₂Si), 0.91 (s, 9H, Me₃C), 3.75–3.81 (m, 4H, SiOCH₂CH₂O), 4.87 (s, 1H, 5-H), 5.67 (s, 2H, NCH₂O), 7.49–7.61 (m, 5H, SPh). Anal. Calcd. for C₁₉H₂₉N₃O₃SSi: C, 55.99; H, 7.17; N, 10.31; S, 7.87. Found: C, 55.69; H, 7.32; N, 10.27; S, 7.72.

2 種の副生物 (**28,29**) も単離された。

6-Amino-1-([[(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-4-(3-nitro-1,2,4-triazol-1-yl)pyrimidin-2-one (28)

Yield 21%; mp 244–245 °C (EtOAc); MS *m/z* 354 (M⁺-Bu-*t*); ¹H NMR (Me₂SO-*d*₆) δ

0.01 (s, 6H, Me₂Si), 0.83 (s, 9H, Me₃C), 3.60, 3.69 (A₂B₂, 4H, SiOCH₂CH₂O), 5.47 (s, 2H, NCH₂O), 6.24 (s, 1H, 5-H), 8.21 (br, 2H, NH₂), 9.51 (s, 1H, 5''-H). Anal. Calcd. for C₁₅H₂₅N₇O₅Si: C, 43.78; H, 6.12; N, 23.83. Found: C, 43.68; H, 6.20; N, 23.75.

1-1-([[(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl]-4,6-(diphenylthio)-pyrimidin-2-one (29)

Yield 20%; mp 57–59 °C (hexane); MS *m/z* 500 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.08 (s, 6H, Me₂Si), 0.90 (s, 9H, Me₃C), 3.77 (s, 4H, SiOCH₂CH₂O), 4.98 (s, 1H, 5-H), 5.67 (s, 2H, NCH₂O), 7.22–7.39 (m, 10H, SPh x 2).

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)cytosines (27a,b) の一般合成法

26a,b (1 mmol) を AcOH–THF–H₂O (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌後、減圧濃縮し、残渣を EtOH より再結晶した。

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-5-methyl-6-(phenylthio)cytosine (27a)

Yield 79%; mp 217 °C (EtOH); UV (MeOH) λ_{max} 302 nm (ε 7400), 244 nm (ε 13000); MS *m/z* 307 (M⁺); ¹H NMR (Me₂SO-*d*₆) δ 1.90 (s, 3H, 5-Me), 3.28–3.49 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 4.56 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H, OH), 5.45 (s, 2H, NCH₂O), 7.04, 7.56 (br x 2, 1H x 2, NH₂), 7.20–7.37 (m, 5H, SPh). Anal. Calcd. for C₁₄H₁₇N₃O₃S: C, 54.71; H, 5.58; N, 13.67; S, 10.43. Found: C, 54.75; H, 5.70; N, 13.64; S, 10.23.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)cytosine (27b)

Yield 86%; mp 202 °C (EtOH); UV (MeOH) λ_{max} 293 nm (ε 12000); MS *m/z* 293 (M⁺); ¹H NMR (Me₂SO-*d*₆) δ 3.45–3.55 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 4.65 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H, OH), 5.05 (s, 1H, 5-H), 5.43 (s, 2H, NCH₂O), 6.96–7.05 (br, 2H, NH₂), 7.51–7.66 (m, 5H, SPh). Anal. Calcd. for C₁₃H₁₅N₃O₃S: C, 53.23; H, 5.15; N, 14.33; S, 10.93. Found: C, 53.29; H, 5.24; N, 14.41; S, 10.73.

5位置換体の合成

5-Alkyl-1-([[(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl]-2-thiouracils (32a-c) の一般合成法

2-Thiouracils (**30a-c**, 10 mmol) を 1,1,1,3,3,3-hexamethyldisilazane (HMDS, 30 mL) に懸濁し、(NH₄)₂SO₄ (200 mg) を加え 15 時間還流した。得られた溶液を室温まで冷却し、減圧濃縮した。残渣のオイルを CH₂Cl₂ (50 mL) に溶かし、(2-acetoxyethoxy)methyl acetate (1.92 g, 12 mmol) と CsI (2.6 g, 10 mmol) を加え、2 時間攪拌下還流した。反応液を室温まで冷却し、水 (50 mL) と EtOAc (150 mL) を加え分配した。有機層を飽和 NaHCO₃ 水 (50 mL) および飽和 NaCl 水 (50 mL) で洗浄後、MgSO₄ で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残渣を MeOH (40 mL) に溶かし、1N NaOH 水 (40 mL) を加え、溶液を室温、3 時間攪拌した。反応液を 1N HCl 水で中和し、減圧濃縮し、残渣に DMF (3 x 30 mL) を加え減圧濃縮した。残渣を MeCN (40 mL) に溶かし、溶液に imidazole (1.4 g, 20 mmol) と *tert*-butyldimethylsilyl chloride (3.0 g, 20 mmol) を加

え、室温、14 時間攪拌した。反応液を飽和 NaHCO_3 水 (40 mL) に加えた後、EtOAc (150 mL) で抽出した。有機層を飽和 NaCl 水 (20 mL) で洗浄後、 MgSO_4 で乾燥し、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc-hexane; 15:85, v/v) で精製後、適当な溶媒で結晶化し目的物を得た。

1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-5-ethyl-2-thiouracil (32a)

Yield 40%; mp 70–73 °C (isopropanol); UV (MeOH) λ_{max} 281 nm (ϵ 17000); MS m/z 287 ($\text{M}^+ - \text{Bu} - t$); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.07 (s, 6H, Me_2Si), 0.90 (s, 9H, Me_3C), 1.16 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH_2Me), 2.41 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, CH_2Me), 3.68–3.84 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.66 (s, 2H, NCH_2O), 7.29 (s, 1H, 6-H), 9.22 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3\text{SSi}$: C, 52.29; H, 8.19; N, 8.13; S, 9.31. Found: C, 52.18; H, 8.42; N, 8.15; S, 9.25.

1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-5-propyl-2-thiouracil (32b)

Yield 32%; mp 43–46 °C (EtOAc-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 281 nm (ϵ 16000); MS m/z 301 ($\text{M}^+ - \text{Bu} - t$); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.08 (s, 6H, Me_2Si), 0.90 (s, 9H, Me_3C), 0.95 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 1.57 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 2.34 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 3.69–3.84 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.66 (s, 2H, NCH_2O), 7.30 (s, 1H, 6-H), 9.72 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3\text{SSi}$: C, 53.60; H, 8.43; N, 7.81; S, 8.94. Found: C, 53.55; H, 8.69; N, 7.80; S, 8.54.

1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-5-isopropyl-2-thiouracil (32c)

Yield 38%; mp 81–83 °C (EtOAc-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 281 nm (ϵ 15000); MS m/z 301 ($\text{M}^+ - \text{Bu} - t$); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.08 (s, 6H, Me_2Si), 0.90 (s, 9H, Me_3C), 1.18 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H, CHMe_2), 2.92 (m, 1H, CHMe_2), 3.69–3.83 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.67 (s, 2H, NCH_2O), 7.24 (s, 1H, 6-H), 9.49 (br, 1H, NH). Anal. $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3\text{SSi}$: C, 53.60; H, 8.43; N, 7.81; S, 8.94. Found: C, 53.74; H, 8.55; N, 7.64; S, 8.88.

5-Alkyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-2-thiouracils (33a-c) の一般合成法

32a-c (2 mmol) の THF (8 mL) 溶液を -70 °C に冷却し、窒素気流下、0.5 M LDA-THF 溶液 (10 mL, 5 mmol) を反応液温が -70 °C を越えないように滴下した。1 時間攪拌後、diphenyl disulfide (873 mg, 4 mmol) の THF (5 mL) 溶液を反応液温が -70 °C を越えないように滴下し、さらに 1 時間攪拌した。その後、反応液に濃塩酸を加え pH 1.2 にし、室温まで温度を上げ、2 時間攪拌した。反応液を水 (20 mL) に加え、EtOAc (30 mL) で抽出した。有機層を飽和 NaHCO_3 水 (20 mL) および飽和 NaCl 水 (20 mL) で洗浄後、 MgSO_4 で乾燥、濾過、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 -hexane; 8:2, v/v) で精製後、適当な溶媒で結晶化し目的物を得た。

5-Ethyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-2-thiouracil (33a)

Yield 63%; mp 71–75 °C (EtOAc-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 283 nm (ϵ 20000); MS m/z 338 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.99 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH_2Me), 1.82 (br, 1H, OH), 2.68 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH_2Me), 3.50–3.78 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.06 (s, 2H,

NCH₂O), 7.18–7.43 (m, 5H, SPh), 9.54 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₅H₁₈N₂O₃S₂·1/4H₂O: C, 52.54; H, 5.44; N, 8.17; S, 18.70. Found: C, 52.57; H, 5.25; N, 8.18; S, 18.87.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-5-propyl-2-thiouracil (33b)

Yield 44%; mp 112–116 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 283 nm (ϵ 20000); MS m/z 352 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.91 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH₂CH₂Me), 1.42 (m, 2H, CH₂CH₂Me), 1.83 (t, J = 6.0 Hz, 1H, OH), 2.62 (t, J = 8.0 Hz, 2H, CH₂CH₂Me), 3.54–3.73 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 6.05 (s, 2H, NCH₂O), 7.15–7.41 (m, 5H, SPh), 9.52 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₆H₂₀N₂O₃S₂: C, 54.52; H, 5.72; N, 7.95; S, 18.19. Found: C, 54.17; H, 5.68; N, 7.90; S, 18.46.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-5-isopropyl-6-(phenylthio)-2-thiouracil (33c)

Yield 61%; mp 145–147 °C (hexane); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 283 nm (ϵ 20000); MS m/z 352 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.15 (d, J = 6.9 Hz, 6H, CHMe₂), 1.94 (t, J = 5.9 Hz, 1H, OH), 3.57 (m, 1H, CHMe₂), 3.60–3.80 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 6.13 (s, 2H, NCH₂O), 7.18–7.44 (m, 5H, SPh), 9.68 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₆H₂₀N₂O₃S₂: C, 54.52; H, 5.72; N, 7.95; S, 18.19. Found: C, 54.35; H, 5.74; N, 7.88; S, 18.32.

5-Alkyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)uracils (34a-c) の一般合成法

33a-c (10 mmol) を 1N NaOH 水 (80 mL) に懸濁し、35% H₂O₂ (6 mL, 60 mmol) を加え、室温、1時間攪拌した。反応液を濃塩酸で中和し、析出する沈澱を濾取した。沈澱を飽和 NaHCO₃ 水 (3 x 50 mL) および水 (3 x 50 mL) で洗浄後、減圧下乾燥した。沈澱を EtOAc–hexane で再結晶し目的物を得た。

5-Ethyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)uracil (34a)

Yield 88%; mp 117–120 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 275 nm (ϵ 8500), 243 nm (ϵ 9700); MS m/z 322 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.02 (t, J = 7.4 Hz, 3H, CH₂Me), 2.69 (q, J = 7.4 Hz, 2H, CH₂Me), 3.51–3.63 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 5.51 (s, 2H, NCH₂O), 7.15–7.38 (m, 5H, SPh), 8.51 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₅H₁₈N₂O₄S·1/5H₂O: C, 55.27; H, 5.69; N, 8.59; S, 9.84. Found: C, 55.32; H, 5.52; N, 8.59; S, 9.63.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-5-propyluracil (34b)

Yield 84%; mp 118–119 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 276 nm (ϵ 9400), 243 nm (ϵ 11000); MS m/z 336 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.91 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH₂CH₂Me), 1.36–1.51 (m, 2H, CH₂CH₂Me), 1.79 (br, 1H, OH), 2.58–2.69 (m, 2H, CH₂CH₂Me), 3.61 (s, 4H, OCH₂CH₂O), 5.50 (s, 2H, NCH₂O), 7.20–7.43 (m, 5H, SPh), 8.24 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₆H₂₀N₂O₄S: C, 57.13; H, 5.99; N, 8.33; S, 9.53. Found: C, 56.80; H, 5.95; N, 8.25; S, 9.36.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-5-isopropyl-6-(phenylthio)uracil (34c)

Yield 65%; mp 85–87 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 274 nm (ϵ 8200), 245

nm (ϵ 9500); MS m/z 352 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.19 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H, CHMe_2), 1.62 (br, 1H, OH), 3.45–3.69 (m, 5H, CHMe_2 , $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.57 (s, 2H, NCH_2O), 7.18–7.40 (m, 5H, SPh), 8.37 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4\text{S} \cdot 1/7\text{H}_2\text{O}$: C, 56.69; H, 6.03; N, 8.26; S, 9.46. Found: C, 56.70; H, 5.93; N, 8.27; S, 9.53.

5-Substituted 1-({[(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy}methyl)-6-(phenylthio)- uracils (35a-f) の一般合成法

24b (817 mg, 2.0 mmol) を THF (10 mL) に溶かし、窒素気流下、反応液温が -70°C を越えないように LTMP (6.0 mmol) の THF (10 mL) 溶液を滴下した。反応液を -70°C 、1時間攪拌し、親電子剤 (4 mmol) の THF (10 mL) 溶液を、反応液温が -70°C を越えないように滴下した。反応液を -70°C 、1時間攪拌した後、AcOH (0.25 mL) を加え反応を止め、室温まで反応液温を上げ、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3) で精製し目的物を得た。

1-({[(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy}methyl)-5-iodo-6-(phenylthio)uracil (35a)

親電子剤として I_2 を用いた。

Yield 96%; ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.04 (s, 6H, Me_2Si), 0.87 (s, 9H, Me_3C), 3.66 (s, 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.68 (s, 2H, NCH_2O), 7.22–7.37 (m, 5H, SPh), 9.97 (br, 1H, NH).

1-({[(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy}methyl)-5,6-bis(phenylthio)uracil (35b)

親電子剤として diphenyl disulfide を用いた。

Yield 86%; ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.05 (s, 6H, Me_2Si), 0.89 (s, 9H, Me_3C), 3.70, (s, 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.66 (s, 2H, NCH_2O), 7.11–7.60 (m, 10H, SPh x 2), 8.91 (br, 1H, NH).

1-({[(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy}methyl)-5-isobutyryl-6-(phenylthio)- uracil (35c)

親電子剤として isobutyryl chloride を用いた。

Yield 55%; ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.04 (s, 6H, Me_2Si), 0.87 (s, 9H, Me_3C), 1.08 (d, $J = 7.0$ Hz, 6H, CHMe_2), 3.04 (m, 1H, CHMe_2), 3.58, (s, 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.40 (s, 2H, NCH_2O), 7.20–7.58 (m, 5H, SPh), 9.71 (br, 1H, NH).

5-Benzoyl-1-({[(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy}methyl)-6-(phenylthio)- uracil (35d)

親電子剤として benzoyl chloride を用いた。

Yield 38%; ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.03, 0.06 (s x 2, 3H x 2, Me_2Si), 0.84, 0.85, 0.88 (s x 3, 3H x 3, Me_3C), 3.65 (s, 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.55 (s, 2H, NCH_2O), 7.04–7.79 (m, 10H, Ph x 2), 9.71 (br, 1H, NH).

5-Benzyl-1-({[(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy}methyl)-6-(phenylthio)uracil (35e)

親電子剤として benzyl bromide を用いた。

Yield 9.2%; ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.01 (s, 6H, Me_2Si), 0.85 (s, 9H, Me_3C), 3.59 (s, 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.99 (s, 2H, CH_2Ph), 5.47 (s, 2H, NCH_2O), 7.01–7.30 (m, 10H, Ph x

2), 9.85 (br, 1H, NH).

1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-5-(1-hydroxy-2,2-diphenyl-ethyl)-6-(phenylthio)uracil (35f)

親電子剤として 2,2-diphenylacetaldehyde を用いた。

Yield 82%; ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.03 (s, 6H, Me_2Si), 0.87 (s, 9H, Me_3C), 3.26, 3.51 (A_2B_2 , 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.79 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H, CHPh), 5.20, 5.38 (ABq , $J = 13.0$ Hz, 2H, NCH_2O), 5.93 (t, $J = 11.2$ Hz, 1H, CHOH), 7.00–7.65 (m, 10H, $\text{Ph} \times 2$), 8.98 (br, 1H, NH).

5-Substituted 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)uracils (36a-e) の一般合成法

35a-e (1 mmol) を $\text{AcOH-THF-H}_2\text{O}$ (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌後、減圧濃縮し、残渣を適当な溶媒より再結晶した。

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-5-iodo-6-(phenylthio)uracil (36a)

Yield 52%; mp 180–182 °C (EtOAc-MeOH); UV (MeOH) λ_{max} 303 nm (ϵ 5500); MS m/z 420 (M^+); ^1H NMR ($\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) δ 3.31–3.53 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.49 (s, 2H, NCH_2O), 7.24–7.40 (m, 5H, SPh), 12.02 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{IN}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 37.16; H, 3.12; N, 6.67. Found: C, 37.29; H, 3.12; N, 6.63.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-5,6-(diphenylthio)uracil (36b)

Yield 75%; mp 146–148 °C (toluene); UV (MeOH) λ_{max} 247 nm (ϵ 15000); MS m/z 402 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.94 (br, 1H, OH), 3.68 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.65 (s, 2H, NCH_2O), 7.08–7.22 (m, 10H, $\text{SPh} \times 2$), 8.66 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$: C, 56.70; H, 4.51; N, 6.96. Found: C, 56.47; H, 4.52; N, 7.07.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-5-isobutyryl-6-(phenylthio)uracil (36c)

Yield 55%; mp 144–145 °C (EtOAc); UV (MeOH) λ_{max} 274 nm (ϵ 9000), 243 nm (ϵ 9900); MS m/z 364 (M^+); ^1H NMR ($\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) δ 0.99 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H, CHMe_2), 2.97 (m, 1H, CHMe_2), 3.25–3.51 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.57 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H, OH), 5.27 (s, 2H, NCH_2O), 7.28–7.40 (m, 5H, SPh), 11.98 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5\text{S} \cdot 1/4\text{H}_2\text{O}$: C, 55.41; H, 5.61; N, 7.60. Found: C, 55.50; H, 5.46; N, 7.59.

5-Benzoyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)uracil (36d)

Yield 44%; mp 150–151 °C (EtOAc); UV (MeOH) λ_{max} 253 nm (ϵ 15000); MS m/z 398 (M^+); ^1H NMR ($\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) δ 3.25–3.66 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.62 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H, OH), 5.37 (s, 2H, NCH_2O), 7.16–7.96 (m, 10H, $\text{Ph} \times 2$), 12.05 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{S} \cdot 1/4\text{H}_2\text{O}$: C, 59.62; H, 4.63; N, 6.95. Found: C, 59.39; H, 4.63; N, 7.23.

5-Benzyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)uracil (36e)

Yield 67%; mp 126–128 °C (diisopropyl ether); UV (MeOH) λ_{max} 278 nm (ϵ 9200), 243 nm (ϵ 11000); MS m/z 384 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.69 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, OH), 3.51–3.61 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.04 (s, 2H, CH_2Ph), 5.49 (s, 2H, NCH_2O),

7.11–7.33 (m, 10H, Ph x 2), 8.24 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $C_{20}H_{20}N_2O_4S \cdot 1/2H_2O$: C, 61.05; H, 5.38; N, 7.12. Found: C, 60.97; H, 5.12; N, 7.33.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-5-(2,2-diphenylvinyl)uracil (36f)

35f (600 mg 1.0 mmol) の pyridine (10 mL) 溶液を $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ に冷却し、 SOCl_2 (2 mL) を加えた。反応液温を室温に上げ、30 分間攪拌後、飽和 NaHCO_3 水 (30 mL) に加え、室温、14 時間攪拌した。反応液に CHCl_3 (50 mL) を加え分配し、有機層を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3) で精製し、標題化合物の TBS 保護体を含む分画を減圧濃縮した。残渣を $\text{AcOH-THF-H}_2\text{O}$ (25 mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌した。溶液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\text{CHCl}_3\text{-EtOAc}$) で精製後、diisopropyl ether で結晶化し **36f** を得た。

Yield 4.5%; mp $101\text{--}104\text{ }^{\circ}\text{C}$ (diisopropyl ether); UV (MeOH) λ_{max} 312 nm (ϵ 7500); MS m/z 472 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 3.41–3.60 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.53 (s, 2H, NCH_2O), 6.25 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CPh}_2$), 6.96–7.35 (m, 15H, Ph x 3), 9.13 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $C_{27}H_{24}N_2O_4S \cdot H_2O$: C, 66.18; H, 5.34; N, 5.72. Found: C, 65.96; H, 5.35; N, 5.75.

5-Substituted 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)uracils (36g-i) の一般合成法

24b (817 mg, 2.0 mmol) を THF (10 mL) に溶かし、窒素気流下、反応液温が $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ を越えないように LTMP (6.0 mmol) の THF (10 mL) 溶液を滴下した。反応液を $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、1 時間攪拌し、親電子剤 (4 mmol) の THF (10 mL) 溶液を、反応液温が $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ を越えないように滴下した。反応液を $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、1 時間攪拌した後、反応液に濃塩酸を加え pH 1.2 にし、室温まで温度を上げ、2 時間攪拌した。反応液を水 (20 mL) に加え、EtOAc (30 mL) で抽出した。有機層を飽和 NaHCO_3 水 (20 mL) および飽和 NaCl 水 (20 mL) で洗浄後、 MgSO_4 で乾燥、濾過、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$; 50:1, v/v) で精製し目的物を得た。

5-Allyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)uracil (36g)

親電子剤として allyl bromide を用いた。

Yield 5.9%; mp $93\text{--}94\text{ }^{\circ}\text{C}$ (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 276 nm (ϵ 8900), 242 nm (ϵ 9900); MS m/z 334 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.73–1.86 (m, 1H, OH), 3.44 (d, $J=6.0\text{ Hz}$, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.60 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.89–5.13 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.51 (s, 2H, NCH_2O), 5.65–5.86 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 7.14–7.43 (m, 5H, SPh), 8.37 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $C_{16}H_{18}N_2O_4S \cdot 1/4H_2O$: C, 56.71; H, 5.50; N, 8.27; S, 9.46. Found: C, 56.71; H, 5.38; N, 8.18; S, 9.55.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-5-(methoxycarbonyl)-6-(phenylthio)uracil (36h)

親電子剤として methoxycarbonyl chloride を用いた。

Yield 79%; mp $144\text{--}145\text{ }^{\circ}\text{C}$ (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 252 nm (ϵ 8900); MS m/z 352 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 3.62 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.64 (s, 3H, OMe), 5.58

(s, 2H, NCH₂O), 7.33–7.52 (m, 5H, SPh), 8.55 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₅H₁₆N₂O₆S: C, 51.13; H, 4.58; N, 7.95; S, 9.10. Found: C, 50.97; H, 4.48; N, 7.90; S, 8.81.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-5-(phenylcarbonyl)-6-(phenylthio)uracil (36i)

親電子剤として phenylisocyanate を用いた。

Yield 28%; mp 238–240 °C (decomp) (EtOH–H₂O); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 247 nm (ϵ 19000); MS m/z 339 (M⁺–74); ¹H NMR (Me₂SO-*d*₆) δ 3.24–3.50 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 4.63 (t, J = 5.5 Hz, 1H, OH), 5.23 (s, 2H, NCH₂O), 7.04–7.55 (m, 10H, Ph x 2), 10.30 (br, 1H, NHPh), 12.02 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₂₀H₁₉N₃O₅S·H₂O: C, 55.68; H, 4.91; N, 9.74; S, 7.43. Found: C, 55.51; H, 4.80; N, 9.73; S, 7.15.

5-Alkynyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)uracils (37a,b) の一般合成法

35a (534 mg, 1 mmol) に Et₃N (10 mL)、MeCN (3 mL)、bis(triphenylphosphine)palladium(II) dichloride (70.2 mg, 0.1 mmol)、および copper(I) iodide (19 mg, 0.1 mmol) を加えた。この混合液に propyne gas を吹き込みながら 60 °C、2時間、あるいは phenylacetylene (306 mg, 3 mmol) を加え、60 °C、1.5 時間攪拌した。反応液を室温まで冷やし、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc–hexane; 3:7 v/v) で精製後、AcOH–THF–H₂O (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌後、減圧濃縮し、残査を EtOAc より再結晶した。

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-5-(2-methylethynyl)-6-(phenylthio)uracil (37a)

Yield 20%; mp 165–166.5 °C (EtOAc); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 325 nm (ϵ 8000), 236 nm (ϵ 15000); IR (KBr) 2250cm⁻¹; MS m/z 332 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.86 (s, 3H, Me), 3.67 (s, 4H, OCH₂CH₂O), 5.66 (s, 2H, NCH₂O), 7.22–7.40 (m, 5H, SPh), 8.53 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₆H₁₆N₂O₄S·1/4H₂O: C, 57.05; H, 4.94; N, 8.32. Found: C, 56.78; H, 4.71; N, 8.30.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-5-(2-phenylethynyl)-6-(phenylthio)uracil (37b)

Yield 40%; mp 146–148 °C (EtOAc); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 345 nm (ϵ 12000), 270 nm (ϵ 18000), 234 nm (ϵ 19000); IR (KBr) 2200 cm⁻¹; MS m/z 394 (M⁺); ¹H NMR (Me₂SO-*d*₆) δ 3.38–3.61 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 4.63 (t, J = 5.6 Hz, 1H, OH), 5.55 (s, 2H, NCH₂O), 7.09–7.64 (m, 10H, Ph x 2), 11.95 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₂₁H₁₈N₂O₄S: C, 63.95; H, 4.60; N, 7.10. Found: C, 63.65; H, 4.54; N, 7.02.

1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-6-(phenylthio)-5-[(2-trimethylsilyl)ethynyl]uracil (38)

35a (534 mg, 1 mmol) に Et₃N (10 mL)、MeCN (3 mL)、bis(triphenylphosphine)palladium(II) dichloride (70.2 mg, 0.1 mmol)、および copper(I) iodide (19 mg, 0.1 mmol) を加えた。この混合液に (trimethylsilyl)acetylene (294 mg, 3 mmol) を加え、60 °C、1.5 時間攪拌した。反応液を室温まで冷やし、減圧濃縮した。残査をシリカゲル

カラムクロマトグラフィー (EtOAc-hexane; 3:7 v/v) で精製し **38** を得た。

Yield 49%; ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.06 (s, 6H, Me_2Si), 0.08 (s, 9H, Me_3Si), 0.89 (s, 9H, Me_3C), 3.65, 3.71 (A_2B_2 , 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.67 (s, 2H, NCH_2O), 7.22–7.35 (m, 5H, SPh), 8.75 (br, 1H, NH).

5-Ethynyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)uracil (39)

38 (380 mg, 0.73 mmol) を THF (3 mL) に溶かし、1M Bu_4NF -THF 溶液 (8 mL, 8 mmol) を加え室温、30 分間攪拌した。反応液に CHCl_3 (30 mL) と水 (30 mL) を加え分配し、有機層を水 (30 mL) で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 -MeOH; 9:1, v/v) で精製後、 CH_2Cl_2 -hexane で結晶化し **39** を得た。

Yield 126 mg (54%); mp 163–165 °C (CH_2Cl_2 -hexane); UV (MeOH) λ_{max} 299 nm (ϵ 7500), 232 nm (ϵ 14000); IR (KBr) 2125 cm^{-1} ; MS m/z 318 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.00 (br, 1H, OH), 3.31 (s, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 3.69 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.33 (s, 2H, NCH_2O), 7.28–7.39 (m, 5H, SPh), 8.90 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}\cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$: C, 55.04; H, 4.62; N, 8.56. Found: C, 55.16; H, 4.32; N, 8.59.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-5-[2-(Z)-phenylvinyl]uracil (40a)

37a (134 mg, 0.34 mmol)、Pd-BaSO₄ (10%, 11 mg)、EtOH (5 mL)、および AcOH (1 mL) の混合液を 1 気圧の水素雰囲気下、1 当量の水素 (7.6 mL) が消費されるまで (約 2 分間) 室温で攪拌した。濾過により触媒を除き、触媒を EtOH (2 x 5 mL) で洗浄し、濾液を合わせ、減圧濃縮した。残渣に toluene (20 mL) を加え、減圧濃縮後、EtOAc-hexane で再結晶し **40a** を得た。

Yield 24%; mp 112–113 °C (EtOAc-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 317 nm (ϵ 8540); MS m/z 396 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 3.63 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.58 (s, 2H, NCH_2O), 6.01 (d, J = 11.9 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHPh}$), 6.61 (d, J = 11.9 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHPh}$), 7.08–7.29 (m, 10H, Ph x 2), 8.39 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 63.62; H, 5.09; N, 7.07. Found: C, 63.61; H, 5.09; N, 6.99.

1-[(2-Acetoxyethoxy)methyl]-5-vinyluracil

5-Vinyluracil (670 mg, 4.85 mmol) を CH_2Cl_2 (10 mL) に懸濁し、BSA (2.64 mL, 10.7 mmol) を加え、室温、2時間攪拌した。得られた溶液に (2-acetoxyethoxy)methyl acetate (0.82 g, 5.5 mmol) と SnCl_4 (0.56 mL, 5 mmol) を氷冷下に加え、室温に戻しながら 14 時間攪拌した。反応液を飽和 NaHCO_3 水 (100 mL) に加え中和後、 CHCl_3 (100 mL) で抽出し、有機層を MgSO_4 で乾燥後、濾過、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 -MeOH; 25:1, v/v) で精製し表題化合物 (960 mg, 78%) を得た。この化合物は同定せず次の反応に用いた。

1-([(2-tert-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-5-vinyluracil

1-[(2-Acetoxyethoxy)methyl]-5-vinyluracil (960 mg, 3.78 mmol) を MeOH (20 mL) に溶かし、濃アンモニア水 (20 mL) を加え、室温、14 時間攪拌した。溶液を減圧濃縮し、得られた残査に DMF (40 mL) を加え減圧濃縮した。残査を DMF (40 mL) に溶かし imidazole (340 mg, 5 mmol) と *tert*-butyldimethylsilyl chloride (750 mg, 5 mmol) を加え、室温、14 時間攪拌した。溶液を減圧濃縮し、残査を CHCl₃ (50 mL) に溶かし、溶液を飽和 NaHCO₃ 水 (50 mL) で洗浄後、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃-MeOH; 50:1, v/v) で精製後、petroleum ether で結晶化し表題化合物を得た。

Yield 387 mg (24%); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.06 (s, 6H, Me₂Si), 0.89 (s, 9H, Me₃C), 3.66, 3.77 (A₂B₂, 4H, SiOCH₂CH₂O), 5.25 (s, 2H, NCH₂O), 5.27 [dd, *J* = 10.9, 1.1 Hz, 1H, CH=CH(*Z*)H(*E*)], 5.98 [dd, *J* = 17.6, 1.1 Hz, 1H, CH=CH(*Z*)H(*E*)], 6.42 (dd, *J* = 17.6, 10.9 Hz, 1H, CH=CH₂), 7.41 (s, 1H, 6-H), 9.59 (br, 1H, NH).

1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-6-(phenylthio)-5-vinyluracil

1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-5-vinyluracil (325 mg, 1 mmol) の THF (4 mL) 溶液を -70 °C に冷却し、窒素気流下、0.5 M LDA-THF 溶液 (5 mL, 2.5 mmol) を反応液温が -70 °C を越えないように滴下した。1 時間攪拌後、diphenyl disulfide (437 mg, 2 mmol) の THF (5 mL) 溶液を反応液温が -70 °C を越えないように滴下し、1 時間攪拌した。反応液に AcOH (0.13 mL) を加え反応を止め、反応液温を室温まで上昇させた。反応液を減圧濃縮し、残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃-hexane; 8:2, v/v) で精製し表題化合物を得た。

Yield 200mg (46%); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.01 (s, 6H, Me₂Si), 0.84 (s, 9H, Me₃C), 3.63 (s, 4H, SiOCH₂CH₂O), 5.33 [dd, *J* = 11.8, 2.0 Hz, 1H, CH=CH(*Z*)H(*E*)], 5.61 (s, 2H, NCH₂O), 6.33 [dd, *J* = 16.8, 2.0 Hz, 1H, CH=CH(*Z*)H(*E*)], 6.71 (dd, *J* = 16.8, 11.8 Hz, 1H, CH=CH₂), 7.15–7.30 (m, 5H, SPh), 10.15 (br, 1H, NH).

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-5-vinyluracil (40c)

1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-6-(phenylthio)-5-vinyluracil (200 mg, 0.46 mmol) を AcOH-THF-H₂O (7 mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌後、減圧濃縮し、残査を EtOAc-petroleum ether より再結晶し **40c** を得た。

Yield 60 mg (41%); mp 100–103 °C (EtOAc-petroleum ether); UV (MeOH) λ_{max} 306 nm (ε 7600), 243 nm (ε 14000); MS *m/z* 320 (M⁺); ¹H NMR (Me₂SO-*d*₆) δ 3.35–3.52 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 4.62 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H, OH), 5.22 [dd, *J* = 11.3, 2.2 Hz, 1H, CH=CH(*Z*)H(*E*)], 5.48 (s, 2H, NCH₂O), 6.21 [dd, *J* = 16.4, 2.2 Hz, 1H, CH=CH(*Z*)H(*E*)], 6.63 (dd, *J* = 16.4, 11.3 Hz, 1H, CH=CH₂), 7.23–7.40 (m, 5H, SPh), 11.75 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₅H₁₆N₂O₄S·1/2H₂O: C, 54.76; H, 5.21; N, 8.52. Found: C, 54.66; H, 4.94; N, 8.45.

6位置換体の合成

6-(Alkylthio)-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymines (41a-d)の一般合成法

10 (629 mg, 2 mmol) の THF (8 mL) 溶液を -70°C に冷却し、窒素気流下、0.5 M LDA-THF 溶液 (10 mL, 5 mmol) を反応液温が -70°C を越えないように滴下した。1 時間攪拌後、親電子剤 (4 mmol) の THF (5 mL) 溶液を反応液温が -70°C を越えないように滴下し、さらに1 時間攪拌した。その後、反応液に濃塩酸を加え pH 1.2 にし、室温まで温度を上げ、2 時間攪拌した。反応液を水 (20 mL) に加え、EtOAc (30 mL) で抽出した。有機層を飽和 NaHCO_3 水 (20 mL) および飽和 NaCl 水 (20 mL) で洗浄後、 MgSO_4 で乾燥、濾過、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 -hexane; 8:2, v/v) で精製後、適当な溶媒で結晶化し目的物を得た。

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(methylthio)thymine (41a)

親電子剤として dimethyl disulfide を用いた。

Yield 50%; mp $145\text{--}147^{\circ}\text{C}$ (EtOAc-EtOH); UV (MeOH) λ_{max} 276 nm (ϵ 8200); MS m/z 246 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.23 (s, 3H, 5-Me), 2.45 (s, 3H, SMe), 3.75 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.68 (s, 2H, NCH_2O), 8.75 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}\cdot 1/10\text{H}_2\text{O}$: C, 43.57; H, 5.77; N, 11.29. Found: C, 43.56; H, 5.77; N, 11.27.

6-(Ethylthio)-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (41b)

親電子剤として diethyl disulfide を用いた。

Yield 47%; mp $111.5\text{--}112.5^{\circ}\text{C}$ (EtOH- H_2O); UV (MeOH) λ_{max} 276 nm (ϵ 7500); MS m/z 260 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.31 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, SCH_2Me), 2.22 (s, 3H, 5-Me), 2.94 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, SCH_2Me), 3.74 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.68 (s, 2H, NCH_2O), 8.47 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 46.14; H, 6.20; N, 10.76. Found: C, 46.44; H, 6.34; N, 10.53.

6-(Butylthio)-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (41c)

親電子剤として dibutyl disulfide を用いた。

Yield 39%; mp $100\text{--}101^{\circ}\text{C}$ (EtOH- H_2O); UV (MeOH) λ_{max} 277 nm (ϵ 7700); MS m/z 288 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.18 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 1.68 (m, 2H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 1.86 (m, 2H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 2.35 (br, 1H, OH), 2.48 (s, 3H, 5-Me), 3.15 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Me}$), 3.99 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.93 (s, 2H, NCH_2O), 8.61 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 49.98; H, 6.99; N, 9.72. Found: C, 50.22; H, 7.07; N, 9.70.

6-(Cyclohexylthio)-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (41d)

親電子剤として dicyclohexyl disulfide を用いた。

Yield 79%; mp $125.5\text{--}127^{\circ}\text{C}$ (EtOAc); UV (MeOH) λ_{max} 278 nm (ϵ 8100); MS m/z 314 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.25–1.96 (m, 10H, cyclohexyl), 2.21 (s, 3H, 5-Me), 3.20 (m, 1H, SCH), 3.73 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.70 (s, 2H, NCH_2O), 8.21 (br, 1H, NH). Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 53.48; H, 7.05; N, 8.91. Found: C, 53.22; H, 7.21;

N, 8.65.

6-(*tert*-Butylthio)-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (41e)

1,1-Dimethylethanethiol (2.3 mL, 20 mmol) の DMF (10 mL) および THF (15 mL) 溶液に NaH (60% in oil, 0.8 g, 20 mmol) を加え 90 °C、30 分間攪拌し、得られた懸濁液に HEPT (617 mg, 2 mmol) を加えさらに 30 分間攪拌した。反応液を室温に戻し AcOH を加え中和し、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃-MeOH; 50:1, v/v) および ODS シリカゲル HPLC (MeCN-H₂O; 7:3, v/v) により精製し、toluene で結晶化し **41e** を得た。

Yield 236 mg (41%); mp 114–115 °C (toluene); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 280 nm (ϵ 8800); MS m/z 231 (M^+ -Bu-*t*); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.41 (s, 9H, CMe₃), 2.19 (br, 1H, OH), 2.27 (s, 3H, 5-Me), 3.68–3.70 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 5.74 (s, 2H, NCH₂O), 8.40 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₂H₂₀N₂O₄S: C, 49.98; H, 6.99; N, 9.72. Found: C, 50.06; H, 7.06; N, 9.82.

6-(Benzylthio)-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (41f)

41e の場合と同様に、benzyl mercaptane (2.3 mL, 20 mmol) と HEPT (617 mg, 2 mmol) を反応させ **41f** を得た。

Yield 471 mg (73%); mp 154.5–156 °C (EtOAc); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 279 nm (ϵ 7600); MS m/z 322 (M^+); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.02 (s, 3H, 5-Me), 3.70–3.83 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 4.08 (s, 2H, SCH₂Ph), 5.51 (s, 2H, NCH₂O), 7.15–7.40 (m, 5H, Ph), 8.31 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₅H₁₈N₂O₄S: C, 55.89; H, 5.63; N, 8.69; S, 9.95. Found: C, 56.10; H, 5.71; N, 8.30; S, 9.68.

1-([[(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl]-6-(phenylsulphinyl)thymine (42)

24a (15 g, 35.5 mmol) を CHCl₃ (200 mL) に溶かし、70% 3-chloroperbenzoic acid (12.5 g, 50 mmol) を加え、室温、2時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し、残査を ODS シリカゲルカラムクロマトグラフィー (MeOH-H₂O; 9:1, v/v) で精製後、EtOH-H₂O で結晶化し **42** を得た。

Yield 14.2 g (91%); mp 107–108 °C (EtOH-H₂O); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 282 nm (ϵ 8100); MS m/z 381 (M^+ -Bu-*t*); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.02 (s, 6H, Me₂Si), 0.86 (s, 9H, Me₃C), 2.10 (s, 3H, 5-Me), 3.56 (s, 4H, SiOCH₂CH₂O), 5.52, 5.79 (ABq, J = 10.3 Hz, 2H, NCH₂O), 7.52–7.67 (m, 5H, SPh), 8.30 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₂₀H₃₀N₂O₅SSi: C, 54.77; H, 6.89; N, 6.39. Found: C, 54.61; H, 6.94; N, 6.44.

1-[(Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylsulphinyl)thymine (43)

42 (1 mmol) を AcOH-THF-H₂O (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌

後、減圧濃縮し、残査を toluene-EtOH より再結晶した。

Yield 88%; mp 130 °C (toluene-EtOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 282 nm (ϵ 8100); MS m/z 323 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.22 (s, 3H, 5-Me), 3.51 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.48, 5.71 (ABq, $J = 10.3$ Hz, 2H, NCH_2O), 7.55–7.69 (m, 5H, SPh), 8.83 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$: C, 51.84; H, 4.97; N, 8.64. Found: C, 51.67; H, 4.92; N, 8.59.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-oxythymines (44a-c) の一般合成法

Alcohol あるいは phenol (10 mmol) のナトリウム塩の THF (10 mL) 懸濁液に **42** (439 mg, 1 mmol) を加え、室温、1.5 時間攪拌した。得られた溶液に飽和 NH_4Cl 水 (20 mL) を加え、EtOAc (50 mL) で抽出し、有機層を減圧濃縮した。残査を ODS シリカゲルカラムクロマトグラフィー (MeOH- H_2O ; 8:2, v/v) で精製し、標題化合物の TBS 保護体を含む分画を減圧濃縮した。残査を AcOH-THF- H_2O (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌後、減圧濃縮し、残査を toluene で再結晶した。

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-methoxythymine (44a)

Yield 55%; mp 168 °C (toluene); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 263 nm (ϵ 9900); MS m/z 230 (M^+); ^1H NMR ($\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) δ 1.76 (s, 3H, 5-Me), 3.45–3.53 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.92 (s, 3H, OMe), 4.63 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H, OH), 5.15 (s, 2H, NCH_2O), 11.31 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 46.96; H, 6.13; N, 12.17. Found: C, 46.67; H, 6.35; N, 12.10.

6-(Cyclohexyloxy)-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (44b)

Yield 53%; mp 143–144 °C (toluene); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 265 nm (ϵ 11000); MS m/z 298 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.21–2.16 (m, 10H, cyclohexyl), 1.92 (s, 3H, 5-Me), 3.71–3.79 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.35 (m, 1H, OCH), 5.35 (s, 2H, NCH_2O), 8.10 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 56.36; H, 7.43; N, 9.39. Found: C, 56.00; H, 7.26; N, 9.35.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenoxy)thymine (44c)

Yield 64%; mp 112 °C (toluene); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 265 nm (ϵ 10000); MS m/z 292 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.69 (s, 3H, 5-Me), 3.58–3.69 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.33 (s, 2H, NCH_2O), 6.99 [dd, $J = 8.1, 1.0$ Hz, 2H, OPh(H-2,6)], 7.17 [tt, $J = 8.1, 1.0$ Hz, 1H, OPh(H-4)], 7.39 [t, $J = 8.1$ Hz, 2H, OPh(H-3,5)], 8.03 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 57.53; H, 5.52; N, 9.58. Found: C, 57.75; H, 5.60; N, 9.59.

6-(Cyclohexylamino)-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (44d)

Cyclohexylamine (1.1 mL, 8 mmol) の dioxane (10 mL) 溶液に **42** (175 mg, 0.4 mmol) を加え、48 時間還流した。反応液を減圧濃縮後、残査に 10% クエン酸水 (30 mL) と EtOAc (30 mL) を加え分配し、EtOAc 層を 10% クエン酸水 (2 x 10 mL)、飽和 NaHCO_3 水 (2 x 10 mL)、および飽和 NaCl 水 (2 x 10 mL) で洗浄し、減圧濃縮した。

残渣を ODS シリカゲルカラムクロマトグラフィー (MeOH-H₂O; 8:2, v/v) で精製し、標題化合物の TBS 保護体を含む分画を減圧濃縮した。残渣を AcOH-THF-H₂O (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌後、減圧濃縮し、残渣を toluene より再結晶し **44d** を得た。

Yield 102 mg (86%); mp 139–140 °C (toluene); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 286 nm (ϵ 18000); MS m/z 297 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.15–2.00 (m, 10H, cyclohexyl), 1.92 (s, 3H, 5-Me), 3.44 (m, 1H, NHCH) 3.74–3.82 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 4.76 (d, J = 9.0 Hz, 1H, NHCH), 5.44 (s, 2H, NCH₂O), 7.89 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₄H₂₃N₃O₄·1/4H₂O: C, 55.71; H, 7.85; N, 13.92. Found: C, 55.63; H, 7.84; N, 13.98.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylamino)thymine (**44e**)

Butyllithium (6 mmol) の hexanes 溶液を -70 °C に冷却し、窒素気流下、攪拌しながら aniline (0.55 mL, 6 mmol) の THF (7.5 mL) 溶液を滴下し、15 分間攪拌した。得られた懸濁液に **42** (263 mg, 0.6 mmol) の THF (7.5 mL) 溶液を -70 °C を保ちながら滴下し、その後、反応液温を -60 °C まで上昇させ、15 分間攪拌した。反応液を 10% クエン酸水 (30 mL) に加え、その後 **44d** の場合と同じ後処理、精製、および AcOH 処理を行い、反応液を濃縮後、残渣を toluene より再結晶し **44e** を得た。

Yield 145 mg (83%); mp 178.5 °C (toluene); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 304 nm (ϵ 14000); MS m/z 291 (M⁺); ¹H NMR (Me₂SO-*d*₆) δ 1.50 (s, 3H, 5-Me), 3.39–3.49 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 4.74 (br, 1H, OH), 5.19 (s, 2H, NCH₂O), 6.77 [dd, J = 7.9, 1.2 Hz, 2H, Ph(H-2,6)], 6.84 [tt, J = 7.9, 1.2 Hz, 1H, Ph(H-4)], 7.22 [t, J = 7.9 Hz, 2H, Ph(H-3,5)], 7.98 (br, 1H, NHPh), 11.29 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₄H₁₇N₃O₄·1/4H₂O: C, 56.85; H, 5.96; N, 14.21. Found: C, 56.83; H, 5.83; N, 14.02.

6-Chloro-1-([(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)thymine (**45**)

10 (629 mg, 2 mmol) の THF (8 mL) 溶液を -70 °C に冷却し、窒素気流下、0.5 M LDA-THF 溶液 (10 mL, 5 mmol) を反応液温が -70 °C を越えないように滴下した。1 時間攪拌後、*p*-toluenesulfonyl chloride (763 mg, 4 mmol) の THF (5 mL) 溶液を反応液温が -70 °C を越えないように滴下し、1 時間攪拌した。反応液に AcOH (0.25 mL) を加え反応を止め、反応液温を室温まで上昇させた。反応液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃-hexane; 8:2, v/v) で精製し **45** を得た。また、出発物質 (**10**) を 280 mg (44%) 回収した。

Yield 356 mg (51%); MS m/z 348, 350 (M⁺, 3:1; intensity); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.06 (s, 6H, Me₂Si), 0.89 (s, 9H, Me₃C), 2.06 (s, 3H, 5-Me), 3.70, 3.77 (A₂B₂, 4H, SiOCH₂CH₂O), 5.54 (s, 2H, NCH₂O), 8.24 (br, 1H, NH).

6-Chloro-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (47)

45 (1 mmol) を AcOH-THF-H₂O (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌後、減圧濃縮し、残査を toluene-EtOH より再結晶した。

Yield 84%; mp 127–128 °C (toluene-EtOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 267 nm (ϵ 9800); MS m/z 234 and 236 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.95 (br, 1H, OH), 2.07 (s, 3H, 5-Me), 3.71–3.80 (s, 4 H, OCH₂CH₂O), 5.55 (s, 2 H, NCH₂O), 8.37 (br, 1 H, NH). Anal. Calcd. for C₈H₁₁ClN₂O₄: C, 40.95; H, 4.73; N, 11.94. Found: C, 41.20; H, 4.76; N, 11.97.

Benzyl bromide を用いた 6-benzyl-1-([[(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy]-methyl)thymine (48) 合成の試み

10 (629 mg, 2 mmol) の THF (8 mL) 溶液を -70 °C に冷却し、窒素気流下、0.5 M LDA-THF 溶液 (10 mL, 5 mmol) を反応液温が -70 °C を越えないように滴下した。1 時間攪拌後、benzyl bromide (684 mg, 4 mmol) の THF (5 mL) 溶液を反応液温が -70 °C を越えないように滴下し、1 時間攪拌した。反応液に AcOH (0.25 mL) を加え反応を止め、反応液温を室温まで上昇させた。反応液を減圧濃縮し、残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃-hexane; 8:2, v/v) で精製した。その結果構造不明物 (62 mg) を得、**10** (490 mg, 78%) を回収した。

構造不明物を AcOH-THF-H₂O (15mL; 2:2:1, v/v/v) で室温、14 時間処理し、TBS 基を除去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し構造決定を行った。

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 222 nm, (MeOH-1N NaOH 水; 1:1, v/v) $\lambda_{\max}$ 222 nm; MS m/z 290 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.13 (s, 3H, 5-Me), 1.87 (t, J = 5.1 Hz, 1H, OH), 2.63 (d, J = 4.6 Hz, 1H, CHCHPh), 3.39 (d, J = 4.6 Hz, 1H, CHCHPh), 3.71 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 5.19, 5.29 (ABq, J = 10.6 Hz, 2H, NCH₂O), 7.25–7.32 (m, 5H, Ph); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 13.03 (s), 27.89 (q), 35.37 (t), 43.38 (t), 61.67 (d), 70.17 (d), 76.90 (d), 127.87 (t), 128.79 (t), 129.01 (t), 132.62 (q), 151.06 (q), 171.49 (q). これらのデータと C-H 相関および long range C-H 相関により、2,4-diaza-2-[(2-hydroxyethoxy)-methyl]-6-methyl-7-phenylbicyclo[4.1.0]heptane-3,5-dione と決定した。従って、上記構造不明物は cyclopropane 付加体 (**49**, yield 7.7%) であった。

6-Benzoyl-1-([[(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl]thymine (50)

10 (629 mg, 2 mmol) の THF (8 mL) 溶液を -70 °C に冷却し、窒素気流下、0.5 M LDA-THF 溶液 (10 mL, 5 mmol) を反応液温が -70 °C を越えないように滴下した。1 時間攪拌後、benzoyl chloride (562 mg, 4 mmol) の THF (5 mL) 溶液を反応液温が -70 °C を越えないように滴下し、1 時間攪拌した。反応液に AcOH (0.25 mL) を加え反応を止め、反応液温を室温まで上昇させた。反応液を減圧濃縮し、残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃-hexane; 8:2, v/v) で精製し **50** を得た。

Yield 695 mg (83%): ^1H NMR (CDCl_3) δ -0.71 (s, 6H, Me_2Si), 0.81 (s, 9H, Me_3C), 2.06 (s, 3H, 5-Me), 3.28–3.47 (s, 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.99, 5.50 (br x 2, 1H x 2, NCH_2O), 7.54 [t, J = 8.0 Hz, 2H, COPh(H-3,5)], 7.69 [tt, J = 8.0, 1.5 Hz, 1H, COPh(H-4)], 7.94 [dd, J = 8.0, 1.5 Hz, 2H, COPh(H-2,6)], 8.53 (br, 1H, NH).

1-([[(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl]-6-(1-hydroxy-1-phenyl-methyl)thymine (51)

50 (300 mg, 0.72 mmol) の EtOH (10 mL) 溶液に NaBH_4 (200 mg, 5.3 mmol) を加え、室温、14 時間攪拌した。反応液に dry ice (10 g) を加え 20 分間攪拌後、減圧濃縮し、残査を EtOAc (50 mL) に溶かした。溶液を飽和 NaCl 水 (2 x 50 mL) で洗浄後、EtOAc 層を MgSO_4 で乾燥、濾過、濃縮し 300 mg (quant.) の **51** を syrup として得た。この化合物は同定せず次の反応に用いた。

6-(1-Acetoxy-1-phenylmethyl)-1-([[(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)-methyl)thymine (52)

51 (300 mg, 0.72 mmol)、pyridine (10 mL)、および Ac_2O (0.2 mL, 2.2 mmol) の混合溶液を室温、16 時間攪拌した。反応液に MeOH (10 mL) を加えさらに室温、14 時間攪拌し、減圧濃縮した。残査を EtOAc (20 mL) に溶かし、飽和 NaHCO_3 水 (2 x 15 mL) および飽和 NaCl 水で洗浄し、EtOAc 層を MgSO_4 で乾燥、濾過、減圧濃縮し **52** を得た。

Yield 303 mg (92%); ^1H NMR (CDCl_3) δ -0.02 (s, 6H, Me_2Si), 0.83 (s, 9H, Me_3C), 1.93 (s, 3H, 5-Me), 2.24 (s, 3H, MeCO), 3.55–3.64 (m, 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.45, 5.51 (ABq, J = 13.2 Hz, 2H, NCH_2O), 7.01 (s, 1H, AcOCH), 7.28–7.40 (m, 5H, Ph), 8.26 (br, 1H, NH).

6-Benzyl-1-([[(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)thymine (48)

52 (151 mg, 0.33 mmol) の EtOH (10 mL) 溶液に Pd-C (10%, 20 mg) を加え、1 気圧の水素雰囲気下、55 °C、6 時間攪拌した。触媒を濾過により除き、濾液を減圧濃縮し、残査を hexane より再結晶し **48** を得た。

Yield 114 mg (86%); mp 110–112 °C (hexane); UV (MeOH) λ_{max} 268 nm (ϵ 10100); MS m/z 347 ($\text{M}^+ - \text{Bu} - t$); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.05 (s, 6H, Me_2Si), 0.88 (s, 9H, Me_3C), 2.01 (s, 3H, 5-Me), 3.64, 3.74 (A_2B_2 , 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.17 (s, 1H, CH_2Ph), 5.17 (s, 2H, NCH_2O), 7.11 [dd, J = 6.5, 1.6 Hz, 2H, Ph(H-2,6)], 7.30–7.35 [m, 3H, Ph(H-3,4,5)], 8.04 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_4\text{Si}$: C, 62.34; H, 7.97; N, 6.92. Found: C, 62.01; H, 7.99; N, 6.90.

6-Benzyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (53a)

48 (1 mmol) を AcOH-THF- H_2O (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌後、減圧濃縮し、残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3) で精製し、**53a**

をsyrup として得た。

Yield 72%; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 268 nm (ϵ 7200); MS m/z 290 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.84 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H, OH), 2.02 (s, 3H, 5-Me), 3.68–3.74 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.15 (s, 2H, CH_2Ph), 5.20 (s, 2H, NCH_2O), 7.13 [dd, $J = 6.1, 1.3$ Hz, 2H, Ph(H-2,6)], 7.27–7.39 [m, 3H, Ph(H-3,4,5)], 8.17 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$: C, 60.19; H, 6.40; N, 9.36. Found: C, 60.13; H, 6.42; N, 9.60.

6-Substituted 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymines (53b,c) の一般合成法

50,51 (1 mmol) を AcOH–THF– H_2O (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌後、減圧濃縮し、残渣を適当な溶媒より再結晶した。

6-Benzoyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (53b)

Yield 65%; mp 127–128 °C (toluene–EtOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 256 nm (ϵ 18000); MS m/z 304 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.74 (s, 3H, 5-Me), 3.38–3.57 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.14, 5.33 (br x 2, 1H x 2, NCH_2O), 7.58 [t, $J = 8.2$ Hz, 2H, COPh(H-3,5)], 7.72 [tt, $J = 8.2, 1.4$ Hz, 1H, COPh(H-4)], 7.96 [dd, $J = 8.2, 1.4$ Hz, 2H, COPh(H-2,6)], 8.60 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 59.21; H, 5.30; N, 9.21. Found: C, 59.08; H, 5.31; N, 8.93.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(1-hydroxy-1-phenylmethyl)thymine (53c)

Yield 90%; mp 179–180 °C (CHCl_3); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 270 nm (ϵ 9400); MS m/z 306 (M^+); ^1H NMR ($\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) δ 1.67 (s, 3H, 5-Me), 3.30–3.39 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.54 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H, CH_2OH), 5.24, 5.29 (ABq, $J = 11.5$ Hz, 2H, NCH_2O), 6.06 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H, PhCHOH), 6.50 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H, PhCHOH), 7.23–7.35 (m, 5H, Ph), 11.46 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5 \cdot 1/4\text{H}_2\text{O}$: C, 57.96; H, 6.00; N, 9.01. Found: C, 57.91; H, 5.88; N, 8.89.

6-Bromo-1-([(2-tert-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methylthymine (54)

10 (629 mg, 2 mmol) の THF (8 mL) 溶液を -70 °C に冷却し、窒素気流下、0.5 M LDA–THF 溶液 (10 mL, 5 mmol) を反応液温が -70 °C を越えないように滴下した。1 時間攪拌後、 α -bromoacetophenone (796 mg, 4 mmol) の THF (5 mL) 溶液を反応液温が -70 °C を越えないように滴下し、1 時間攪拌した。反応液に AcOH (0.25 mL) を加え反応を止め、反応液温を室温まで上昇させた。反応液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 –hexane; 8:2, v/v) で精製し **54** 得た。また、出発物質 (**10**) を 359 mg (57%) 回収した。

Yield 250 mg (32%); MS m/z 392, 394 (M^+ , 1:1; intensity); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.06 (s, 6H, Me_2Si), 0.89 (s, 9H, Me_3C), 2.10 (s, 3H, 5-Me), 3.76, 3.79 (A_2B_2 , 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.59 (s, 2H, NCH_2O), 8.46 (br, 1H, NH).

6-Bromo-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (55)

54 (1 mmol) を AcOH-THF-H₂O (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌後、減圧濃縮し、残査を toluene-EtOH より再結晶した。

Yield 73%; mp 140 °C (toluene-EtOH); UV (MeOH) λ_{max} 270 nm (ϵ 9100); MS m/z 278 and 280 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.95 (t, 1H OH), 2.10 (s, 3H, 5-Me), 3.71–3.79 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 5.60 (s, 2H, NCH₂O), 8.34 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₈H₁₁BrN₂O₄: C, 34.43; H, 3.97; N, 10.04. Found: C, 34.69; H, 3.99; N, 10.02.

6-Alkynyl-1-([[(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl]thymines (**57a-c**) の一般合成法

56¹⁴ (534 mg, 1 mmol) に Et₃N (10 mL)、MeCN (3 mL)、bis(triphenylphosphine)-palladium(II) dichloride (70.2 mg, 0.1 mmol)、および copper(I) iodide (19 mg, 0.1 mmol) を加えた。この混合液に propyne gas を吹き込みながら 60 °C、2 時間、あるいは液体の alkyne (3 mmol) を加え、60 °C、1.5 時間攪拌した。反応液を室温まで冷やし、減圧濃縮し、残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc-hexane; 3:7 v/v) で精製した。

1-([[(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl]-6-(2-methylethynyl)thymine (**57a**)

Yield 204 mg (58%); IR (KBr) 2230 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.07 (s, 6H, Me₂Si), 0.89 (s, 9H, Me₃C), 2.07 (s, 3H, 5-Me), 2.19 (s, 3H, C≡CMe), 3.69, 3.68 (A₂B₂, 4H, SiOCH₂CH₂O), 5.47 (s, 2H, NCH₂O), 8.29 (br, 1H, NH).

1-([[(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl]-6-(2-phenylethynyl)thymine (**57b**)

Yield 342 mg, (82%); IR (KBr) 2220 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.04 (s, 6H, Me₂Si), 0.86 (s, 9H, Me₃C), 2.19 (s, 3H, 5-Me), 3.74–3.78 (m, 4H, SiOCH₂CH₂O), 5.55 (s, 2H, NCH₂O), 7.41–7.45 [m, 3H, C≡CPh(H-3,4,5)], 7.74 [dd, J = 7.9, 1.8 Hz, 2H, C≡CPh(H-2,6)], 8.03 (br, 1H, NH).

1-([[(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl]-6-[2-(trimethylsilyl)ethynyl]-thymine (**57c**)

Yield 472 mg (58%); IR (KBr) 2150 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.06 (s, 6H, Me₂Si), 0.29 (s, 9H, Me₃Si), 0.86 (s, 9H, Me₃C), 2.09 (s, 3H, 5-Me), 3.69, 3.76 (A₂B₂, 4H, SiOCH₂CH₂O), 5.46 (s, 2H, NCH₂O), 8.51 (br, 1H, NH).

6-Alkynyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymines (**58a,b**) の一般合成法

57a,b (1 mmol) を AcOH-THF-H₂O (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌後、減圧濃縮し、残査を toluene-EtOH より再結晶した。

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(2-methylethynyl)thymine (**58a**)

Yield 91%; mp 176 °C (toluene-EtOH); UV (MeOH) λ_{max} 291 nm (ϵ 12000); IR (KBr) 2245 cm⁻¹; MS m/z 238 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.08 (s, 3H, 5-Me), 2.22 (s,

3H, C≡CMe), 3.71–3.76 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 5.48 (s, 2H, NCH₂O), 8.05 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₁H₁₄N₂O₄·1/4H₂O: C, 54.43; H, 6.02; N, 11.54. Found: C, 54.35; H, 5.88; N, 11.52.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(2-phenylethynyl)thymine (58b)

Yield 84%; mp 220 °C (toluene–EtOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 314 nm (ϵ 21000); IR (KBr) 2210 cm⁻¹; MS m/z 300 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.20 (s, 3H, 5–Me), 3.74–3.78 (A₂B₂, 4H, OCH₂CH₂O), 5.57 (s, 2H, NCH₂O), 7.42–7.47 [m, 3H, C≡CPh(H–3,4,5)], 7.57 [dd, J = 7.9, 1.8 Hz, 2H, C≡CPh(H–2,6)], 8.10 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₆H₁₆N₂O₄: C, 63.99; H, 5.37; N, 9.33. Found: C, 63.99; H, 5.34; N, 9.33.

6-Ethynyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (58c)

57c (294 mg, 0.72 mmol) の MeOH (86 mL) 溶液に 1N NaOH 水 (0.86 mL) を加え、室温、2分間攪拌した。反応液を 1N HCl 水で中和後、減圧濃縮し、残渣を EtOAc (30 mL) に溶かし 水 (3 x 10 mL) で洗浄した。EtOAc 層を減圧濃縮し、残渣を THF–AcOH–H₂O (2:2:1, v/v, 25 mL) に溶かし、14 時間攪拌した。反応液を減圧濃縮後、toluene (3 x 20 mL) で共沸脱水し、toluene–EtOH で再結晶し **58c** を得た。

Yield 160 mg (99%); mp 157–158 °C (toluene–EtOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 289 nm (ϵ 11000); IR (KBr) 2100 cm⁻¹; MS m/z 224 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.03 (m, 1H, OH), 2.13 (s, 3H, 5–Me), 3.70–3.79 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 3.93 (s, 1H, C≡CH), 5.50 (s, 2H, NCH₂O), 8.32 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₀H₁₂N₂O₄: C, 53.57; H, 5.39; N, 12.49. Found: C, 53.49; H, 5.44; N, 12.47.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-vinylthymines (59a-c)の一般合成法

58a-c (0.34 mmol)、Pd–BaSO₄ (10%, 11 mg)、EtOH (5 mL)、および AcOH (1 mL) の混合液を 1 気圧の水素雰囲気下、1 当量の水素 (7.6 mL) が消費されるまで (約 2 分間)、室温で攪拌した。濾過により触媒を除き、触媒を EtOH (2 x 5 mL) で洗浄し、濾液を合わせ、減圧濃縮した。残渣に toluene (20 mL) を加え、減圧濃縮後、適当な溶媒で再結晶した。

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[2-(Z)-methylvinyl]thymine (59a)

Yield 92%; mp 108–108.5 °C (toluene–EtOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 273 nm (ϵ 9500); MS m/z 240 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.66 (d, J = 5.4 Hz, 3H, CH=CHMe), 1.86 (s, 3H, 5–Me), 2.14 (t, J = 5.4 Hz, 1H, OH), 3.66–3.78 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 5.09, 5.46 (br x 2, 1H x 2, NCH₂O), 6.16 (dq, J = 12.0, 5.4 Hz, 1H, CH=CHMe), 6.19 (d, J = 12.0 Hz, 1H, CH=CHMe), 8.72 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₁H₁₆N₂O₄: C, 54.99; H, 6.71; N, 11.66. Found: C, 54.77; H, 6.72; N, 11.46.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[2-(Z)-phenylvinyl]thymine (59b)

Yield 88%; mp 113–114 °C (toluene–EtOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 249 nm (ϵ 14000); MS m/z 302 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.67 (d, J = 1.1 Hz, 3H, 5–Me), 3.67–3.75 (m,

4H, OCH₂CH₂O), 5.18, 5.58 (ABq, J = 10.4 Hz, 2H, NCH₂O), 6.31 (dq, J = 12.4, 1.1 Hz, 1H, CH=CHPh), 6.89 (d, J = 12.4 Hz, 1H, CH=CHPh), 7.21–7.33 (m, 5H, Ph), 8.08 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₆H₁₈N₂O₄: C, 63.57; H, 6.00; N, 9.23. Found: C, 63.80; H, 6.06; N, 9.06.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-vinylthymine (**59c**)

Yield 60%; mp 123–125 °C (toluene–EtOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 276 nm (ϵ 8200); MS m/z 226 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.00 (d, J = 0.9 Hz, 3H, 5-Me), 3.72–3.79 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 5.31 (s, 2H, NCH₂O), 5.63 [dd, J = 17.7, 1.2 Hz, 1H, CH=CH(*Z*)H(*E*)], 5.89 [dd, J = 11.6, 1.2 Hz, 1H, CH=CH(*Z*)H(*E*)], 6.56 [m, 1H, CH=CH₂], 8.08 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₀H₁₄N₂O₄: C, 53.09; H, 6.24; N, 12.38. Found: C, 52.94; H, 6.38; N, 12.20.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylethyl)thymine (**60**)

58b (41.2 mg, 0.14 mmol) に EtOH (2 mL)、dioxane (2 mL)、および AcOH (1 mL) を加え溶液とし、Pd–C (10%, 5 mg) を加え、1 気圧の水素雰囲気下、室温、1 時間攪拌した。触媒を濾過により除き、触媒を EtOH (2 x 5 mL) で洗浄し、濾液を合わせ、減圧濃縮した。残査を EtOAc–hexane より再結晶し **60** を得た。

Yield 40.1 mg (94%); mp 166 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 268 nm (ϵ 11800); MS m/z 304 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.95 (s, 3H, 5-Me), 2.88, 2.99 (A₂B₂, 4H, CH₂CH₂Ph), 3.69–3.81 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 5.35 (s, 2H, NCH₂O), 7.15–7.38 (m, 5H, Ph), 8.04 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₆H₂₀N₂O₄·1/10H₂O: C, 62.77; H, 6.65; N, 9.15. Found: C, 62.73; H, 6.60; N, 9.09.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-phenylthymine (**61**)

56 (400 mg, 0.91 mmol) の dioxane (20 mL) 溶液に Ph₄Sn (1.94 g, 4.54 mmol) および bis(triphenylphosphine)palladium(II) dichloride (70.2 mg, 0.1 mmol) を加え、窒素気流下 3 日間還流した。反応液を EtOH (20 mL) で薄め、濾過し、濾液を減圧濃縮した。残査を THF–AcOH–H₂O (10 mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌し、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃–MeOH; 98:2, v/v) で精製後、EtOH で結晶化し **61** を得た。

Yield 74 mg (30%); mp 164–166 °C (EtOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 269 nm (ϵ 11200); MS m/z 276 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.66 (s, 3H, 5-Me), 2.05 (t, J = 6.0 Hz, 1H, OH), 3.53 (t, J = 4.5 Hz, 2H, HOCH₂CH₂O), 3.67 (m, 2H, HOCH₂CH₂O), 4.96 (s, 2H, NCH₂O), 7.28–7.52 (m, 5H, Ph), 8.39 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₄H₁₄N₂O₄: C, 60.86; H, 5.84; N, 10.14. Found: C, 60.90; H, 5.58; N, 10.11.

6-(Arythio)-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymines (**62a-y**)の一般合成法

10 (2 mmol) の THF (8 mL) 溶液を–70 °C に冷却し、窒素気流下、0.5 M LDA–THF 溶

液 (10 mL, 5 mmol) を反応液温が $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ を越えないように滴下した。1 時間攪拌後、diaryl disulfide (873 mg, 4 mmol) の THF (5 mL) 溶液を反応液温が $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ を越えないように滴下し、さらに 1 時間攪拌した。その後、反応液に濃塩酸を加え pH 1.2 にし、室温まで温度を上げ、2 時間攪拌した。反応液を水 (20 mL) に加え、EtOAc (30 mL) で抽出した。有機層を飽和 NaHCO_3 水 (20 mL) および飽和 NaCl 水 (20 mL) で洗浄後、 MgSO_4 で乾燥、濾過、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 -hexane; 8:2, v/v) で精製後、適当な溶媒で結晶化し目的物を得た。

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(2-methylphenyl)thio]thymine (62a)

Bis(2-methylphenyl) disulfide を用いた。

Yield 87%; mp $140\text{--}141\text{ }^{\circ}\text{C}$ (toluene); UV (MeOH) λ_{max} 276 nm (ϵ 8100), 240 nm (ϵ 9200); MS m/z 322 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.00 (s, 3H, 5-Me), 2.42 (s, 3H, SAr-Me), 3.62–3.67 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.56 (s, 2H, NCH_2O), 6.98–7.22 (m, 4H, SAr), 8.46 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 55.89; H, 5.63; N, 9.95. Found: C, 55.55; H, 5.60; N, 10.05.

6-[(2-Chlorophenyl)thio]-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (62b)

Bis(2-chlorophenyl) disulfide を用いた。

Yield 58%; mp $166\text{--}168\text{ }^{\circ}\text{C}$ (toluene); UV (MeOH) λ_{max} 275 nm (ϵ 8200), 243 nm (ϵ 10000); MS m/z 342 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.03 (s, 3H, 5-Me), 3.60–3.67 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.60 (s, 2H, NCH_2O), 7.04–7.45 (m, 4H, SAr), 8.95 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 49.05; H, 4.41; N, 8.17; S, 9.35. Found: C, 49.20; H, 4.35; N, 7.91; S, 9.20.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(2-nitrophenyl)thio]thymine (62c)

Bis(2-nitrophenyl) disulfide を用いた。

Yield 52%; mp $193\text{--}195\text{ }^{\circ}\text{C}$ (EtOAc-EtOH); UV (MeOH) λ_{max} 351 nm (ϵ 4300), 273 nm (ϵ 12000), 237 nm (ϵ 15000); MS m/z 353 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.12 (s, 3H, 5-Me), 3.47–3.62 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.52 (s, 2H, NCH_2O), 7.14 [dd, $J = 8.3, 1.2$ Hz, 1H, SAr(H-6)], 7.43 [td, $J = 8.3, 1.2$ Hz, 1H, SAr(H-4)], 7.58 [td, $J = 8.3, 1.2$ Hz, 1H, SAr(H-5)], 8.34 [dd, $J = 8.3, 1.2$ Hz, 1H, SAr(H-3)], 8.50 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$: C, 47.59; H, 4.28; N, 11.89; S, 9.07. Found: C, 47.88; H, 4.30; N, 11.91; S, 9.13.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(2-methoxyphenyl)thio]thymine (62d)

Bis(2-methoxyphenyl) disulfide を用いた。

Yield 69%; mp $162\text{--}163\text{ }^{\circ}\text{C}$ (toluene); UV (MeOH) λ_{max} 283 nm (ϵ 9000), 245 nm (ϵ 8200); MS m/z 338 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.99 (s, 3H, 5-Me), 3.67 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.68 (s, 2H, NCH_2O), 6.88–7.31 (m, 4H, SAr), 8.62 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{S} \cdot 1/3\text{H}_2\text{O}$: C, 52.32; H, 5.46; N, 8.14; S, 9.48. Found: C, 52.17; H, 5.26; N, 7.90; S, 9.57.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(3-methylphenyl)thio]thymine (62e)

Bis(3-methylphenyl) disulfide を用いた。

Yield 63%; mp 116 °C (EtOAc–EtOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 275 nm (ϵ 8000), 246 nm (ϵ 9700); MS m/z 322 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.08 (s, 3H, 5-Me), 2.33 (s, 3H, SAr-Me), 3.67 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.59 (s, 2H, NCH_2O), 6.98–7.25 (m, 4H, SAr), 9.04 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 55.89; H, 5.63; N, 8.69; S, 9.95. Found: C, 55.74; H, 5.60; N, 8.63; S, 9.73.

6-[(3-Ethylphenyl)thio]-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (62f)

Bis(3-ethylphenyl) disulfide を用いた。

Yield 57%; mp 102–103 °C (toluene–hexane); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 275 nm (ϵ 8000), 245 nm (ϵ 9600); MS m/z 336 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.22 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H, CH_2Me), 2.08 (s, 3H, 5-Me), 2.62 (q, $J = 7.6$ Hz, 2H, CH_2Me), 3.63–3.67 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.59 (s, 2H, NCH_2O), 6.98–7.28 (m, 4H, SAr), 8.41 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4\text{S} \cdot 1/6\text{H}_2\text{O}$: C, 56.62; H, 6.04; N, 8.25; S, 9.45. Found: C, 56.58; H, 5.92; N, 8.19; S, 9.29.

6-[(3-*tert*-Butylphenyl)thio]-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (62g)

Bis(3-*tert*-butylphenyl) disulfide を用いた。

Yield 56%; mp 143–144 °C (toluene); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 275 nm (ϵ 8100), 244 nm (ϵ 9900); MS m/z 364 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.29 (s, 9H, CMe_3), 2.09 (s, 3H, 5-Me), 3.60–3.68 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.60 (s, 2H, NCH_2O), 6.96 (dt, $J = 6.6, 2.0$ Hz, 1H, SAr), 7.23–7.32 (m, 3H, SAr), 8.44 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 59.32; H, 6.64; N, 7.69; S, 8.80. Found: C, 58.96; H, 6.61; N, 7.55; S, 8.53.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(3-hydroxymethyl)phenyl]thio}thymine (62h)

Bis([3-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)methyl]phenyl) disulfide を用いた。

Yield 44%; mp 134 °C (CHCl_3); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 276 nm (ϵ 8100), 246 nm (ϵ 9800); MS m/z 338 (M^+); ^1H NMR ($\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) δ 1.83 (s, 3H, 5-Me), 3.36–3.42 (m, 2H, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.48 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.45 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H, SAr- CH_2OH), 4.60 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.25 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H, SAr- CH_2OH), 5.41 (s, 2H, NCH_2O), 7.12–7.35 (m, 4H, SAr), 11.69 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{S} \cdot 1/5\text{H}_2\text{O}$: C, 52.68; H, 5.42; N, 8.19; S, 9.37. Found: C, 52.59; H, 5.31; N, 8.13; S, 9.45.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(3-trifluoromethyl)phenyl]thio}thymine (62i)

Bis[(3-trifluoromethyl)phenyl] disulfide を用いた。

Yield 61%; mp 126 °C (toluene); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 277 nm (ϵ 8700), 247 nm (ϵ 11000); MS m/z 376 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.08 (s, 3H, 5-Me), 3.61–3.69 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.60 (s, 2H, NCH_2O), 7.33–7.57 (m, 4H, SAr), 8.30 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 47.87; H, 4.02; N, 7.44; S, 8.52. Found: C, 47.85; H, 3.89; N, 7.40; S, 8.40.

6-[(3-Fluorophenyl)thio]-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (62j)

Bis(3-fluorophenyl) disulfide を用いた。

Yield 44%; mp 114–115 °C (toluene–EtOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 276 nm (ϵ 8900), 243 nm (ϵ 10000); MS m/z 326 (M^+); ^1H NMR ($\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) δ 1.83 (s, 3H, 5-Me), 3.37 (m, 2H, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.47 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.57 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H, OH), 5.39 (s, 2H, NCH_2O), 7.05–7.44 (m, 4H, SA_{Ar}), 11.67 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{FN}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 51.53; H, 4.63; N, 8.58; S, 9.82. Found: C, 51.52; H, 4.62; N, 8.55; S, 9.63.

6-[(3-Chlorophenyl)thio]-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (62k)

Bis(3-chlorophenyl) disulfide を用い、**62k** を syrup として得た。

Yield 68%; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 276 nm (ϵ 8200), 248 nm (ϵ 10000); MS m/z 342 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.08 (s, 3H, 5-Me), 3.67 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.59 (s, 2H, NCH_2O), 7.07–7.29 (m, 4H, SA_{Ar}), 9.36 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_4\text{S} \cdot 1/5\text{H}_2\text{O}$: C, 48.54; H, 4.48; N, 8.09; S, 9.26. Found: C, 48.63; H, 4.26; N, 7.92; S, 8.89.

6-[(3-Bromophenyl)thio]-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (62l)

Bis(3-bromophenyl) disulfide を用い、**62l** を syrup として得た。

Yield 56%; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 276 nm (ϵ 8200), 250 nm (ϵ 10000); MS m/z 386, 388 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.09 (s, 3H, 5-Me), 3.65–3.69 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.59 (s, 2H, NCH_2O), 7.12–7.43 (m, 4H, SA_{Ar}), 8.59 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{BrN}_2\text{O}_4\text{S} \cdot 1/5\text{H}_2\text{O}$: C, 43.02; H, 3.97; N, 7.17; S, 8.20. Found: C, 43.00; H, 3.79; N, 6.89; S, 8.51.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(3-iodophenyl)thio]thymine (62m)

Bis(3-iodophenyl) disulfide を用いた。

Yield 51%; mp 132–133 °C (toluene); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 228 nm (ϵ 23000); MS m/z 434 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.08 (s, 3H, 5-Me), 3.64–3.68 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.58 (s, 2H, NCH_2O), 7.06 [t, $J = 7.8$ Hz, 1H, SA_{Ar}(H-5)], 7.18 [dt, $J = 7.8, 1.5$ Hz, 1H, SA_{Ar}(H-6)], 7.56 [t, $J = 1.5$ Hz, 1H, SA_{Ar}(H-2)], 7.61 [dt, $J = 7.8, 1.5$ Hz, 1H, SA_{Ar}(H-4)], 8.43 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{IN}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 38.72; H, 3.48; N, 6.45; S, 7.38. Found: C, 38.70; H, 3.35; N, 6.33; S, 7.15..

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(3-nitrophenyl)thio]thymine (62n)

Bis(3-nitrophenyl) disulfide を用いた。

Yield 54%; mp 130–131 °C (toluene–EtOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 245 nm (ϵ 18000); MS m/z 353 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.08 (s, 3H, 5-Me), 3.59–3.72 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.63 (s, 2H, NCH_2O), 7.52–7.58 (m, 2H, SA_{Ar}), 8.07–8.16 (m, 2H, SA_{Ar}), 9.25 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$: C, 47.59; H, 4.28; N, 11.87; S, 9.07. Found: C, 47.69; H, 4.25; N, 11.80; S, 9.06.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(3-hydroxyphenyl)thio]thymine (62o)

Bis{[(3-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]phenyl} disulfide を用いた。

Yield 36%; mp 161–162 °C (toluene); UV (MeOH) λ_{max} 282 nm (ϵ 9100), 245 nm (ϵ 8400); MS m/z 324 (M^+); ^1H NMR ($\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) δ 1.86 (s, 3H, 5-Me), 3.36–3.42 (m, 2H, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.47 (t, $J = 4.6$ Hz, 2H, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.59 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.39 (s, 2H, NCH_2O), 6.61–6.75 [m, 3H, $\text{SAr}(\text{H}-2,4,6)$], 7.15 [t, $J = 8.3$ Hz, 1H, $\text{SAr}(\text{H}-5)$], 9.67 (s, 1H, $\text{SAr}-\text{OH}$), 11.71 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}\cdot 1/6\text{H}_2\text{O}$: C, 51.37; H, 5.03; N, 8.56; S, 9.79. Found: C, 51.32; H, 4.89; N, 8.47; S, 9.43.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(3-methoxyphenyl)thio]thymine (62p)

Bis(3-methoxyphenyl) disulfide を用いた。

Yield 70%; mp 129–131 °C (toluene); UV (MeOH) λ_{max} 282 nm (ϵ 9000), 245 nm (ϵ 8500); MS m/z 338 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.09 (s, 3H, 5-Me), 3.68 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.39 (s, 2H, NCH_2O), 6.73–6.87 [m, 3H, $\text{SAr}(\text{H}-2,4,6)$], 7.24 [t, $J = 8.1$ Hz, 1H, $\text{SAr}(\text{H}-5)$], 9.29 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}\cdot 1/10\text{H}_2\text{O}$: C, 52.96; H, 5.39; N, 8.24; S, 9.42. Found: C, 52.95; H, 5.33; N, 8.15; S, 9.05.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(4-methylphenyl)thio]thymine (62q)

Bis(4-methylphenyl) disulfide を用いた。

Yield 67%; mp 128–129 °C (toluene); UV (MeOH) λ_{max} 273 nm (ϵ 8400), 247 nm (ϵ 11000); MS m/z 322 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.06 (s, 3H, 5-Me), 2.33 (s, 3H, $\text{SAr}-\text{Me}$), 3.67 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.60 (s, 2H, NCH_2O), 7.13 (s, 4H, SAr), 8.84 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 55.89; H, 5.63; N, 8.69; S, 9.95. Found: C, 55.75; H, 5.62; N, 8.64; S, 9.95.

6-[(4-Fluorophenyl)thio]-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (62r)

Bis(4-fluorophenyl) disulfide を用いた。

Yield 63%; mp 103–104 °C (toluene); UV (MeOH) λ_{max} 277 nm (ϵ 7700), 242 nm (ϵ 8200); MS m/z 326 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.05 (s, 3H, 5-Me), 3.68 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.62 (s, 2H, NCH_2O), 7.01–7.28 (m, 4H, SAr), 9.48 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{FN}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 51.53; H, 4.63; N, 8.58; S, 9.82. Found: C, 51.48; H, 4.58; N, 8.40; S, 9.89.

6-[(4-Chlorophenyl)thio]-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (62s)

Bis(4-chlorophenyl) disulfide を用いた。

Yield 77%; mp 148–150 °C (toluene); UV (MeOH) λ_{max} 251 nm (ϵ 14000); MS m/z 342 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.06 (s, 3H, 5-Me), 3.62–3.69 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.59 (s, 2H, NCH_2O), 7.17 [d, $J = 8.7$ Hz, 2H, $\text{SAr}(\text{H}-2,6)$], 7.32 [d, $J = 8.7$ Hz, 2H, $\text{SAr}(\text{H}-3,5)$], 8.55 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 49.05; H, 4.41; N, 8.17; S, 9.35. Found: C, 49.15; H, 4.38; N, 8.12; S, 9.57.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(4-nitrophenyl)thio]thymine (62t)

Bis(4-nitrophenyl) disulfide を用いた。

Yield 16%; mp 207–208 °C (EtOAc–EtOH); UV (MeOH) λ_{max} 320 nm (ϵ 13000), 290

nm (ϵ 11000); MS m/z 353 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.08 (s, 3H, 5-Me), 3.66 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.57 (s, 2H, NCH_2O), 7.33 [d, $J = 9.0$ Hz, 2H, $\text{SAr}(\text{H}-2,6)$], 8.20 [d, $J = 9.0$ Hz, 2H, $\text{SAr}(\text{H}-3,5)$], 8.43 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$: C, 47.59; H, 4.28; N, 11.87; S, 9.07. Found: C, 47.87; H, 4.42; N, 11.70; S, 8.72.

6-[(4-Cyanophenyl)thio]-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (62u)

Bis(4-cyanophenyl) disulfide を用いた。

Yield 37%; mp 221–222 °C ($\text{EtOH}-\text{H}_2\text{O}$); UV (MeOH) λ_{max} 269 nm (ϵ 22000); MS m/z 333 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.07 (s, 3H, 5-Me), 3.63–3.67 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.55 (s, 2H, NCH_2O), 7.26 [d, $J = 8.5$ Hz, 2H, $\text{SAr}(\text{H}-2,6)$], 7.61 [d, $J = 8.5$ Hz, 2H, $\text{SAr}(\text{H}-3,5)$], 8.17 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$: C, 54.05; H, 4.54; N, 12.61; S, 9.62. Found: C, 54.13; H, 4.72; N, 12.39; S, 9.28.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(4-hydroxyphenyl)thio]thymine (62v)

Bis{[(4-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]phenyl} disulfide を用いた。

Yield 40%; mp 181–182 °C (EtOH); UV (MeOH) λ_{max} 252 nm (ϵ 13000); MS m/z 324 (M^+); ^1H NMR ($\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) δ 1.98 (s, 3H, 5-Me), 3.65 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.95 (br, 1H, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.46 (s, 2H, NCH_2O), 6.79 [d, $J = 8.8$ Hz, 2H, $\text{SAr}(\text{H}-3,5)$], 7.13 [d, $J = 8.8$ Hz, 2H, $\text{SAr}(\text{H}-2,6)$], 9.30 (s, 1H, $\text{SAr}-\text{OH}$), 11.28 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5\text{S} \cdot 1/5\text{H}_2\text{O}$: C, 51.27; H, 5.04; N, 8.54; S, 9.78. Found: C, 51.40; H, 5.00; N, 8.47; S, 9.56.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(4-methoxyphenyl)thio]thymine (62w)

Bis(4-methoxyphenyl) disulfide を用いた。

Yield 62%; mp 108–109 °C (toluene); UV (MeOH) λ_{max} 252 nm (ϵ 14000); MS m/z 338 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.05 (s, 3H, 5-Me), 3.68 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.64 (s, 2H, NCH_2O), 6.87 [d, $J = 8.9$ Hz, 2H, $\text{SAr}(\text{H}-3,5)$], 7.22 [d, $J = 8.9$ Hz, 2H, $\text{SAr}(\text{H}-2,6)$], 8.75 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$: C, 53.24; H, 5.36; N, 8.28; S, 9.48. Found: C, 53.02; H, 5.32; N, 8.14; S, 9.09.

6-[(3,5-Dimethylphenyl)thio]-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (62x)

Bis(3,5-dimethylphenyl) disulfide を用いた。

Yield 70%; mp 136–137 °C (toluene); UV (MeOH) λ_{max} 275 nm (ϵ 8000), 248 nm (ϵ 9900); MS m/z 336 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.08 (s, 3H, 5-Me), 2.28 (s, 6H, SArMe_2), 3.63–3.68 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.58 (s, 2H, NCH_2O), 6.81 [d, $J = 0.9$ Hz, 2H, $\text{SAr}(\text{H}-2,6)$], 6.89 [t, $J = 0.9$ Hz, 1H, $\text{SAr}(\text{H}-4)$], 8.25 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 57.13; H, 5.99; N, 8.33; S, 9.53. Found: C, 57.06; H, 5.96; N, 8.29; S, 9.47.

6-[(3,5-Dichlorophenyl)thio]-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (62y)

Bis(3,5-dichlorophenyl) disulfide を用いた。

Yield 17%; mp 132–134 °C (hexane); UV (MeOH) λ_{max} 253 nm (ϵ 11000); MS m/z 376, 378, 380 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.10 (s, 3H, 5-Me), 3.65–3.69 (m, 4H,

OCH₂CH₂O), 5.57 (s, 2H, NCH₂O), 7.09 [d, *J* = 1.8 Hz, 2H, SAr(H-2,6)], 7.25 [t, *J* = 1.8 Hz, 1H, SAr(H-4)], 8.23 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₄H₁₄Cl₂N₂O₄S: C, 44.78; H, 3.74; N, 7.43; S, 8.50. Found: C, 44.60; H, 3.72; N, 7.29; S, 8.26.

1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-6-[(3-methoxycarbonyl)-phenyl]thio}thymine (63a)

3-(Methoxycarbonyl)benzenethiol (1.06 g, 6.3 mmol) の DMF (15 mL) 溶液に、氷冷下、NaH (60% in oil; 252 mg, 6.3 mmol) を加え、反応液温を室温まで上げた。得られた懸濁液に **42** (1.6 g, 3.6 mmol) を加え、室温、1.5 時間攪拌した。反応液に飽和 NH₄Cl 水 (20 mL) を加え、EtOAc (50 mL) で抽出し、有機層を MgSO₄ で乾燥、濾過、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃-hexane; 8:2, v/v) で精製後、EtOH で結晶化し **63a** を得た。

Yield 834 mg (48%); mp 69–70 °C (EtOH); MS *m/z* 480 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.03 (s, 6H, Me₂Si), 0.87 (s, 9H, Me₃C), 2.01 (s, 3H, 5-Me), 3.61–3.72 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 3.93 (s, 3H, COOMe), 5.61 (s, 2H, NCH₂O), 7.36–7.42 (m, 2H, SAr), 7.80–7.96 (m, 2H, SAr), 8.41 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₂₂H₃₂N₂O₆SSi: C, 54.98; H, 6.71; N, 5.83; S, 6.67. Found: C, 54.61; H, 6.70; N, 5.80; S, 6.63.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(3-methoxycarbonyl)phenyl]thio}thymine (63b)

63a (1 mmol) を AcOH-THF-H₂O (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌後、減圧濃縮し、残査を CHCl₃-hexane より再結晶し **63b** を得た。

Yield 70%; mp 161–164 °C (CHCl₃-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 278 nm (ε 8000); MS *m/z* 366 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.05 (s, 3H, 5-Me), 3.60–3.72 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 3.93 (s, 3H, COOMe), 5.63 (s, 2H, NCH₂O), 7.39–7.45 (m, 2H, SAr), 7.91–7.97 (m, 2H, SAr), 8.70 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₆H₁₈N₂O₆S·1/5H₂O: C, 51.94; H, 5.01; N, 7.57; S, 8.67. Found: C, 51.90; H, 5.01; N, 7.52; S, 8.56.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(methlycarbonyl)phenyl]thio}thymines (63c,d) の一般合成法

Mercaptoacetophenone (0.87 mmol) のナトリウム塩の DMF (10 mL) 懸濁液に **42** (263 mg, 0.6 mmol) を加え、室温、1 時間攪拌した。反応液に飽和 NH₄Cl 水 (20 mL) を加え、EtOAc (50 mL) で抽出し、有機層を MgSO₄ で乾燥、濾過、減圧濃縮した。残査を AcOH-THF-H₂O (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌後、減圧濃縮した。残査を ODS シリカゲルカラムクロマトグラフィー (MeOH-H₂O; 1:1, v/v) で精製後、EtOH-H₂O で結晶化した。

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(3-methlycarbonyl)phenyl]thio}thymine (63c)

Yield 43%; mp 169–170 °C (EtOH-H₂O); UV (MeOH) λ_{max} 272 nm (ε 8000); MS *m/z* 350 (M⁺); ¹H NMR (Me₂SO-*d*₆) δ 1.83 (s, 3H, 5-Me), 2.56 (s, 3H, COMe), 3.35 (m, 2H, HOCH₂CH₂O), 3.47 (t, *J* = 5.0 Hz, 2H, HOCH₂CH₂O), 4.58 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H,

OH), 5.42 (s, 2H, NCH₂O), 7.43–7.60 (m, 2H, SAr), 7.81–7.87 (m, 2H, SAr), 11.73 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₆H₁₈N₂O₅S·1/5H₂O: C, 54.29; H, 5.24; N, 7.91; S, 9.06. Found: C, 54.28; H, 5.12; N, 7.92; S, 9.10.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-[(4-methylcarbonyl)phenyl]thio]thymine (63d)

Yield 61%; mp 121–123 °C (EtOH–H₂O); UV (MeOH) λ_{max} 280 nm (ϵ 19000); MS m/z 350 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.06 (s, 3H, 5-Me), 2.59 (s, 3H, COMe), 3.62–3.69 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 5.58 (s, 2H, NCH₂O), 7.27 [d, J = 8.4 Hz, 2H, SAr(H–2,6)], 7.91 [d, J = 8.4 Hz, 2H, SAr(H–3,5)], 9.68 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₆H₁₈N₂O₅S: C, 54.85; H, 5.18; N, 8.00; S, 9.15. Found: C, 55.18; H, 5.27; N, 7.83; S, 8.85.

1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-6-[(3-carboxyphenyl)thio]- thymine (64).

63a (740 mg, 1.54 mmol) の THF (20 mL) 溶液に EtOH (10 mL) と 1N NaOH 水 (3.2 mL) を加え、室温、1時間攪拌した。反応液を 2N HCl 水で pH 3 にし EtOAc (50 mL) と H₂O (30 mL) を加え分配した。有機層を飽和 NaCl 水 (3 x 10 mL) で洗浄後、MgSO₄ で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残査を Et₂O–hexane で再結晶し **64** を得た。

Yield 632 mg (88%); mp 152–153 °C (Et₂O–hexane); MS m/z 466 (M⁺); ¹H NMR (Me₂SO-*d*₆) δ -0.04 (s, 6H, Me₂Si), 0.80 (s, 9H, Me₃C), 1.83 (s, 3H, 5-Me), 3.45–3.53 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 5.43 (s, 2H, NCH₂O), 7.47 [t, J = 7.9 Hz, 1H, SAr(H–5)], 7.55 [dt, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H, SAr(H–6)], 7.72–7.83 [m, 2H, SAr(H–2,4)], 11.75 (br, 1H, NH), 13.23 (s, 1H, COOH). Anal. Calcd. for C₂₁H₃₀N₂O₆SSi: C, 54.06; H, 6.48; N, 6.00; S, 6.87. Found: C, 53.97; H, 6.46; N, 6.04; S, 6.88.

6-[(3-Carboxyphenyl)thio]-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (65)

64 (1 mmol) を AcOH–THF–H₂O (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14時間攪拌後、減圧濃縮し、残査を CHCl₃ より結晶化し **65** を得た。

Yield 89%; mp 213–215 °C (CHCl₃); UV (MeOH) λ_{max} 278 nm (ϵ 7600); MS m/z 352 (M⁺); ¹H NMR (Me₂SO-*d*₆) δ 1.82 (s, 3H, 5-Me), 3.33–3.50 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 4.58 (t, J = 5.5 Hz, 1H, OH), 5.42 (s, 2H, NCH₂O), 7.47 [t, J = 8.1 Hz, 1H, SAr(H–5)], 7.58 [dt, J = 8.1, 1.6 Hz, 1H, SAr(H–6)], 7.75–7.84 [m, 2H, SAr(H–2,4)], 11.74 (br, 1H, NH), 13.22 (br, 1H, COOH). Anal. Calcd. for C₁₅H₁₆N₂O₆S·1/2H₂O: C, 49.86; H, 4.74; N, 7.75; S, 8.87. Found: C, 49.81; H, 4.42; N, 7.57; S, 8.80.

6-[(3-Carbamoylphenyl)thio]-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (66)

64 (807 mg, 1.73 mmol) と *N*-hydroxysuccinimide (199 mg, 1.73 mmol) を dioxane (15 mL) に溶かし、*N,N*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC; 357 mg, 1.73 mmol) を加え、室温、1時間攪拌した。反応液を濾過し析出した沈澱を除き、濾液に濃アンモニア水 (0.7 mL) と 水 (2 mL) を加え、5分間放置した。溶液を減圧濃縮し、

EtOAc (50 mL) と飽和 NaHCO₃ 水 (20 mL) を加え分配し、EtOAc 層を 4% クエン酸水 (3 x 20 mL) および 飽和 NaCl 水 (3 x 20 mL) で洗浄後、MgSO₄ で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残査を AcOH-THF-H₂O (15mL; 2:2:1, v/v/v) に溶かし、室温、14 時間攪拌後、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃-MeOH; 15:1, v/v) で精製後、MeOH で結晶化し **66** を得た。

Yield 280 mg (46%); mp 196–197 °C (MeOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 276 nm (ϵ 8200); MS m/z 351 (M⁺); ¹H NMR (Me₂SO-*d*₆) δ 1.81 (s, 3H, 5-Me), 2.56 (s, 3H, COMe), 3.37 (m, 2H, HOCH₂CH₂O), 3.47 (t, J = 5.0 Hz, 2H, HOCH₂CH₂O), 4.59 (t, J = 5.4 Hz, 1H, OH), 5.42 (s, 2H, NCH₂O), 7.39–7.48 [m, 3H, SAr, CONH(A)H(B)], 7.72–7.77 (m, 2H, SAr), 8.05 [br, 1H, CONH(A)H(B)], 11.71 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₅H₁₇N₃O₅S·1/5H₂O: C, 50.75; H, 4.94; N, 11.84; S, 9.03. Found: C, 50.74; H, 4.82; N, 11.75; S, 8.91.

1-[(2-Acetoxyethoxy)methyl]-6-[(3-carbamoylphenyl)thio]thymine (**67**)

66 (141 mg, 0.4 mmol) を pyridine (5 mL) に溶かし acetic anhydride (1 mL) を加え、室温、1 時間攪拌した。溶液を飽和 NaHCO₃ 水 (10 mL) に加え EtOAc (3 x 10 mL) 抽出した。有機層を飽和 NaHCO₃ 水 (3 x 10 mL) および 飽和 NaCl 水 (3 x 10 mL) で洗浄後、MgSO₄ で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃-MeOH; 25:1, v/v) で精製後、EtOAc-hexane で結晶化し **67** を得た。

Yield 146 mg (93%); mp 159–160 °C (EtOAc-hexane); MS m/z 393 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.02, 2.05 (s x 2, 3H x 2, 5-Me, MeCOO), 3.75 (t, J = 4.7 Hz, 2H, AcOCH₂CH₂O), 4.07 (t, J = 4.7 Hz, 2H, AcOCH₂CH₂O), 5.58 (s, 2H, NCH₂O), 5.82, 6.23 (br x 2, 1H x 2, CONH₂), 7.24–7.45 [m, 2H, SAr(H-5,6)], 7.66 [dt, J = 7.3, 1.6 Hz, 1H, SAr(H-4)], 7.76 [t, J = 1.6 Hz, 1H, SAr(H-2)], 8.85 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₇H₁₈N₃O₆S: C, 51.90; H, 4.87; N, 10.68; S, 8.15. Found: C, 51.89; H, 4.84; N, 10.59; S, 8.03.

6-[(3-Cyanophenyl)thio]-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]thymine (**68**)

67 (130 mg, 0.33 mmol) を DMF (6 mL) に溶かし、SOCl₂ (66.6 μ L, 0.99 mmol) を加え、室温、1 時間攪拌した。溶液を飽和 NaHCO₃ 水 (30 mL) に加え、析出する沈澱を濾取した。沈澱を飽和 NaHCO₃ 水 (3 x 50 mL) および H₂O (3 x 50 mL) で洗浄した。沈澱を EtOH (6 mL) と THF (6 mL) に溶かし、2N NaOH 水 (0.43 mL) を加え、室温、1 時間攪拌した。溶液を 2N HCl 水で中和後、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃-MeOH; 25:1, v/v) で精製後、Et₂O で結晶化し **68** を得た。

Yield 77 mg (70%); mp 143–144 °C (Et₂O); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 279 nm (ϵ 8400), 252 nm (ϵ 10000); MS m/z 333 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.07 (s, 3H, 5-Me), 3.67 (s, 4H, OCH₂CH₂O), 5.59 (s, 2H, NCH₂O), 7.42–7.59 (m, 4H, SAr), 8.48 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₅H₁₅N₃O₄S: C, 54.05; H, 4.54; N, 12.61; S, 9.62. Found: C, 53.97; H, 4.51; N, 12.52; S, 9.62.

第1章第2節の実験

抗 HIV 活性測定法³⁸

培養液に懸濁した MT-4 細胞 (1×10^5 個/mL) に HIV-1 (HTLV-III_B) を "multiplicity of infection" 0.02 で感染させた。ウイルス感染の直後、細胞懸濁液 (100 μ L) を、種々の濃度の被検化合物の入った flat-bottomed microtiter tray の各 well に加えた。37 °C、4日間培養後、生細胞数を 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) 法で測定した⁵⁰。被検化合物濃度 0 における生細胞数を 0%、ウイルス非感染の場合の生細胞数を 100%としたとき、生細胞数が 50% になる被検化合物濃度 (EC₅₀) を算出した。

細胞毒性測定法

ウイルス非感染 MT-4 細胞 (1×10^5 個/mL) の細胞懸濁液 (100 μ L) を、種々の濃度の被検化合物の入った flat-bottomed microtiter tray の各 well に加え、37 °C、4日間培養後、生細胞数を MTT 法で測定した。被検化合物濃度 0 における生細胞数を 100%としたとき、生細胞数が 50% になる被検化合物濃度 (CC₅₀) を算出した。

第2章第1節の実験

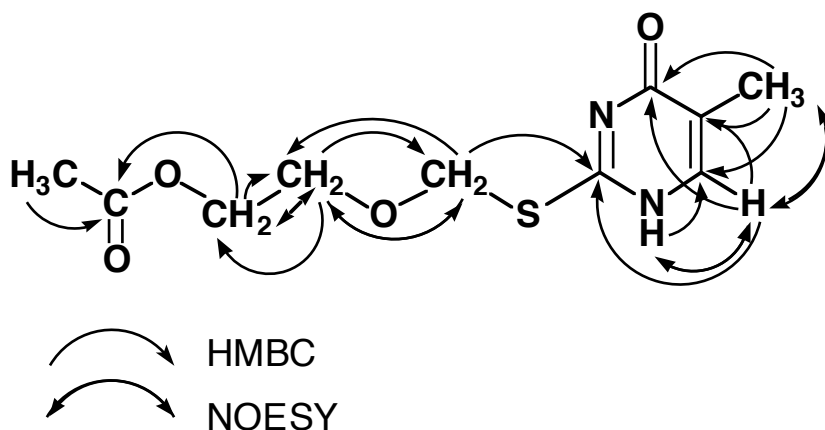
Kim²⁸らの方法を用いた、1-[(2-acetoxyethoxy)methyl]-2-thiothymine (15a) 合成の試み

2-Thiothymine (**14a**, 142 mg, 1 mmol) を HMDS (10 mL) に懸濁し、(NH₄)₂SO₄ (10 mg) を加え6時間還流した。得られた溶液を室温まで冷却し、減圧濃縮した。残渣のオイルを MeCN (10 mL) に溶かし、(2-acetoxyethoxy)methyl acetate (192 mg, 1.2 mmol) と CsI (260 mg, 1 mmol) を加え、3時間攪拌下還流した。反応液を室温まで冷却し、減圧濃縮後、残渣に水 (20 mL) を加え、CHCl₃ (20 mL x 4) で抽出した。有機層を MgSO₄ で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃-MeOH; 20:1, v/v) で精製し、2種の生成物を得た。両生成物はそれぞれ Et₂O で結晶化した。

主生成物: 2-[(2-Acetoxyethoxy)methyl]thio}-5-methyl-4(1*H*)-pyrimidone (**69**)

Yield 104 mg (40%); mp 149–151 °C (Et₂O); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 286 nm (ϵ 9600); MS m/z 258 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.05 (s, 3H, 5-Me), 2.08 (s, 3H, MeCO), 3.85 (t, J = 4.5 Hz, 2H, AcOCH₂CH₂O), 4.26 (t, J = 4.5 Hz, 2H, AcOCH₂CH₂O), 5.42, (s, 2H, SCH₂O), 7.75 (s, 1H, 6-H), 11.84 (br, 1H, NH); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 12.7 (5-Me), 20.8 (MeCO), 62.8 (AcOCH₂CH₂O), 67.3 (AcOCH₂CH₂O), 72.5 (SCH₂O), 121.3 (C-5), 151.5 (C-6), 156.9 (C-2), 164.4 (C-4), 170.9 (MeCO). Anal. Calcd. for C₁₀H₁₄N₂O₄S: C, 46.50; H, 5.46; N, 10.85. Found: C, 46.29; H, 5.52; N, 10.83.

69について、HMBCおよびNOESYで下図のような相関が認められ、表題化合物であることを確認した。



副生成物: 1-[(2-Acetoxyethoxy)methyl]-2-thiothymine (**15a**)

Yield 12 mg (4.6%); mp 115.5–117 °C (Et₂O); UV (MeOH) λ_{max} 281 nm; MS m/z 258 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.00 (s, 3H, 5-Me), 2.09 (s, 3H, MeCO), 3.89 (t, J = 4.5 Hz, 2H, AcOCH₂CH₂O), 4.24 (t, J = 4.5 Hz, 2H, AcOCH₂CH₂O), 5.67, (s, 2H, NCH₂O), 7.32 (s, 1H, 6-H), 9.90 (br, 1H, NH); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 12.6 (5-Me), 20.8 (MeCO), 62.9 (AcOCH₂CH₂O), 68.0 (AcOCH₂CH₂O), 81.2 (NCH₂O), 116.9 (C-5), 139.1 (C-6), 160.7 (C-2), 170.8 (C-4), 176.1 (MeCO).

HPLCを用いた5-ethyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-2-thiouracil (**74**) の合成時の反応追跡

5-Ethyl-2-thiouracil (**30a**; 1.56 g, 10 mmol) を MeCN (15 mL) に懸濁し、BSA (5.5 mL, 22 mmol) を加え、室温、20 分間攪拌すると溶液になった。この溶液に 1,3-dioxolane (**70**; 0.7 mL, 10 mmol)、KI (1.7 g, 10 mmol)、および Me₃SiCl (1.4 mL, 10 mmol) を加え、室温、16 時間攪拌した。ここで ODS シリカゲルカラムを用いた HPLC [MeCN-H₂O; 15:85, v/v, 1 mL/min, UV (280 nm) detection] で反応液を分析し、**74** (rt = 4.7 min)、**30a** (rt = 3.8 min)、および未知物質 **A** (rt = 5.5 min) のピーク面積の比率を求めた。その後、上記の反応液に **70** (0.7 mL, 10 mmol)、KI (1.7 g, 10 mmol)、および Me₃SiCl (1.4 mL, 10 mmol) を加え、室温で、さらに 16 時間攪拌した。ここで再度 HPLC 分析を行い、**74**、**30a**、未知物質 **A**、および未知物質 **B** (rt = 8.5 min) のピーク面積の比率を求めた。また、反応液を MeOH に加え、室温、5 分間放置後、HPLC 分析を行った。

74 の合成

30a (1.56 g, 10 mmol) を MeCN (15 mL) に懸濁し、BSA (5.5 mL, 22 mmol) を加え、室温、20 分間攪拌すると溶液になった。この溶液に **70** (1.4 mL, 20 mmol)、KI (3.4 g, 20 mmol)、および Me₃SiCl (2.8 mL, 20 mmol) を加え、室温、16 時間攪拌した。反応液を MeOH (20 mL) に加え、室温、5 分間放置後、NaHCO₃ (4 g) を加え中和した。反

応液を濾過し固形物を除去し、濾液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃-MeOH; 95:5, v/v) で精製後、2-butanone より結晶化し **74** を得た。

Yield 1.84 g (80%); mp 114–116 °C (2-butanone); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 280 nm (ϵ 18000); MS m/z 230 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.17 (t, J = 7.5 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 2.42 (qd, J = 7.5, 1.0 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 3.80 (s, 4H, OCH₂CH₂O), 5.68 (s, 2H, NCH₂O), 7.30 (t, J = 1.0 Hz, 1H, 6-H), 9.91 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₉H₁₄N₂O₃S: C, 46.94; H, 6.13; N, 12.16. Found: C, 46.74; H, 6.27; N, 12.06.

1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-5-isopropyl-2-thiouracil (**75**)

5-Isopropyl-2-thiouracil (**30c**; 1.70 g, 10 mmol) より **74** の場合と同様にし、EtOH-H₂O より結晶化し **75** を得た。

Yield 1.93 g (79%); mp 126.5–127.5 °C (EtOH-H₂O); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 280 nm (ϵ 17000); MS m/z 244 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.19 (d, J = 6.9 Hz, 6H, CHMe₂), 2.93 (m, 1H, CHMe₂), 3.80 (s, 4H, OCH₂CH₂O), 5.67 (s, 2H, NCH₂O), 7.23 (d, J = 0.8 Hz, 1H, 6-H), 9.40 (br, 1H, NH). Anal. C₁₀H₁₆N₂O₃S: C, 49.16; H, 6.60; N, 11.47; S, 8.94. Found: C, 49.06; H, 6.59; N, 11.24.

1-(Ethoxymethyl)-5-ethyl-2-thiouracil (**76a**)

1) Bu₄Ni を使用した場合

30a (1.56 g, 10 mmol) を CH₂Cl₂ (15 mL) に懸濁し、BSA (5.5 mL, 22 mmol) を加え、室温、20 分間攪拌すると溶液になった。溶液に Bu₄Ni (37 mg, 0.1 mmol) と chloromethyl ethyl ether (1.2 mL, 12 mmol) を加え、還流下 2 時間攪拌した。反応液を室温まで冷却し、飽和 NaHCO₃ 水 (10 mL) と氷 (5 mL) に加え 30 分間攪拌した。有機層を飽和 NaCl 水 (10 mL) で洗浄後、MgSO₄ で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃) で精製後、isopropanol より結晶化し **76a** を得た。

Yield 321 mg (15%); mp 111–112 °C (isopropanol); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 281 nm (ϵ 16600); MS m/z 214 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.17 (t, J = 7.5 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 1.25 (t, J = 7.0 Hz, 3H, OCH₂Me), 2.43 (qd, J = 7.4, 1.0 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 3.70 (q, J = 7.0 Hz, 2H, OCH₂Me), 5.62 (s, 2H, NCH₂O), 7.28 (t, J = 1.0 Hz, 1H, 6-H), 9.96 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₉H₁₄N₂O₂S: C, 50.45; H, 6.59; N, 13.07; S, 14.96. Found: C, 50.21; H, 6.51; N, 13.07; S, 15.21.

2) CsI を使用した場合

30a (1.56 g, 10 mmol) を HMDS (30 mL) に懸濁し、(NH₄)₂SO₄ (200 mg) を加え、15 時間還流した。得られた溶液を室温まで冷却し、減圧濃縮した。残渣のオイルを MeCN (50 mL) に溶かし、chloromethyl ethyl ether (1.2 mL, 12 mmol) と CsI (2.6 g, 10 mmol) を加え、還流下 2 時間攪拌した。反応液を室温まで冷却し、水 (50 mL) と EtOAc (150 mL) 加え分配した。有機層を飽和 NaHCO₃ 水 (50 mL) および飽和 NaCl 水

(50 mL) で洗浄後、MgSO₄ で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃) で精製後、isopropanol より再結晶し **76a** を 792 mg (37%) 得た。

3) **30a** のシリル体と chloromethyl ethyl ether との反応条件の検討

30a (1.56 g, 10 mmol) を MeCN (25 mL) に懸濁し、BSA (5.5 mL, 22 mmol) を加え、室温、20 分間攪拌すると溶液になった。溶液に iodide (20 mmol) と種々の量の chloromethyl ethyl ether を加え、異なる反応温度で攪拌した。一定時間後、反応液を MeOH に加え反応を止め、HPLC [MeCN-H₂O; 1:1, v/v, 1 mL/min, UV (280 nm) detection] で分析し、**76a** (rt = 3.1 min)、**30a** (rt = 1.9 min)、および副生物 (rt = 7.7 min) のピーク面積の比率を求めた。

4) KI および chloromethyl ethyl ether を各 2 当量用いた合成法

30a (1.56 g, 10 mmol) を MeCN (25 mL) に懸濁し、BSA (5.5 mL, 22 mmol) を加え、室温、20 分間攪拌すると溶液になった。溶液を 0 °C に冷却し、KI (3.32 g, 20 mmol) と chloromethyl ethyl ether (2.0 mL, 20 mmol) を加え、0 °C、1 時間攪拌した。反応液に水 (13 mL) を加え、室温、30 分間攪拌後、飽和 NaHCO₃ 水 (13 mL) を加え、さらに室温、30 分間攪拌した。溶液に EtOAc (50 mL) を加え分配し、有機層を飽和 NaCl 水 (50 mL) で洗浄後、MgSO₄ で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残査を isopropanol より再結晶し **76a** を 1.71 g (87%) 得た。

上記の KI および alkyl chloromethyl ether を各 2 当量用いた方法により、**30a,c** および **77** より以下の 5-alkyl-1-[(alkyloxy)methyl]-2-thiouracils (**76b-k**) を合成した。

5-Ethyl-1-[(isopropoxy)methyl]-2-thiouracil (**76b**)

Yield 75%; mp 124–125 °C (isopropanol); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 281 nm (ϵ 16100); MS m/z 228 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.17 (t, J = 7.6 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 1.23 (d, J = 6.3 Hz, 6H, OCHMe₂), 2.42 (qd, J = 7.4, 1.1 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 3.90 (m, 1H, OCHMe₂), 5.62 (s, 2H, NCH₂O), 7.30 (t, J = 1.1 Hz, 1H, 6-H), 9.62 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₀H₁₆N₂O₂S: C, 52.61; H, 7.06; N, 12.27; S, 14.04. Found: C, 52.74; H, 7.11; N, 12.45; S, 14.30.

1-[(Cyclohexyloxy)methyl]-5-ethyl-2-thiouracil (**76c**)

Yield 56%; mp 123–124 °C (isopropanol); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 281 nm (ϵ 16000); MS m/z 268 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.17 (t, J = 7.4 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 1.20–1.95 (m, 10H, cyclohexyl), 2.43 (qd, J = 7.4, 1.0 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 3.57 (m, 1H, OCH), 5.64 (s, 2H, NCH₂O), 7.32 (t, J = 1.0 Hz, 1H, 6-H), 9.73 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₃H₂₀N₂O₂S: C, 58.18; H, 7.51; N, 10.44; S, 11.95. Found: C, 58.01; H, 7.43; N, 10.36; S, 11.88.

1-[(Cyclohexylmethoxy)methyl]-5-ethyl-2-thiouracil (**76d**)

Yield 66%; mp 96–97 °C (isopropanol); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 281 nm (ϵ 16500); MS m/z 282 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.88–1.79 (m, 11H, cyclohexyl), 1.16 (t, J = 7.5 Hz, 3H,

5-CH₂Me), 2.42 (qd, *J* = 7.5, 1.1 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 3.40 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H, OCH₂), 5.60 (s, 2H, NCH₂O), 7.26 (t, *J* = 1.1 Hz, 1H, 6-H), 9.61 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₄H₂₂N₂O₂S: C, 59.54; H, 7.85; N, 9.92; S, 11.35. Found: C, 59.42; H, 7.82; N, 9.79; S, 11.46.

1-[(Benzyloxy)methyl]-5-ethyl-2-thiouracil (76e)

Yield 87%; mp 94 °C (isopropanol); UV (MeOH) λ_{max} 282 nm (ε 16400); MS *m/z* 276 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.12 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 2.36 (qd, *J* = 7.4, 1.0 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 4.71 (s, 2H, CH₂Ph), 5.71 (s, 2H, NCH₂O), 7.20 (t, *J* = 1.0 Hz, 1H, 6-H), 7.30–7.41 (m, 5H, CH₂Ph), 9.69 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₄H₁₆N₂O₂S: C, 60.85; H, 5.84; N, 10.14; S, 11.60. Found: C, 60.47; H, 5.73; N, 10.00; S, 11.85.

5-Ethyl-1-[(4-methylbenzyloxy)methyl]-2-thiouracil (76f)

Yield 79%; mp 110–111 °C (isopropanol); UV (MeOH) λ_{max} 282 nm (ε 16200); MS *m/z* 290 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.12 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 2.27–2.41 (m, 5H, 5-CH₂Me, ArMe), 4.66 (s, 2H, CH₂Ar), 5.68 (s, 2H, NCH₂O), 7.12–7.31 (m, 5H, 6-H, ArMe), 9.37 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₅H₁₈N₂O₂S: C, 62.04; H, 6.25; N, 9.65; S, 11.04. Found: C, 61.73; H, 6.21; N, 9.53; S, 11.12.

1-[(4-Chlorobenzyloxy)methyl]-5-ethyl-2-thiouracil (76g)

Yield 87%; mp 101–102 °C (isopropanol); UV (MeOH) λ_{max} 282 nm (ε 16700); MS *m/z* 312, 310 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.14 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 2.39 (qd, *J* = 7.4, 1.1 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 4.68 (s, 2H, CH₂Ar), 5.69 (s, 2H, NCH₂O), 7.20 (t, *J* = 1.1 Hz, 1H, 6-H), 7.25–7.37 (m, 4H, CH₂Ar), 9.58 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₄H₁₅ClN₂O₂S: C, 54.10; H, 4.86; N, 9.01; S, 10.32. Found: C, 54.29; H, 4.87; N, 9.05; S, 10.52.

5-Ethyl-1-[(2-phenylethoxy)methyl]-2-thiouracil (76h)

Yield 72%; mp 129–130 °C (isopropanol); UV (MeOH) λ_{max} 280 nm (ε 18200); MS *m/z* 290 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.07 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 2.29 (qd, *J* = 7.4, 1.0 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 2.91 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂CH₂Ph), 3.89 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂CH₂Ph), 5.60 (s, 2H, NCH₂O), 7.00 (t, *J* = 1.0 Hz, 1H, 6-H), 7.18–7.33 (m, 5H, CH₂CH₂Ph), 9.59 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₅H₁₈N₂O₂S: C, 62.04; H, 6.25; N, 9.65; S, 11.04. Found: C, 62.34; H, 6.15; N, 9.65; S, 10.96.

1-(Ethoxymethyl)-5-isopropyl-2-thiouracil (76i)

Yield 89%; mp 93–94 °C (isopropanol); UV (MeOH) λ_{max} 281 nm (ε 16700); MS *m/z* 228 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.19 (t, *J* = 6.9 Hz, 6H, 5-CHMe₂), 1.25 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, OCH₂Me), 2.94 (m, 1H, 5-CHMe₂), 3.69 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, OCH₂Me), 5.61 (s, 2H, NCH₂O), 7.23 (d, *J* = 0.8 Hz, 1H, 6-H), 9.52 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₀H₁₆N₂O₂S: C, 52.61; H, 7.06; N, 12.27; S, 14.04. Found: C, 52.77; H, 7.12; N, 12.34; S, 14.27.

1-(Benzyloxymethyl)-5-isopropyl-2-thiouracil (76j)

Yield 66%; mp 104–105 °C (isopropanol); UV (MeOH) λ_{max} 281 nm (ϵ 15100); MS m/z 290 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.14 (d, J = 6.9 Hz, 6H, 5- CHMe_2), 2.88 (m, 1H, 5- CHMe_2), 4.71 (s, 2H, CH_2Ph), 5.70 (s, 2H, NCH_2O), 7.16 (d, J = 0.7 Hz, 1H, 6-H), 7.32–7.42 (m, 5H, CH_2Ph), 9.31 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$: C, 62.04; H, 6.25; N, 9.65; S, 11.04. Found: C, 61.96; H, 6.31; N, 9.58; S, 11.40.

5-Cyclopropyl-1-(ethoxymethyl)-2-thiouracil (76k)

Yield 79%; mp 111–112 °C (isopropanol); UV (MeOH) λ_{max} 283 nm (ϵ 17700); MS m/z 226 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.59–0.67 (m, 2H, cyclopropyl), 0.89–0.97 (m, 2H, cyclopropyl), 1.24 (t, J = 7.0 Hz, 3H, OCH_2Me), 1.70–1.81 (m, 1H, cyclopropyl), 3.67 (q, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2Me), 5.58 (s, 2H, NCH_2O), 7.11 (d, J = 0.8 Hz, 1H, 6-H), 9.50 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$: C, 53.08; H, 6.24; N, 12.38; S, 14.17. Found: C, 53.00; H, 6.35; N, 12.40; S, 14.39.

第2章第2節の実験

5-Alkyl-6-(aryltio)-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-2-thiouracils (78a-c) の一般合成法

32a,c (2 mmol) の THF (8 mL) 溶液を -70°C に冷却し、窒素気流下、0.5 M LDA-THF 溶液 (10 mL, 5 mmol) を反応液温が -70°C を越えないように滴下した。1時間攪拌後、diaryl disulfide (873 mg, 4 mmol) の THF (5 mL) 溶液を反応液温が -70°C を越えないように滴下し、さらに1時間攪拌した。その後、反応液に濃塩酸を加え pH 1.2 にし、室温まで温度を上げ、2時間攪拌した。反応液を水 (20 mL) に加え、EtOAc (30 mL) で抽出した。有機層を飽和 NaHCO_3 水 (20 mL) および飽和 NaCl 水 (20 mL) で洗浄後、 MgSO_4 で乾燥、濾過、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 -hexane; 8:2, v/v) で精製後、適当な溶媒で結晶化し目的物を得た。

6-[(3,5-Dimethylphenyl)thio]-5-ethyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-2-thiouracil (78a)

Bis(3,5-dimethylphenyl) disulfide を用い、**32a** より合成した。

Yield 55%; mp 121–123 °C (acetone-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 283 nm (ϵ 20000), 247 nm (ϵ 12000); MS m/z 366 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.00 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH_2Me), 1.92 (t, J = 6.0 Hz, 1H, OH), 2.29 (s, 6H, SArMe_2), 2.68 (q, J = 7.0 Hz, 2H, CH_2Me), 3.58–3.83 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.05 (s, 2H, NCH_2O), 6.80 [s, 2H, SAr(H-2,6)], 6.90 [s, 1H, SAr(H-4)], 9.63 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$: C, 55.71; H, 6.05; N, 7.64; S, 17.50. Found: C, 55.70; H, 6.19; N, 7.51; S, 17.68.

6-[(3,5-Dimethylphenyl)thio]-5-isopropyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-2-thiouracil (78b)

Bis(3,5-dimethylphenyl) disulfide を用い、**32c** より合成した。

Yield 29%; mp 140–141 °C (hexane); UV (MeOH) λ_{max} 283 nm (ϵ 20000), 249 nm (ϵ

11000); MS m/z 380 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.16 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H, CHMe_2), 2.29 (s, 6H, SArMe_2), 3.45 (m, 1H, CHMe_2), 3.60–3.80 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.12 (s, 2H, NCH_2O), 6.81 [s, 2H, SAr(H-2,6)], 6.90 [s, 1H, SAr(H-4)], 9.61 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$: C, 56.82; H, 6.36; N, 7.36; S, 16.85. Found: C, 56.66; H, 6.41; N, 7.29; S, 17.24.

6-[(3,5-Dichlorophenyl)thio]-5-ethyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-2-thiouracil (78c)

Bis(3,5-dichlorophenyl) disulfide を用い、**32a** より合成した。

Yield 36%; mp 91–93 °C (hexane); UV (MeOH) λ_{max} 282 nm (ϵ 21000), 254 nm (ϵ 13000); MS m/z 406, 408, 410 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.03 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH_2Me), 2.65 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, CH_2Me), 3.55–3.86 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 6.07 (s, 2H, NCH_2O), 7.09 [d, $J = 2.0$ Hz, 2H, SAr(H-2,6)], 7.27 [t, $J = 2.0$ Hz, 1H, SAr(H-4)], 9.66 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$: C, 44.23; H, 3.96; N, 6.88; S, 15.74. Found: C, 44.17; H, 3.93; N, 6.65; S, 15.89.

5-Alkyl-6-(arylthio)-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]uracils (79a-c) の一般合成法

78a-c (10 mmol) を 1N NaOH 水 (80 mL) に懸濁し、35% H_2O_2 (6 mL, 60 mmol) を加え、室温、1時間攪拌した。反応液を濃塩酸で中和し、析出する沈澱を濾取した。沈澱を飽和 NaHCO_3 水 (3 x 50 mL) および水 (3 x 50 mL) で洗浄後、減圧下乾燥した。沈澱を EtOAc-hexane で再結晶し目的物を得た。

6-[(3,5-Dimethylphenyl)thio]-5-ethyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]uracil (79a)

Yield 83%; mp 121–125 °C (EtOAc-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 275 nm (ϵ 9500), 247 nm (ϵ 11000); MS m/z 350 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.03 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH_2Me), 2.28 (s, 6H, SArMe_2), 2.69 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH_2Me), 3.64 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.50 (s, 2H, NCH_2O), 6.80 [s, 2H, SAr(H-2,6)], 6.89 [s, 1H, SAr(H-4)], 8.48 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 58.27; H, 6.33; N, 7.99; S, 9.15. Found: C, 58.08; H, 6.39; N, 7.98; S, 9.46.

6-[(3,5-Dimethylphenyl)thio]-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-5-isopropyluracil (79b)

Yield 84%; mp 138–139 °C (EtOAc-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 274 nm (ϵ 8500), 249 nm (ϵ 9900); MS m/z 364 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.20 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H, CHMe_2), 2.29 (s, 6H, SArMe_2), 3.50 (m, 1H, CHMe_2), 3.66 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.56 (s, 2H, NCH_2O), 6.81 [s, 2H, SAr(H-2,6)], 6.89 [s, 1H, SAr(H-4)], 8.59 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 59.32; H, 6.64; N, 7.69; S, 8.80. Found: C, 59.05; H, 6.66; N, 7.62; S, 8.69.

6-[(3,5-Dichlorophenyl)thio]-5-ethyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]uracil (79c)

Yield 40%; mp 93–95 °C (EtOAc-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 272 nm (ϵ 9300), 252 nm (ϵ 12000); MS m/z 390, 392, 394 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.04 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, CH_2Me), 2.66 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H, CH_2Me), 3.64 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.51 (s, 2H, NCH_2O), 7.08 [s, 2H, SAr(H-2,6)], 7.26 [s, 1H, SAr(H-4)], 8.45 (br, 1H, NH). Anal.

Calcd. for $C_{15}H_{16}Cl_2N_2O_4S \cdot 1/4H_2O$: C, 45.52; H, 4.20; N, 7.08; S, 8.10. Found: C, 45.51; H, 4.04; N, 6.93; S, 8.37.

5-Alkyl-1-[(alkyloxy)methyl]-6-(arylthio)-2-thiouracils (80a-n) の一般合成法

76a-k (2 mmol) の THF (8 mL) 溶液を -70°C に冷却し、窒素気流下、0.5 M LDA-THF 溶液 (10 mL, 5 mmol) を反応液温が -70°C を越えないように滴下した。1 時間攪拌後、diaryl disulfide (873 mg, 4 mmol) の THF (5 mL) 溶液を反応液温が -70°C を越えないように滴下し、さらに 1 時間攪拌した。反応液を濃塩酸で中和後、室温にもどし、飽和 NaCl 水 (20 mL) と EtOAc (30 mL) を加え分配した。有機層を飽和 NaHCO_3 水 (20 mL) および飽和 NaCl 水 (20 mL) で洗浄後、 MgSO_4 で乾燥、濾過、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 -hexane; 8:2, v/v) で精製後、適当な溶媒で結晶化し目的物を得た。

1-(Ethoxymethyl)-5-ethyl-6-(phenylthio)-2-thiouracil (80a)

Yield 88%; mp $106\text{--}109^\circ\text{C}$ (EtOAc-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 282 nm (ϵ 21100); MS m/z 322 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.95 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, $5\text{-CH}_2\text{Me}$), 1.13 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, OCH_2Me), 2.65 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, $5\text{-CH}_2\text{Me}$), 3.67 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH_2Me), 6.04 (s, 2H, NCH_2O), 7.15–7.42 (m, 5H, SPh), 9.51 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $C_{15}H_{18}N_2O_2S_2$: C, 55.88; H, 5.63; N, 8.69; S, 19.89. Found: C, 56.01; H, 5.65; N, 8.68; S, 20.03.

6-[(3,5-Dimethylphenyl)thio]-1-(ethoxymethyl)-5-ethyl-2-thiouracil (80b)

Yield 63%; mp $155\text{--}156^\circ\text{C}$ (EtOAc-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 283 nm (ϵ 22200), 247 nm (ϵ 12900); MS m/z 350 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.96 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, $5\text{-CH}_2\text{Me}$), 1.16 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH_2Me), 2.28 (s, 6H, SArMe_2), 2.65 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, $5\text{-CH}_2\text{Me}$), 3.69 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH_2Me), 6.04 (s, 2H, NCH_2O), 6.80 [s, 2H, SAr(H-2,6)], 6.89 [s, 1H, SAr(H-4)], 9.46 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $C_{17}H_{22}N_2O_2S_2$: C, 58.26; H, 6.33; N, 7.99; S, 18.29. Found: C, 58.45; H, 6.39; N, 7.94; S, 18.19.

6-[(3,5-Dichlorophenyl)thio]-1-(ethoxymethyl)-5-ethyl-2-thiouracil (80c)

Yield 42%; mp $126\text{--}116^\circ\text{C}$ (EtOAc-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 282 nm (ϵ 22600), 255 nm (ϵ 13900); MS m/z 394, 392, 390 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.01 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, $5\text{-CH}_2\text{Me}$), 1.10 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, OCH_2Me), 2.63 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H, $5\text{-CH}_2\text{Me}$), 3.67 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH_2Me), 6.05 (s, 2H, NCH_2O), 7.08 [d, $J = 1.8$ Hz, 2H, SAr(H-2,6)], 7.26 [t, $J = 1.8$ Hz, 1H, SAr(H-4)], 9.40 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $C_{15}H_{16}Cl_2N_2O_2S_2$: C, 46.04; H, 4.12; N, 7.16; S, 16.39. Found: C, 46.01; H, 4.08; N, 6.77; S, 16.30.

5-Ethyl-1-[(isopropoxy)methyl]-6-(phenylthio)-2-thiouracil (80d)

Yield 63%; mp $141\text{--}142^\circ\text{C}$ (EtOAc-hexane); UV (MeOH) λ_{max} 283 nm (ϵ 21200); MS m/z 336 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.93 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, $5\text{-CH}_2\text{Me}$), 1.14 (d, $J =$

6.1 Hz, 6H, OCHMe₂), 2.63 (q, J = 7.4 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 3.96 (m, 2H, OCHMe₂), 6.05 (s, 2H, NCH₂O), 7.18–7.37 (m, 5H, SPh), 9.50 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₆H₂₀N₂O₂S₂: C, 57.12; H, 5.99; N, 8.33; S, 19.06. Found: C, 57.09; H, 6.04; N, 8.32; S, 19.03.

1-[(Cyclohexyloxy)methyl]-5-ethyl-6-(phenylthio)-2-thiouracil (80e)

Yield 71%; mp 139–141 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 282 nm (ϵ 20800); MS m/z 376 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.92 (t, J = 7.4 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 1.17–1.84 (m, 10H, cyclohexyl), 2.62 (q, J = 7.4 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 3.64 (m, 1H, OCH), 6.05 (s, 2H, NCH₂O), 7.19–7.38 (m, 5H, SPh), 9.52 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₁₉H₂₄N₂O₂S₂: C, 60.61; H, 6.42; N, 7.44; S, 17.03. Found: C, 60.59; H, 6.49; N, 7.41; S, 17.17.

1-[(Cyclohexylmethoxy)methyl]-5-ethyl-6-(phenylthio)-2-thiouracil (80f)

Yield 72%; mp 134–135 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 282 nm (ϵ 20000); MS m/z 390 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.82–1.72 (m, 11H, cyclohexyl), 0.94 (t, J = 7.4 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 2.63 (q, J = 7.4 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 3.40 (d, J = 6.4 Hz, 2H, OCH₂), 6.04 (s, 2H, NCH₂O), 7.17–7.38 (m, 5H, SPh), 9.54 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₂₀H₂₆N₂O₂S₂: C, 61.51; H, 6.71; N, 7.17; S, 16.42. Found: C, 61.37; H, 6.78; N, 7.11; S, 16.39.

1-[(Benzyloxy)methyl]-5-ethyl-6-(phenylthio)-2-thiouracil (80g)

Yield 89%; mp 151–152 °C (EtOH); UV (MeOH) λ_{max} 283 nm (ϵ 20200); MS m/z 384 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.92 (t, J = 7.4 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 2.60 (q, J = 7.4 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 4.73 (s, 2H, CH₂Ph), 6.10 (s, 2H, NCH₂O), 7.10–7.40 (m, 10H, SPh, CH₂Ph), 9.38 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₂₀H₂₀N₂O₂S₂: C, 62.47; H, 5.24; N, 7.29; S, 16.68. Found: C, 62.68; H, 5.30; N, 7.22; S, 16.82.

1-[(Benzyloxy)methyl]-6-[(3,5-dimethylphenyl)thio]-5-ethyl-2-thiouracil (80h)

Yield 66%; mp 158–160 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 284 nm (ϵ 20500), 247 nm (ϵ 12600); MS m/z 412 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.95 (t, J = 7.4 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 2.24 (s, 6H, SArMe₂), 2.61 (q, J = 7.4 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 4.74 (s, 2H, CH₂Ph), 6.09 (s, 2H, NCH₂O), 6.74 [s, 2H, SAr(H-2,6)], 6.86 [s, 1H, SAr(H-4)], 7.30–7.35 (m, 5H, CH₂Ph), 9.49 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₂₂H₂₄N₂O₂S₂: C, 64.05; H, 5.86; N, 6.79; S, 15.54. Found: C, 64.11; H, 5.92; N, 6.72; S, 15.46.

5-Ethyl-1-[(4-methylbenzyloxy)methyl]-6-(phenylthio)-2-thiouracil (80i)

Yield 59%; mp 157–160 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 284 nm (ϵ 19900); MS m/z 398 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.91 (t, J = 7.5 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 2.33 (s, 3H, ArMe), 2.59 (q, J = 7.5 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 4.69 (s, 2H, OCH₂Ar), 6.09 (s, 2H, NCH₂O), 7.05–7.39 (m, 9H, SPh, ArMe), 9.46 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for C₂₁H₂₂N₂O₂S₂: C, 63.29; H, 5.56; N, 7.03; S, 16.09. Found: C, 63.28; H, 5.54; N, 7.01; S, 16.34.

1-[(4-Chlorobenzyloxy)methyl]-5-ethyl-6-(phenylthio)-2-thiouracil (80j)

Yield 36%; mp 132–134 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 283 nm (ϵ 22200); MS m/z 420, 418 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.94 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, 5- CH_2Me), 2.59 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, 5- CH_2Me), 4.68 (s, 2H, OCH_2Ar), 6.08 (s, 2H, NCH_2O), 7.08–7.33 (m, 9H, SPh, OCH_2Ar), 9.42 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}_2$: C, 57.34; H, 4.57; N, 6.69; S, 15.30. Found: C, 57.63; H, 4.57; N, 6.61; S, 15.07.

5-Ethyl-1-[(2-phenylethoxy)methyl]-6-(phenylthio)-2-thiouracil (80k)

Yield 32%; mp 136–138 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 283 nm (ϵ 21100), 240 nm (ϵ 14400); MS m/z 398 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.91 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, 5- CH_2Me), 2.60 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, 5- CH_2Me), 2.79 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 3.88 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 6.05 (s, 2H, NCH_2O), 7.06–7.40 (m, 10H, SPh, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 9.56 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$: C, 63.29; H, 5.56; N, 7.03; S, 16.09. Found: C, 63.07; H, 5.52; N, 6.96; S, 16.33.

1-(Ethoxymethyl)-5-isopropyl-6-(phenylthio)-2-thiouracil (80l)

Yield 70%; mp 138–140 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 282 nm (ϵ 21400), 243 nm (ϵ 11800); MS m/z 336 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.08–1.21 (m, 9H, OCH_2Me , 5- CHMe_2), 3.44 (m, 1H, 5- CHMe_2), 3.69 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH_2Me), 6.12 (s, 2H, NCH_2O), 7.18–7.39 (m, 5H, SPh), 9.48 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$: C, 57.12; H, 5.99; N, 8.33; S, 19.06. Found: C, 56.90; H, 6.07; N, 8.33; S, 19.24.

1-[(Benzyloxy)methyl]-5-isopropyl-6-(phenylthio)-2-thiouracil (80m)

Yield 31%; mp 165–168 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 283 nm (ϵ 21400); MS m/z 398 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.08 (t, $J = 7.0$ Hz, 6H, 5- CHMe_2), 3.41 (m, 1H, 5- CHMe_2), 4.75 (s, 2H, CH_2Ph), 6.10 (s, 2H, NCH_2O), 7.12–7.42 (m, 10H, SPh, CH_2Ph), 9.29 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$: C, 63.29; H, 5.56; N, 7.03; S, 16.09. Found: C, 63.39; H, 5.58; N, 7.00; S, 16.17.

5-Cyclopropyl-1-(ethoxymethyl)-6-(phenylthio)-2-thiouracil (80n)

Yield 85%; mp 123–124 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 287 nm (ϵ 22400); MS m/z 334 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.67–0.75 (m, 2H, cyclopropyl), 1.01–1.12 (m, 2H, cyclopropyl), 1.20 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, OCH_2Me), 1.36–1.45 (m, 1H, cyclopropyl), 3.70 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH_2Me), 6.20 (s, 2H, NCH_2O), 7.25–7.37 (m, 5H, SPh), 9.55 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$: C, 57.46; H, 5.42; N, 8.38; S, 19.17. Found: C, 57.50; H, 5.46; N, 8.37; S, 19.09.

5-Alkyl-1-[(alkyloxy)methyl]-6-(arylthio)uracils (81a-l) の一般合成法

80a-h, 80k-n (10 mmol) を 1N NaOH 水 (80 mL) に懸濁し、35% H_2O_2 (6 mL, 60 mmol) を加え、室温、1時間攪拌した。反応液を濃塩酸で中和し、析出する沈澱を濾取した。沈澱を飽和 NaHCO_3 水 (3 x 50 mL) および水 (3 x 50 mL) で洗浄後、減圧下乾燥した。沈澱を EtOAc–hexane で再結晶し目的物を得た。

1-(Ethoxymethyl)-5-ethyl-6-(phenylthio)uracil (81a)

Yield 77%; mp 123–125 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 276 nm (ϵ 9100), 243 nm (ϵ 10300); MS m/z 306 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.99 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, 5- CH_2Me), 1.10 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, OCH_2Me), 2.67 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, 5- CH_2Me), 3.56 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH_2Me), 5.45 (s, 2H, NCH_2O), 7.13–7.39 (m, 5H, SPh), 8.41 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: C, 58.80; H, 5.92; N, 9.14; S, 10.46. Found: C, 58.84; H, 5.87; N, 9.16; S, 10.39.

6-[(3,5-Dimethylphenyl)thio]-1-(ethoxymethyl)-5-ethyluracil (81b)

Yield 85%; mp 165–166 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 276 nm (ϵ 9400), 247 nm (ϵ 10400); MS m/z 334 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.00 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, 5- CH_2Me), 1.13 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, OCH_2Me), 2.28 (s, 6H, SArMe_2), 2.67 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, 5- CH_2Me), 3.58 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH_2Me), 5.45 (s, 2H, NCH_2O), 6.80 [s, 2H, SAr(H-2,6)], 6.87 [s, 1H, SAr(H-4)], 8.54 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: C, 61.06; H, 6.63; N, 8.38; S, 9.59. Found: C, 60.94; H, 6.64; N, 8.34; S, 9.52.

6-[(3,5-Dichlorophenyl)thio]-1-(ethoxymethyl)-5-ethyluracil (81c)

Yield 56%; mp 159–162 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 278 nm (ϵ 10200), 253 nm (ϵ 12300); MS m/z 378, 374, 372 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.03 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, 5- CH_2Me), 1.08 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, OCH_2Me), 2.64 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, 5- CH_2Me), 3.55 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH_2Me), 5.46 (s, 2H, NCH_2O), 7.07 [d, $J = 1.8$ Hz, 2H, SAr(H-2,6)], 7.24 [t, $J = 1.8$ Hz, 1H, SPh (H-4)], 8.31 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{S} \cdot 1/3\text{H}_2\text{O}$: C, 47.25; H, 4.41; N, 7.35; S, 8.41. Found: C, 47.33; H, 4.17; N, 7.04; S, 8.78.

5-Ethyl-1-[(isopropoxy)methyl]-6-(phenylthio)uracil (81d)

Yield 81%; mp 119–121 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 276 nm (ϵ 9000), 243 nm (ϵ 10200); MS m/z 320 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.97 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, 5- CH_2Me), 1.11 (d, $J = 6.1$ Hz, 6H, OCHMe_2), 2.65 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, 5- CH_2Me), 3.80 (m, 2H, OCHMe_2), 5.46 (s, 2H, NCH_2O), 7.18–7.37 (m, 5H, SPh), 8.45 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{S} \cdot 1/5\text{H}_2\text{O}$: C, 59.31; H, 6.35; N, 8.65; S, 9.89. Found: C, 59.37; H, 6.28; N, 8.80; S, 10.06.

1-[(Cyclohexyloxy)methyl]-5-ethyl-6-(phenylthio)uracil (81e)

Yield 79%; mp 167–171 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 276 nm (ϵ 9100), 243 nm (ϵ 10300); MS m/z 360 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.96 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, 5- CH_2Me), 1.17–1.83 (m, 10H, cyclohexyl), 2.65 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, 5- CH_2Me), 3.48 (m, 1H, OCH), 5.49 (s, 2H, NCH_2O), 7.16–7.19 (m, 5H, SPh), 8.44 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: C, 63.31; H, 6.71; N, 7.77; S, 8.89. Found: C, 63.04; H, 6.86; N, 7.70; S, 8.66.

1-[(Cyclohexylmethoxy)methyl]-5-ethyl-6-(phenylthio)uracil (81f)

Yield 83%; mp 115–116 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 276 nm (ϵ 8900), 243 nm (ϵ 10200); MS m/z 374 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.81–1.71 (m, 11H, cyclohexyl), 0.98 (t, J = 7.4 Hz, 3H, 5- CH_2Me), 2.65 (q, J = 7.4 Hz, 2H, 5- CH_2Me), 3.30 (d, J = 6.4 Hz, 2H, OCH_2), 5.44 (s, 2H, NCH_2O), 7.17–7.35 (m, 5H, SPh), 8.14 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: C, 64.15; H, 7.00; N, 7.48; S, 8.56. Found: C, 63.94; H, 7.10; N, 7.44; S, 8.24.

1-[(Benzyloxy)methyl]-5-ethyl-6-(phenylthio)uracil (81g)

Yield 77%; mp 110–112 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 275 nm (ϵ 8700), 243 nm (ϵ 10400); MS m/z 368 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.98 (t, J = 7.5 Hz, 3H, 5- CH_2Me), 2.63 (q, J = 7.5 Hz, 2H, 5- CH_2Me), 4.63 (s, 2H, CH_2Ph), 5.52 (s, 2H, NCH_2O), 7.08–7.37 (m, 10H, SPh, CH_2Ph), 8.25 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: C, 65.19; H, 5.47; N, 7.60; S, 8.70. Found: C, 64.88; H, 5.37; N, 7.53; S, 8.72.

1-[(Benzyloxy)methyl]-6-[(3,5-dimethylphenyl)thio]-5-ethyluracil (81h)

Yield 81%; mp 156–158 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 277 nm (ϵ 9800), 247 nm (ϵ 11000); MS m/z 396 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.99 (t, J = 7.4 Hz, 3H, 5- CH_2Me), 2.24 (s, 6H, SArMe_2), 2.64 (q, J = 7.4 Hz, 2H, 5- CH_2Me), 4.63 (s, 2H, CH_2Ph), 5.51 (s, 2H, NCH_2O), 6.74 [s, 2H, SAr(H-2,6)], 6.84 [s, 1H, SAr(H-4)], 7.22–7.39 (m, 5H, CH_2Ph), 8.39 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3\text{S} \cdot 1/5\text{H}_2\text{O}$: C, 66.04; H, 6.15; N, 7.00; S, 8.01. Found: C, 66.08; H, 6.00; N, 6.98; S, 8.12.

5-Ethyl-1-[(2-phenylethoxy)methyl]-6-(phenylthio)uracil (81i)

Yield 75%; mp 108–110 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 276 nm (ϵ 8900), 243 nm (ϵ 10500); MS m/z 382 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.96 (t, J = 7.4 Hz, 3H, 5- CH_2Me), 2.63 (q, J = 7.4 Hz, 2H, 5- CH_2Me), 2.73 (t, J = 7.0 Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 3.74 (t, J = 7.0 Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 5.44 (s, 2H, NCH_2O), 7.08–7.40 (m, 10H, SPh, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 8.19 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: C, 65.95; H, 5.80; N, 7.32; S, 8.38. Found: C, 65.92; H, 5.78; N, 7.30; S, 8.06.

1-(Ethoxymethyl)-5-isopropyl-6-(phenylthio)uracil (81j)

Yield 65%; mp 112–114 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 274 nm (ϵ 8100), 245 nm (ϵ 9400); MS m/z 320 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.07–1.18 (m, 9H, OCH_2Me , 5- CHMe_2), 3.46–3.60 (m, 3H, OCH_2Me , 5- CHMe_2), 5.51 (s, 2H, NCH_2O), 7.18–7.35 (m, 5H, SPh), 8.42 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{S} \cdot 1/3\text{H}_2\text{O}$: C, 58.88; H, 6.38; N, 8.58; S, 9.82. Found: C, 58.86; H, 6.21; N, 8.70; S, 9.88.

1-[(Benzyloxy)methyl]-5-isopropyl-6-(phenylthio)uracil (81k)

Yield 66%; mp 138–141 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 275 nm (ϵ 9400), 245 nm (ϵ 10900); MS m/z 382 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.14 (t, J = 7.0 Hz, 6H, 5- CHMe_2), 3.46 (m, 1H, 5- CHMe_2), 4.64 (s, 2H, CH_2Ph), 5.58 (s, 2H, NCH_2O), 7.14–7.37 (m, 10H, SPh, CH_2Ph), 8.04 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3\text{S} \cdot 1/6\text{H}_2\text{O}$: C,

65.43; H, 5.84; N, 7.27; S, 8.32. Found: C, 65.45; H, 5.78; N, 7.26; S, 8.41.

5-Cyclopropyl-1-(ethoxymethyl)-6-(phenylthio)uracil (81I)

Yield 91%; mp 94–97 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) λ_{max} 300 nm (ϵ 7200), 285 nm (ϵ 7300), 245 nm (ϵ 9600); MS m/z 318 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.67–0.75 (m, 2H, cyclopropyl), 0.94–1.02 (m, 2H, cyclopropyl), 1.16 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, OCH_2Me), 1.31–1.42 (m, 1H, cyclopropyl), 3.59 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH_2Me), 5.58 (s, 2H, NCH_2O), 7.22–7.35 (m, 5H, SPh), 8.59 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: C, 60.36; H, 5.70; N, 8.80; S, 10.07. Found: C, 60.40; H, 5.76; N, 8.82; S, 9.99.

1-[(Alkyloxy)methyl]-5-ethyluracils (82a,b) の一般合成法

76a あるいは **32a** (10 mmol) を 1N NaOH 水 (80 mL) に懸濁し、35% H_2O_2 (6 mL, 60 mmol) を加え、室温、1時間攪拌した。反応液を濃塩酸で中和し、析出する沈澱を濾取した。沈澱を飽和 NaHCO_3 水 (3 x 50 mL) および水 (3 x 50 mL) で洗浄後、減圧下乾燥した。沈澱を適当な溶媒で再結晶し目的物を得た。

1-(Ethoxymethyl)-5-ethyluracil (82a)

Yield 89%; mp 107 °C (EtOAc–hexane); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.15 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H, $5\text{-CH}_2\text{Me}$), 1.22 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, OCH_2Me), 2.38 (qd, $J = 7.5, 1.1$ Hz, 3H, $5\text{-CH}_2\text{Me}$), 3.61 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH_2Me), 5.15 (s, 2H, NCH_2O), 7.10 (t, $J = 1.1$ Hz, 1H, 6-H), 9.25 (br, 1H, NH).

1-([(2-*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-5-ethyluracil (82b)

Yield 77%; mp 88–90 °C (isopropanol); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.06 (s, 6H, Me_2Si), 0.89 (s, 9H, Me_3C), 1.14 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, $5\text{-CH}_2\text{Me}$), 2.37 (qd, $J = 7.5, 1.1$ Hz, 3H, $5\text{-CH}_2\text{Me}$), 3.64, 3.77 (A_2B_2 , 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.20, (s, 2H, NCH_2O), 7.10 (t, $J = 1.1$ Hz, 1H, 6-H), 8.52 (br, 1H, NH).

6-(Acetoxyarylmethyl)-1-[(alkyloxy)methyl]-5-ethyluracils (84a-d) の一般合成法

1-[(Alkyloxy)methyl]-5-ethyluracil (**82a,b**; 2 mmol) を THF (8 mL) に溶かし -70 °C に冷却した。溶液に 0.5 M LDA–THF 溶液 (8.8 mL, 4.4 mmol) を、窒素気流下、反応液温が -70 °C を越えないように滴下した後、 -70 °C、1時間攪拌した。溶液に aryl aldehyde (3 mmol) の THF (5 mL) 溶液を反応液温が -70 °C を越えないように滴下した後、 -70 °C、1時間攪拌した。反応液を濃塩酸で中和後、室温にもどし、飽和 NaCl 水 (20 mL) と EtOAc (30 mL) を加え分配した。有機層を飽和 NaHCO_3 水 (20 mL) および飽和 NaCl 水 (20 mL) で洗浄後、 MgSO_4 で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残査を pyridine (20 mL) に溶かし Ac_2O (1 mL) を加え、室温、12 時間攪拌した。反応液を飽和 NaHCO_3 水 (30 mL) に加え、EtOAc (3 x 30 mL) で抽出し、有機層を飽和 NaHCO_3 水 (3 x 30 mL) および飽和 NaCl 水 (3 x 30 mL) で洗浄した。有機層を MgSO_4 で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 –hexane; 8:2, v/v) で精製後、適当な溶媒で結晶化し目的物を得た。

6-(Acetoxymethyl)-1-(ethoxymethyl)-5-ethyluracil (84a)

Yield 84% (from **82a**); mp 156–157 °C (EtOH); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.93 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 1.04 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H, OCH₂Me), 2.26 (s, 3H, COMe), 2.44 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 3.57 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H, OCH₂Me), 5.39, 5.52 (ABq, *J* = 10.0 Hz, 2H, NCH₂O), 7.09 (s, 1H, AcOCH), 7.28–7.41 (m, 5H, Ph), 9.26 (br, 1H, NH).

6-[Acetoxy-(3,5-dimethylphenyl)methyl]-1-(ethoxymethyl)-5-ethyluracil (84b)

Yield 60% (from **82a**); mp 148.5 °C (EtOH); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.96 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 1.07 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂Me), 2.25 (s, 3H, COMe), 2.31 (s, 6H, ArMe₂), 2.45 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 3.58 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂Me), 5.37, 5.45 (ABq, *J* = 10.5 Hz, 2H, NCH₂O), 6.84 [s, 2H, Ar(H-2,6)], 6.97 [s, 1H, Ar(H-4)], 7.02 (s, 1H, AcOCH), 8.61 (br, 1H, NH).

6-(Acetoxymethyl)-1-([(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-5-ethyluracil (84c)

Yield 71% (from **82b**); mp 116–118 °C (EtOH-H₂O); ¹H NMR (CDCl₃) δ -0.02 (s, 6H, Me₂Si), 0.83 (s, 9H, Me₃C), 0.94 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 2.26 (s, 3H, COMe), 2.46 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 3.52–3.68 (m, 4H, SiOCH₂CH₂O), 5.41, 5.49 (ABq, *J* = 11.1 Hz, 2H, NCH₂O), 7.08 (s, 1H, AcOCH), 7.27–7.41 (m, 5H, Ph), 8.45 (br, 1H, NH).

6-[Acetoxy-(3,5-dimethylphenyl)methyl]-1-([(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-5-ethyluracil (84d)

Yield 71% (from **82b**); mp 133–134 °C (EtOH-H₂O); ¹H NMR (CDCl₃) δ -0.02 (s, 6H, Me₂Si), 0.83 (s, 9H, Me₃C), 0.98 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 2.31 (s, 3H, COMe), 2.49 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 3.52–3.68 (m, 4H, SiOCH₂CH₂O), 5.40 (s, 2H, NCH₂O), 6.82 [s, 2H, Ar(H-2,6)], 6.97 [s, 1H, Ar(H-4)], 7.02 (s, 1H, AcOCH), 8.41 (br, 1H, NH).

1-[(Alkyloxy)methyl]-6-benzyl-5-ethyluracils (85a-d) の一般合成法

84a-d (1 mmol) の AcOH-H₂O- dioxane (20 mL; 2:1:2, v/v/v) 溶液に Pd-C (10%, 50 mg) を加え、1 気圧の水素雰囲気下 60 °C、15 時間攪拌した。触媒を濾過し、EtOH (2 x 10 mL) で洗浄後、濾液を集め減圧濃縮した。残渣を適当な溶媒より再結晶し目的物を得た。

6-Benzyl-1-(ethoxymethyl)-5-ethyluracil (85a)

Yield 88%; mp 102–104 °C (EtOH); UV (MeOH) λ_{max} 268 nm (ε 10400); MS *m/z* 288 (M⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.07 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 1.19 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, OCH₂Me), 2.47 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H, 5-CH₂Me), 3.60 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, OCH₂Me), 4.16 (s, 2H, CH₂Ph), 5.10 (s, 2H, NCH₂O), 7.10–7.39 (m, 5H, Ph), 8.45 (br, 1H, NH). Anal.Calcd. for C₁₆H₂₀N₂O₃: C, 66.65; H, 6.99; N, 9.72. Found: C, 66.48; H, 6.96; N, 9.86.

6-(3,5-Dimethylbenzyl)-1-(ethoxymethyl)-5-ethyluracil (85b)

Yield 85%; mp 162–163 °C (EtOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 268 nm (ϵ 10400); MS m/z 316 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.08 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H, 5- CH_2Me), 1.23 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, OCH_2Me), 2.28 (s, 6H, ArMe_2), 2.47 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H, 5- CH_2Me), 3.61 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH_2Me), 4.07 (s, 2H, CH_2Ar), 5.11 (s, 2H, NCH_2O), 6.70 [s, 2H, $\text{Ar}(\text{H}-2,6)$], 6.90 [s, 1H, $\text{Ar}(\text{H}-4)$], 8.68 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$: C, 68.33; H, 7.65; N, 8.85. Found: C, 68.06; H, 7.77; N, 8.86.

6-Benzyl-5-ethyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]uracil (85c)

Yield 49%; mp 121–122 °C (EtOAc–hexane); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 268 nm (ϵ 11100); MS m/z 304 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.07 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, 5- CH_2Me), 1.91 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, OH), 2.47 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, 5- CH_2Me), 3.65–3.78 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.14 (s, 2H, CH_2Ph), 5.17 (s, 2H, NCH_2O), 7.13 [dd, $J = 2.0, 6.6$ Hz, 2H, $\text{Ph}(\text{H}-2,6)$], 7.28–7.39 [m, 3H, $\text{Ph}(\text{H}-3,4,5)$], 8.40 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 1/5\text{H}_2\text{O}$: C, 62.41; H, 6.68; N, 9.10. Found: C, 62.41; H, 6.60; N, 9.12.

6-(3,5-Dimethylbenzyl)-5-ethyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]uracil (85d)

Yield 48%; mp 175–177 °C (MeOH– H_2O); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 268 nm (ϵ 10700); MS m/z 332 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.08 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H, 5- CH_2Me), 1.93 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H, OH), 2.29 (s, 6H, ArMe_2), 2.47 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H, 5- CH_2Me), 3.65–3.78 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.06 (s, 2H, CH_2Ar), 5.17 (s, 2H, NCH_2O), 6.70 [s, 2H, $\text{Ar}(\text{H}-2,6)$], 6.91 [s, 1H, $\text{Ar}(\text{H}-4)$], 8.27 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 2/5\text{H}_2\text{O}$: C, 63.66; H, 7.36; N, 8.25. Found: C, 63.54; H, 7.17; N, 8.22.

1-(Ethoxymethyl)-5-isopropyluracil (86)

76i (2.28 g, 10 mmol) を 1N NaOH 水 (80 mL) に懸濁し、35% H_2O_2 (6 mL, 60 mmol) を加え、室温、1時間攪拌した。反応液を濃塩酸で中和し、析出する沈澱を濾取した。沈澱を飽和 NaHCO_3 水 (3 x 50 mL) および水 (3 x 50 mL) で洗浄後、減圧下乾燥した。沈澱を CH_2Cl_2 –hexane で再結晶し **86** を得た。

Yield 1.91 g (90%); mp 78 °C (CH_2Cl_2 –hexane); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.17 (t, $J = 6.9$ Hz, 6H, 5- CHMe_2), 1.23 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, OCH_2Me), 2.91 (m, 1H, 5- CHMe_2), 3.61 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH_2Me), 5.14 (s, 2H, NCH_2O), 7.05 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H, 6-H), 8.31 (br, 1H, NH).

1-(Ethoxymethyl)-6-(hydroxyphenylmethyl)-5-isopropyluracil (87a)

86 (424 mg, 2 mmol) を THF (8 mL) に溶かし -70 °C に冷却した。溶液に 0.5 M LDA–THF 溶液 (8.8 mL, 4.4 mmol) を、窒素気流下、反応液温が -70 °C を越えないように滴下した後、 -70 °C、1時間攪拌した。溶液に benzaldehyde (0.3 mL, 3 mmol) の THF (5 mL) を反応液温が -70 °C を越えないように滴下した後、 -70 °C、1時間攪拌した。反応液を濃塩酸で中和後、室温にもどし、飽和 NaCl 水 (20 mL) と EtOAc (30 mL) を加え分配した。有機層を飽和 NaHCO_3 水 (20 mL) および飽和 NaCl 水 (20 mL) で洗浄

後、MgSO₄で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃) で精製し **87a** を得た。

Yield 114 mg (18%); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.21 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂Me), 1.27 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H, 5-CHMeMe'), 1.39 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, 5-CHMeMe'), 3.27 (m, 1H, 5-CHMeMe'), 3.61, 3.71 (ABX, *J* = 13.7, 7.1 Hz, 2H, OCH₂Me), 4.71, 5.40 (ABq, *J* = 10.9 Hz, 2H, NCH₂O), 5.10 (br, 1H, OH), 6.27 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H, HOCH), 7.32–7.43 (m, 5H, Ph), 8.49 (br, 1H, NH).

1-(Ethoxymethyl)-5-ethyl-6-(hydroxyphenylmethyl)uracil (**83a**)

82a (396 mg, 2 mmol) を **87a** の場合と同様に処理すると、**83a** が 548 mg (90%) 得られた。

¹H NMR (CDCl₃) δ 1.17 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, 5-CH₂Me), 1.22 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H, OCH₂Me), 2.56–2.76 (m, 2H, 5-CH₂Me), 3.58–3.75 (m, 2H, OCH₂Me), 4.59, 5.44 (ABq, *J* = 11.6 Hz, 2H, NCH₂O), 5.32 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, OH), 6.18 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, HOCH), 7.33–7.48 (m, 5H, Ph), 8.57 (br, 1H, NH).

6-(Acetoxyarylmethyl)-1-[(alkyloxy)methyl]-5-isopropyluracils (**88a-d**) の一般合成法

76i あるいは **32c** (2 mmol) を THF (8 mL) に溶かし -70 °C に冷却した。溶液に 0.5 M LDA-THF 溶液 (8.8 mL, 4.4 mmol) を、窒素気流下、反応液温が -70 °C を越えないように滴下した後、-70 °C、1時間攪拌した。溶液に aryl aldehyde (3 mmol) の THF (5 mL) 溶液を反応液温が -70 °C を越えないように滴下した後、-70 °C、1時間攪拌した。反応液を濃塩酸で中和後、室温にもどし、飽和 NaCl 水 (20 mL) と EtOAc (30 mL) を加え分配した。有機層を飽和 NaHCO₃ 水 (20 mL) および飽和 NaCl 水 (20 mL) で洗浄後、MgSO₄ で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残渣を 1N NaOH (20 mL) に溶かし、35% H₂O₂ 水 (1 mL, 10 mmol) を加え、室温、1時間攪拌した。反応液を濃塩酸で中和し、析出した沈澱を濾取した。沈澱を飽和 NaHCO₃ 水 (3 x 30 mL) および水 (3 x 30 mL) で洗浄し、減圧下乾燥した。沈澱を pyridine (20 mL) に溶かし Ac₂O (1 mL) を加え、室温、12 時間攪拌した。反応液を飽和 NaHCO₃ 水 (30 mL) に加え、EtOAc (3 x 30 mL) で抽出し、有機層を飽和 NaHCO₃ 水 (3 x 30 mL) および飽和 NaCl 水 (3 x 30 mL) で洗浄した。有機層を MgSO₄ で乾燥し、濾過、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃-hexane; 8:2, v/v) で精製後、適当な溶媒で結晶化し目的物を得た。

6-(Acetoxyphenylmethyl)-1-(ethoxymethyl)-5-isopropyluracil (**88a**)

Yield 52% (from **76i**); mp 175–177 °C (isopropanol); ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.88 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, 5-CHMeMe'), 1.04 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, OCH₂Me), 1.21 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, 5-CHMeMe'), 2.26 (s, 3H, COMe), 2.88 (m, 1H, 5-CHMeMe'), 3.61 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, OCH₂Me), 5.58, 5.70 (ABq, *J* = 10.9 Hz, 2H, NCH₂O), 7.05 (s, 1H, AcOCH), 7.27–7.42 (m, 5H, Ph), 9.06 (br, 1H, NH).

6-[1-Acetoxy-1-(3,5-dimethylphenyl)methyl]-1-(ethoxymethyl)-5-isopropyluracil (**88b**)

Yield 47% (from **76i**); mp 180 °C (EtOH); ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.94 (d, J = 6.3 Hz, 3H, 5-CHMeMe'), 1.04 (t, J = 7.1 Hz, 3H, OCH_2Me), 1.22 (d, J = 6.9 Hz, 3H, 5-CHMeMe'), 2.24 (s, 3H, COMe), 2.32 (s, 6H, ArMe_2), 2.90 (m, 1H, 5-CHMeMe'), 3.60 (q, J = 7.1 Hz, 2H, OCH_2Me), 5.56, 5.63 (ABq, J = 10.5 Hz, 2H, NCH_2O), 6.85 [s, 2H, $\text{Ar}(\text{H}-2,6)$], 6.96 [s, 1H, $\text{Ar}(\text{H}-4)$], 6.99 (s, 1H, AcOCH), 9.03 (br, 1H, NH).

6-(Acetoxypheylmethyl)-1-([(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-5-isopropyluracil (88c)

Yield 71% (from **32c**); mp 140–141 °C (EtOH); ^1H NMR (CDCl_3) δ -0.03 (s, 6H, Me_2Si), 0.83 (s, 9H, Me_3C), 0.89 (d, J = 5.5 Hz, 3H, 5-CHMeMe'), 1.21 (d, J = 6.5 Hz, 3H, 5-CHMeMe'), 2.26 (s, 3H, COMe), 2.88 (m, 1H, 5-CHMeMe'), 3.51–3.67 (m, 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.60, 5.70 (ABq, J = 12.2 Hz, 2H, NCH_2O), 7.04 (s, 1H, AcOCH), 7.26–7.40 (m, 5H, Ph), 8.36 (br, 1H, NH).

6-[Acetoxy(3,5-dimethylphenyl)methyl]-1-([(2-*tert*-butyldimethylsilyl)oxy]ethoxy)methyl)-5-isopropyluracil (88d)

Yield 71% (from **32c**); mp 130–131 °C (EtOH); ^1H NMR (CDCl_3) δ -0.04, -0.03 (s x 2, 3H x 2, Me_2Si), 0.83 (s, 9H, Me_3C), 0.98 (d, J = 5.2 Hz, 3H, 5-CHMeMe'), 1.22 (d, J = 6.5 Hz, 3H, 5-CHMeMe'), 2.24 (s, 3H, COMe), 2.31 (s, 6H, ArMe_2), 2.91 (m, 1H, 5-CHMeMe'), 3.48–3.68 (m, 4H, $\text{SiOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.58 (s, 2H, NCH_2O), 6.83 [s, 2H, $\text{Ar}(\text{H}-2,6)$], 6.97 [s, 1H, $\text{Ar}(\text{H}-4)$], 6.99 (s, 1H, AcOCH), 8.24 (br, 1H, NH).

1-[(Alkyloxy)methyl]-6-benzyl-5-isopropyluracils (89a-d) の一般合成法

88a-d (1 mmol) の $\text{AcOH-H}_2\text{O}$ -dioxane (20 mL; 2:1:2, v/v/v) 溶液に Pd-C (10%, 50 mg) を加え、1 気圧の水素雰囲気下 60 °C、15 時間攪拌した。触媒を濾過し、EtOH (2 x 10 mL) で洗浄後、濾液を集め減圧濃縮した。残渣を適当な溶媒より再結晶し目的物を得た。

6-Benzyl-1-(ethoxymethyl)-5-isopropyluracil (89a)

Yield 85%; mp 109–110 °C (EtOH); UV (MeOH) λ_{max} 268 nm (ϵ 10400); MS m/z 302 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.19 (t, J = 7.0 Hz, 3H, OCH_2Me), 1.29 (d, J = 6.9 Hz, 6H, 5-CHMe $_2$), 2.87 (m, 1H, 5-CHMe $_2$), 3.62 (q, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2Me), 4.18 (s, 2H, CH_2Ph), 5.12 (s, 2H, NCH_2O), 7.10–7.37 (m, 5H, Ph), 8.40 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$: C, 67.53; H, 7.33; N, 9.26. Found: C, 67.47; H, 7.50; N, 9.20.

6-(3,5-Dimethylbenzyl)-1-(ethoxymethyl)-5-isopropyluracil (89b)

Yield 69%; mp 141–142 °C (EtOH); UV (MeOH) λ_{max} 268 nm (ϵ 11100); MS m/z 330 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.20 (t, J = 7.0 Hz, 3H, OCH_2Me), 1.30 (d, J = 6.9 Hz, 6H, 5-CHMe $_2$), 2.28 (s, 6H, ArMe_2), 2.86 (m, 1H, 5-CHMe $_2$), 3.63 (q, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2Me), 4.10 (s, 2H, CH_2Ar), 5.13 (s, 2H, NCH_2O), 6.71 [s, 2H, $\text{Ar}(\text{H}-2,6)$], 6.90 [s, 1H, $\text{Ar}(\text{H}-4)$], 8.38 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$: C, 69.06; H, 7.93; N, 8.48. Found: C, 69.00; H, 7.81; N, 8.34.

6-Benzyl-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-5-isopropyluracil (89c)

Yield 54%; mp 142–143 °C (EtOH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 267 nm (ϵ 10900); MS m/z 318 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.29 (d, J = 7.0 Hz, 6H, 5- CHMe_2), 2.10 (t, J = 5.2 Hz, 1H, OH), 2.86 (m, 1H, 5- CHMe_2), 3.68–3.74 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.17 (s, 2H, CH_2Ph), 5.19 (s, 2H, NCH_2O), 7.08–7.41 (m, 5H, Ph), 8.87 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$: C, 64.13; H, 6.97; N, 8.80. Found: C, 63.98; H, 6.66; N, 8.84.

6-(3,5-Dimethylbenzyl)-1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-5-isopropyluracil (89d)

Yield 46%; mp 142–143 °C (toluene); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 267 nm (ϵ 9600); MS m/z 346 (M^+); ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.29 (d, J = 7.2 Hz, 6H, 5- CHMe_2), 1.96 (br, 1H, OH), 2.29 (s, 6H, ArMe_2), 2.85 (m, 1H, 5- CHMe_2), 3.69–3.73 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.08 (s, 2H, CH_2Ar), 5.18 (s, 2H, NCH_2O), 6.71 [s, 2H, $\text{Ar}(\text{H}-2,6)$], 6.91 [s, 1H, $\text{Ar}(\text{H}-4)$], 8.23 (br, 1H, NH). Anal. Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$: C, 65.88; H, 7.57; N, 8.09. Found: C, 65.65; H, 7.65; N, 8.13.

第2章第3節の実験

抗 HIV 活性測定法

抗HIV活性は第1章第2節と同じ方法を用い測定した。

細胞毒性測定法

細胞毒性は第1章第2節と同じ方法を用い測定した。

第3章第1節の実験

RT阻害活性の測定

50 mM Tris-HCl (pH 8.4)、0.1% Triton X-100、10 mM MgCl_2 、2 mM dithiothreitol、50 mM KCl、0.1 mg/mL nuclease-free BSA、5 μM [*methyl*- ^3H]TTP (0.5 μCi)、12 $\mu\text{g/mL}$ Poly(A)·(T)_{12–18} [あるいは10 μM [$8\text{-}^3\text{H}$] dGTP (0.5 μCi)、24 $\mu\text{g/mL}$ Poly(C)·(dG)_{12–18}]、0.05 unit recombinant HIV-1 RT (NL43 strain; p64, p51 subunit 等モルより構成) の溶液に、DMSO濃度が1% (v/v) になるように種々の濃度の被験化合物のDMSO溶液を加え50 μL とした。溶液を37 °C、30分放置後、2 M EDTA (10 μL) を加え反応を止め、反応液のうち 50 μL を Whatman DE-81 円形濾紙にスポットした。濾紙を 5% Na_2HPO_4 水溶液で3回、水で2回、95% EtOHで2回洗浄後、放射活性をシンチレーションカウンターで測定した。被験化合物濃度 0 における放射活性を 100% としたとき、放射活性が 50% になる被験化合物濃度 (IC_{50}) を算出した。

第3章第2節の実験

AZT耐性HIV-1 (A012D, A018C) に対する抗ウイルス活性の測定

培養液に懸濁した MT-4 細胞 (1×10^5 個/mL) に AZT耐性HIV-1株を "multiplicity of infection" 0.02 で感染させた。ウイルス感染の直後、細胞懸濁液 (100 μ L) を種々の濃度の MKC-442 の入った flat-bottomed microtiter tray の各 well に加えた。37°C、3日間培養後、fluorescence-activated cell sorter で抗 HIV-1 p24 ポリクローナル抗体を用い p24 抗原の量を測定した⁵¹。被検化合物濃度 0 における p24 抗原量を 100% とした時、p24 抗原量が 50% になる MKC-442 濃度 (EC_{50}) を算出した。

MKC-442、AZT 併用時 combination index (CI) の算出法

第1章第2節の「抗 HIV 活性測定法」に従い、MKC-442とAZTのモル濃度比が2:1、4:1、および 8:1における EC_{50} 、 EC_{70} 、および EC_{90} 値を算出した。これらの数値および各薬剤単独での EC_{50} 、 EC_{70} 、および EC_{90} 値を用い、Chouらのコンピューターソフトウェア^{47,48}を使用し CI を算出した。

マウス骨髄前駆細胞の増殖抑制作用の検討⁵²

Murine bone marrow cells (2×10^5 /mL) を 10% fetal calf serum (FCS)、0.3% agar、および 50 ng/mL の granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) あるいは interleukin-3 (IL-3) を含む培養液に懸濁した。懸濁液 (1mL) を plastic tray の各 well に敷き、FCS、agar、各濃度の被検化合物、および GM-CSF あるいは IL-3 を含む培養液を乗せた。37°C で7日間培養した後、形成されたコロニー数を計測した。

引用文献

- 1 Barré-Sinoussi, F.; Chermann, J. C.; Rey, F.; Nugeyre, M. T.; Chamaret, S.; Gruest, J.; Dauguet, C.; Axler-Blin, C.; Vézinet- Brun, F.; Rouzioux, C.; Rozenbaum, W.; Montagnier, L. Isolation of a T-lymphotropic Retrovirus from a Patient at Risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science (Washington, D.C.)* **1983**, 220, 868-871.
- 2 Gallo, R. C.; Salahuddin, S. Z.; Popovic, M.; Shearer, G. M.; Kaplan, M.; Haynes, B. F.; Palker, T. J.; Redfeild, R.; Oleske, J.; Safai, B.; White, G.; Foster, P.; Markham, P. D. Frequent Detection and Isolation of Cytopathic Retroviruses (HTLV-III) from Patients with AIDS and at Risk for AIDS. *Science (Washington, D.C.)* **1984**, 224, 500-503.
- 3 Clavel, F. Isolation of a New Human Retrovirus from West African Patients with AIDS. *Science (Washington, D.C.)* **1986**, 233, 343-346.
- 4 加藤佳代子；草川茂；納富香子；鳥吉英伸；椎野禎一郎；佐藤裕徳；武部豊. HIV サブタイプとその構造・機能特性. *最新医学* **1998**, 53, 1991-1997.
- 5 Report on the Global HIV/AIDS Epidemic - June **1998**. <http://www.who.int/emc-hiv/>
- 6 第 I X 編、HIV 感染経路と予防法. *日本臨床* **1993**, 659, 479-543.
- 7 Gelderblom, H. R. Fine Structure of Human Immunodeficiency Virus (HIV) and Immunolocalization of Structural Proteins. *Virology* **1987**, 156, 171-176.
- 8 内山卓. 序論－AIDS 研究はいま－. *最新医学* **1998**, 53, 1961-1963.
- 9 塩田達雄. HIV の感染個体内進化と感染病態. *最新医学* **1998**, 53, 1999-2005.
- 10 Richman, D. D.; Fischl, M. A.; Grieco, M. H.; Gottlieb, M. S.; Volberding, P. A.; Laskin, O. L.; Leedom, J. M.; Groopman, J. E.; Mildvan, D.; Hirsch, M. S.; Jackson, G. G.; Durack, D. T.; Nusinoff-Lehrman, S.; The AZT Collaborative Working Group. The Toxicity of Azidothymidine (AZT) in the Treatment of Patients with AIDS and AIDS-related Complex: A Double-blind, Placebo-controlled Trial. *N. Engl. J. Med.* **1987**, 317, 192-197.
- 11 Köning, H.; Behr, E.; Löwer, J.; Kurth, R. Azidothymidine Triphosphate Is an Inhibitor of Both Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase and DNA Polymerase Gamma. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1989**, 33, 2109-2114.
- 12 Larder, B. A.; Darby, G.; Richman, D. D. HIV with Reduced Sensitivity to Zidovudine (AZT) Isolated During Prolonged Therapy. *Science (Washington, D.C.)* **1989**, 243, 1731-1734.
- 13 満屋裕明. HIV-1 感染症の治療. *病理と臨床* **1998**, 16, 787-793.
- 14 Miyasaka, T.; Tanaka, H.; Baba, M.; Hayakawa, H.; Walker, R. T.; Balzarini, J.; De Clercq, E. A Novel Lead for Specific Anti-HIV-1 Agents: 1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine. *J. Med. Chem.* **1989**, 32, 2507-2509.
- 15 Baba, M.; Tanaka, H.; De Clercq, E.; Pauwels, R.; Balzarini, J.; Schols, D.; Nakashima, H.; Perno, C.-F.; Walker, R. T.; Miyasaka, T. Highly Specific Inhibition of Human

- Immunodeficiency Virus Type 1 by a Novel 6-Substituted Acycloauridine Derivative. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *165*, 1375-1381.
- 16 Ren, J.; Esnouf, R.; Garman, E.; Somers, D.; Ross, C.; Kirby, I.; Keeling, J.; Darby, G.; Jones, Y.; Stuart, D.; Stammers, D. High Resolution Structures of HIV-1 RT from Four RT-inhibitor Complexes. *Nature Struct. Biol.* **1995**, *2*, 293-302.
 - 17 Tanaka, H.; Hayakawa, H.; Obi, K.; Miyasaka, T. Synthetic Route to 5-Substituted Uridines Via a New Type of Desulfurizative Stannylation. *Tetrahedron* **1986**, *42*, 4187-4195.
 - 18 Wittenburg, E. Untersuchung der Tautomeren Struktur von Thymin und seinen Alkylderivaten mit Hilfe von UV-Spektren. *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 2391-2398.
 - 19 Tanaka, H.; Hayakawa, H.; Miyasaka, T. "Umpolung" of Reactivity at the C-6 Position of Uridine: A Simple and General Method for 6-Substituted Uridines. *Tetrahedron* **1982**, *38*, 2635-2642.
 - 20 田中博道. リチウム化反応を用いるヌクレオシドの合成に関する研究. *薬学研究の進歩 1989 研究成果報告集 5* **1989**, 46-59.
 - 21 Ogilvie, K. K.; Hamilton, H. G.; Gillen, M. F.; Radatus, K.; Smith, K. O.; Galloway, K. S. Uracil Analogues of the Acyclo-nucleoside 9-[[2-Hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethoxy]-methyl]guanine (BIOLF-62). *Can. J. Chem.* **1984**, *62*, 16-21.
 - 22 Rosowsky, A.; Kim, S-H.; Wick, M. Synthesis and Antitumor Activity of an Acyclo-nucleoside Derivative of 5-Fluorouracil. *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 1177-1181.
 - 23 Niu, C.-H. Synthesis of [4-¹⁵NH₂]- and [1,3-¹⁵N₂] Cytidine Derivatives for Use in NMR-Monitored Binding Tests. *Anal. Biochem.* **1984**, *139*, 404-407.
 - 24 Shimizu, M.; Tanaka, H.; Hayakawa, H.; Miyasaka, T. Dynamic Aspects in the LDA Lithiation of an Arabinofuranosyl Derivative of 4-Ethoxy-2-pyrimidinone: Regioselective Entry to Both C-5 and C-6 Substitutions. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1295-1298.
 - 25 Reese, C. B.; Ubasawa, A. Reaction Between 1-Arenesulphonyl-3-nitro-1,2,4-triazoles and Nucleoside Base Residues. Elucidation of the Nature of Side-reactions During Oligonucleotide Synthesis. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 2265-2268.
 - 26 Divakar, K. J.; Reese, C. B. 4-(1,2,4-Triazol-1-yl)- and 4-(3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl)-1-(β-D-2,3,5,-tri-O-acetyl-arabinofuranosyl)pyrimidin-2(1H)-ones. Valuable Intermediates in the Synthesis of Derivatives of 1-(β-D-Arabinofuranosyl)cytosine (Ara-C) *J. Chem. Soc., Perkin I* **1982**, 1171-1176.
 - 27 Johnson, T. B.; Schroeder, E. F. Researches on Pyrimidines. CXXII. Improved Methods for the Synthesis of Orotic Acid. *J. Am. Chem. Soc.* **1931**, *53*, 1989-1993.
 - 28 Kim, Y. H.; Kim, J. Y.; Lee, C. H. Efficient Synthesis of Acyclic Nucleosides by N-Alkylation of Pyrimidine and Purine-bases Using a New Coupling Agent of Cesium Iodide. *Chem. Lett.* **1988**, 1045-1048.
 - 29 Robins, M. J.; Barr, P. J. Nucleic Acid Related Compounds. 39. Efficient Conversion of 5-Iodo to 5-Alkynyl and Derived 5-Substituted Uracil Bases and Nucleosides. *J. Org. Chem.*

- 1983**, 48, 1854-1862.
- 30 Tanaka, H.; Haraguchi, K.; Koizumi, Y.; Fukui, M.; Miyasaka, T. Synthesis of 6-Alkynylated Uridines. *Can. J. Chem.* **1986**, 64, 1560-1563.
 - 31 Tanaka, H.; Iijima, S.; Matsuda, A.; Hayakawa, H.; Miyasaka, T.; Ueda, T. The Reaction of 6-Phenylthiouridine with Sulfur Nucleophiles: A Simple and Regiospecific Preparation of 6-Alkylthiouridines and 6-Alkylthiouridylic Acids. *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, 31, 1222-1227.
 - 32 Hayakawa, H.; Tanaka, H.; Haraguchi, K.; Mayumi, M.; Nakajima, M.; Sakamaki, T.; Miyasaka, T. Preparation of 8-Chloropurine Nucleosides through the Reaction between Their C-8 Lthiated Species and p-Toluenesulfonyl Chloride. *Nucleosides Nucleotides* **1988**, 7, 121-128.
 - 33 Olofson, R. A.; Dougherty, C. M. A Useful Synthesis of Arylcyclopropanes. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 581-582.
 - 34 Tanaka, H.; Baba, M.; Takahashi, E.; Matsumoto, K.; Kittaka, A.; Walker, R. T.; De Clercq, E.; Miyasaka, T. Design and Synthesis of Regioisomeric Analogues fo a Specific Anti-HIV-1 Agent 1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT). *Nucleosides Nucleotides* **1994**, 13, 155-162.
 - 35 Tanaka, H.; Hayakawa, H.; Shibata, S.; Haraguchi, K.; Miyasaka, T. Synthesis of 6-Methyluridine *via* Palladium-catalyzed Cross-coupling Between a 6-Iodouridine Derivative and Tetramethylstannane. *Nucleosides Nucleotides* **1992**, 11, 319-328.
 - 36 Anderson, G. W.; Zimmerman, J. E.; Callahan, F. M. The Use of Esters of *N*-Hydroxy-succinimide in Peptide Synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86, 1839-1842
 - 37 Siegel, W. O.; Ferris, F. C.; Mucci, P. A. A Convenient Synthesis of 3- and 4-Methyl-phthalonitrile. *J. Org. Chem.* **1977**, 42, 3442-3443.
 - 38 Pauwels, R.; De Clercq, E.; Desmyter, J.; Balzarini, J.; Goubau, P.; Herdewijn, P.; Vanderhaeghe, H.; Vandeputte, M. Sensitive and Rapid Assay on MT-4 Cells for the Detection of Antiviral Compounds Against the AIDS Virus. *J. Virol. Methods* **1987**, 16, 171-185.
 - 39 De Clercq, E. The Role of Non-nucleosede Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs) in the Therapy of HIV-1 Infection. *Antiviral Res.* **1998**, 38, 153-179.
 - 40 Keyser, G. E.; Bryant, J. D.; Barrio, J. R. Iodomethylethers from 1,3-Dioxolane and 1,3-Oxathiolane: Preparation of Acyclic Nucleoside Analogs. *Tetrahedron Lett.* **1979**, 3263-3264.
 - 41 Basnak, I.; Frakas, J. Synthesis of Uracils Substituted in the Position 5 or 5,6 with Alkyl or Cycloalkyl Groups and Their UV Spectra. *Collection Czechoslov. Chem. Commun.* **1979**, 44, 2426-2437.
 - 42 St. Clair, M. H.; Richards, C. A.; Spector, T.; Weinhold, K. J.; Miller, W. H.; Langlois, A. J.; Furman, P. A. 3'-Azido-3'-deoxythymidine Triphosphate as an Inhibitor and

- Substrate of Purified Human Immunodeficiency Virus Reverse Transcriptase. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1987**, *31*, 1972-1977.
- 43 Hopkins, A. L.; Ren, J.; Esnouf, R. M.; Willcox, B. E.; Jones, Y.; Ross, C.; Miyasaka, T.; Walker, R. T.; Tanaka, H.; Stammers, D. K.; Stuart, D. I. Complexes of HIV-1 Reverse Transcriptase with Inhibitors of the HEPT Series Reveal Conformational Changes Relevant to the Design of Potent Non-Nucleoside Inhibitors. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1589-1600
 - 44 Spence, R. A.; Kati, W. N.; Anderson, K. S.; Johnson, K. A. Mechanism of Inhibition of HIV-1 Reverse Transcriptase by Nonnucleoside Inhibitors. *Science (Washington, D.C.)* **1995**, *267*, 988-993.
 - 45 姥沢賢 ; 高嶋秀昭 ; 関谷浩一 ; 湯浅聡 ; 丹羽卓朗. 新規抗 HIV 剤の探索 : MKC-442. *Mitsubishi Kasei R & D Review* **1994**, *8*, 20-27.
 - 46 Larder, B. A.; Kemp, S. D. Multiple Mutation in HIV-1 Reverse Transcriptase Confer High-Level Resistance to Zidovudine (AZT). *Science* **1989**, *246*, 1155-1158.
 - 47 Chou, T.-C.; Talalay, P. Quantitative Analysis of Dose-Effect Relationships: the Combined Effects of Multiple Drugs or Enzyme Inhibitors. *Adv. Enzym Regul.* **1984**, *22*, 27-55.
 - 48 Chou, J.; Chou, T.-C. Dose-Effect Analysis with Microcomputers: Quantitation of ED₅₀, LD₅₀, Synergism, Antagonism, Low-Dose Risk, Receptor-Ligand Binding and Enzym Kinetics. *In* A computer software for IBM-PC and manual. Elsevier-Biosoft, Cambridge **1986**, p 19-32.
 - 49 Rost, K. L.; Banké-Bochita, J.; Stephan, K.; Fuder, C.; Moxham, C.; Herrmann, W. M. Multiple-Dose Treatment with MKC-442 in HIV-1 Infected Asymptomatic Subjects: Efficacy on Viral Load, Safety, and Pharmacokinetics. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1997**, *52*, suppl. A174.
 - 50 Pauwels, R.; Balzarini, J.; Baba, M.; Snoeck, R.; Schols, D.; Herdewijn, P.; Desmyter, J.; De Clercq, E. Rapid and Automated Tetrazolium-Based Colorimetric Assay for the Detection of Anti-HIV Compounds. *J. Virol. Methods* **1988**, *20*, 309-322.
 - 51 Pauwels, R.; De Clercq, E.; Desmyter, J.; Balzarini, J.; Gaubau, P.; Herdewijn, P.; Vanderhaeghe, H.; Vandeputte, M. Sensitive and Rapid Assay on MT-4 Cells for Detection of Antiviral Compounds Against the AIDS Virus. *J. Virol. Methods* **1987**, *16*, 171-185.
 - 52 Baba, M.; Shigeta, S.; Tanaka, H.; Miyasaka, T.; Ubasawa, M.; Umezu, K.; Walker, R. T.; De Clercq, E. Highly Potent and Selective Inhibition of HIV-1 Replication by 6-Phenylthio-uracil Derivatives. *Antiviral Res.* **1992**, *17*, 245-264.