



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 234 563**

⑤ Int. Cl.7: **C07H 19/067**

C07H 19/10

C07H 19/167

C07H 19/20

C07H 21/02

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧ Número de solicitud europea: **00902887 .9**

⑧ Fecha de presentación: **10.02.2000**

⑧ Número de publicación de la solicitud: **1152009**

⑧ Fecha de publicación de la solicitud: **07.11.2001**

⑤ Título: **Nuevos análogos de nucleósidos y de oligonucleótidos.**

⑩ Prioridad: **12.02.1999 JP 3386399**

④ Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.07.2005

④ Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.07.2005

⑦ Titular/es: **Sankyo Company, Limited
5-1, Nihonbashi Honcho 3-chome
Chuo-ku, Tokyo 103-8426, JP
Sankyo Lifetech Company Limited**

⑦ Inventor/es: **Kaneko, Masakatsu;
Morita, Koji y
Imanishi, Takeshi**

⑦ Agente: **Torner Lasalle, Elisabet**

ES 2 234 563 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Nuevos análogos de nucleósidos y de oligonucleótidos.

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a nuevos análogos de oligonucleótidos, que exhiben actividad antisentido o antigénica con una estabilidad excelente, o que exhiben una actividad excelente como agentes de detección (sonda) para genes específicos o como iniciadores para empezar la amplificación, y a nuevos análogos de nucleósido que son intermediarios para su producción.

10 **Antecedentes**

Se espera que los análogos de oligonucleótido, que presentan una excelente actividad antisentido o antigénica y que son estables en el cuerpo sean fármacos útiles. Además, los análogos de oligonucleótidos, que tienen un alto nivel de habilidad para formar cadenas complementarias estables con ADN o mRNA, son útiles como agentes de detección para un gen específico o como iniciadores para empezar el proceso de amplificación.

En contraposición, se conoce que los oligonucleótidos de origen natural se descomponen rápidamente por varias nucleasas presentes en el cuerpo y en las células. En algunos casos, oligonucleótidos de origen natural pueden no tener suficiente sensibilidad para su uso como agentes de detección para genes específicos o como iniciadores para empezar la amplificación debido a las limitaciones de su afinidad con secuencias de bases complementarias.

Para vencer estas limitaciones, se han producido varios análogos de oligonucleótido de origen no natural, y se ha probado de desarrollarlos para usarlos como agentes farmacéuticos o de detección para genes específicos. Principalmente, los ejemplos conocidos de estos análogos de oligonucleótido de origen no natural incluyen aquellos en que un átomo de oxígeno unido a un átomo de fósforo por un enlace fosfodiéster de un oligonucleótido se sustituye por un átomo de azufre, aquéllos en que dicho átomo de oxígeno se sustituye por un grupo metileno, aquéllos en que dicho átomo de oxígeno se sustituye por un átomo de boro, y aquéllos en que una porción de azúcar o una porción de base de un oligonucleótido se modifica químicamente. Por ejemplo, ISIS Corp. ha desarrollado el oligonucleótido ISIS2922 de tipo tioato (Vitravene) como un agente terapéutico para la reinitis del *citomegalovirus* en humano y se ha dispuesto ISIS2922 al mercado abierto en los Estados Unidos.

La WO-A-9839352 divulga los análogos de nucleósido que tienen un grupo -O-CH₂- unido entre sus posiciones 2' y 4' y los oligonucleótidos que contienen dichos nucleósidos que poseen un poco de resistencia a la nucleasa. La WO 9914226 divulga nucleósidos que contienen un grupo -(CH₂)₂- unido entre sus posiciones 2' y 3' y oligonucleótidos que contienen dichos nucleósidos. Éstos se ha dicho que tienen un uso potencial para una terapia antisentido pero no hay sugerencias que el uso de esta unión pueda mejorar la estabilidad a las nucleasas.

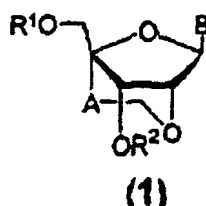
Sin embargo, en consideración a la potencia de la actividad antisentido o antigénica en los análogos de oligonucleótido de origen no natural de más arriba, principalmente la habilidad para formar una cadena complementaria estable con ADN o mRNA, la estabilidad con respecto a varias nucleasas, y la manifestación de efectos secundarios adversos debido a la unión no específica con varias proteínas en el cuerpo, hay la necesidad de análogos de oligonucleótido de origen no natural que presenten mejor estabilidad en el cuerpo, una baja incidencia de efectos secundarios adversos y una alta habilidad para formar cadenas complementarias.

45 **Divulgación de la invención**

Los inventores de la presente invención han llevado a cabo una investigación intensa durante un largo periodo de tiempo sobre los análogos de oligonucleótido de origen no natural que presentan una excelente actividad antisentido o antigénica, una excelente estabilidad en el cuerpo y una baja incidencia de efectos secundarios adversos. Como resultado de esta investigación, han encontrado que los análogos de oligonucleótidos o los análogos de nucleósidos que tienen un enlace éter en sus moléculas son útiles como farmacéuticos antisentido o antigénicos con una excelente estabilidad, han encontrado un agente de detección (sonda) para un gen específico, han encontrado un iniciador para empezar la amplificación o como intermediarios para su producción, y han llevado a cabo la presente invención

A continuación, se describirá la presente invención en detalle.

Los análogos de nucleósidos nuevos de la presente invención son compuestos de fórmula (1):



ES 2 234 563 T3

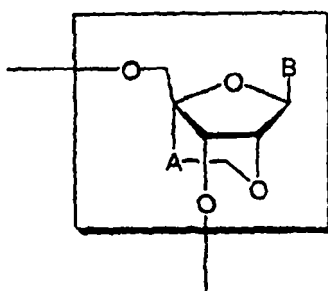
[en qué R^1 y R^2 son iguales o diferentes y representan un átomo de hidrógeno, un grupo protector hidroxilo, un grupo ácido fosfórico, un grupo ácido fosfórico protegido o $-P(R^3)R^4$ [en qué R^3 y R^4 son iguales o diferentes y representan un grupo hidroxilo, un grupo hidroxilo protegido, un grupo mercapto, un grupo mercapto protegido, un grupo amino, un grupo alcóxido que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo alquiltio que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo cianoalcóxido que tiene de 1 a 5 átomos de carbono o un grupo amino sustituido por un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono];

A representa un grupo alquileo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; y

10 B representa un grupo purin-9-ilo, un grupo 2-oxo-pirimidin-1-ilo o un grupo purin-9-ilo sustituido o un grupo 2-oxo-pirimidin-1-ilo sustituido que tiene un sustituyente que se elige entre el siguiente grupo α];

o sus sales.

15 Los análogos de oligonucleótido de la presente invención son análogos de oligonucleótido que tiene una, dos o más estructuras de fórmula (2):



(2)

[en qué A representa un grupo alquileo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; y B representa un grupo purin-9-ilo, un grupo 2-oxo-pirimidin-1-ilo o un grupo purin-9-ilo sustituido o un grupo 2-oxo-pirimidin-1-ilo sustituido que tiene un sustituyente que se elige entre el siguiente grupo α];

o su sal farmacológicamente aceptable.

40 (grupo α)

un grupo hidroxilo,

un grupo hidroxilo protegido,

45 un grupo alcóxido que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,

un grupo mercapto,

50 un grupo mercapto protegido,

un grupo alquiltio que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,

un grupo amino,

55 un grupo amino protegido,

un grupo amino sustituido por un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,

60 un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, y

un átomo de halógeno.

65 “El grupo alquileo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono” de A en la fórmula (1) o (2) de más arriba puede incluir metileno, etileno, trimetileno y grupos tetrametileno, se prefiere un grupo metileno.

El grupo protector de “el grupo protector hidroxilo” de R^1 y R^2 y “el grupo hidroxilo protegido” de R^3 y R^4 o el grupo α en la fórmula de más arriba (1) o (2) se refiere a un grupo protector que se puede cortar mediante un

ES 2 234 563 T3

método químico como la hidrogenólisis, la descomposición, la hidrólisis, la electrólisis y la fotólisis o mediante un método biológico como la hidrólisis en el cuerpo humano, y estos grupos protectores pueden incluir “un grupo acilo alifático” como un grupo alquilcarbonilo, por ejemplo, formilo, acetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, pentanoilo, pivaloilo, valerilo, isovalerilo, octanoilo, nonanoilo, decanoilo, 3-metilnonanoilo, 8-metilnonanoilo, 3-etiloctanoilo, 3,7-dimetiloctanoilo, undecanoilo, dodecanoilo, tridecanoilo, tetradecanoilo, pentadecanoilo, hexadecanoilo, 1-metilpentadecanoilo, 14-metilpentadecanoilo, 13,13-dimetiltetradecanoilo, heptadecanoilo, 15-metilhexadecanoilo, octadecanoilo, 1-metilheptadecanoilo, nonadecanoilo, eicosanoilo y heneicosanoilo, un grupo alquilcarbonilo carboxilado, por ejemplo, succinoilo, glutaroilo y adipoilo, un grupo alquilcarbonilo inferior de halógeno, por ejemplo, cloroacetilo, dicloroacetilo, tricloroacetilo y trifluoroacetilo, un grupo alquilcarbonilo inferior de alcóxido inferior, por ejemplo, metoxiacetilo, y un grupo alquilcarbonilo insaturado, por ejemplo, (E)-2-metil-2-butenoilo;

“un grupo acilo aromático” como un grupo arilcarbonilo, por ejemplo, benzoilo, α -naftoilo y β -naftoilo, un grupo arilcarbonilo de halógeno, por ejemplo, 2-bromobenzoilo y 4-clorobenzoilo, un grupo arilcarbonilo alquilado, por ejemplo, 2,4,6-trimetilbenzoilo y 4-toluilo, un grupo arilcarbonilo alcóxilado inferior, por ejemplo, 4-anisoilo, un grupo arilcarbonilo carboxilado, por ejemplo, 2-carboxibenzoilo, 3-carboxibenzoilo y 4-carboxibenzoilo, un grupo arilcarbonilo nitrado, por ejemplo, 4-nitrobenzoilo y 2-nitrobenzoilo, un grupo arilcarbonilo carbonilado de alcóxido inferior, por ejemplo, 2-(metoxicarbonil)benzoilo y un grupo arilcarbonilo arilado, por ejemplo, 4-fenilbenzoilo;

“un grupo tetrahidropirano o a tetrahidrotiopirano grupo” como tetrahidropiran-2-ilo, 3-bromotetrahidropiran-2-ilo, 4-metoxitetrahidropiran-4-ilo, tetrahidrotiopiran-2-ilo y 4-metoxitetrahidrotiopiran-4-ilo;

“un grupo tetrahidrofuranilo o un grupo tetrahidrotiofuranilo” como tetrahidrofuran-2-ilo y tetrahidrotiofuran-2-ilo;

“un grupo sililo” como un grupo tri-alquilsililo inferior, por ejemplo, trimetilsililo, trietilsililo, isopropildimetilsililo, t-butildimetilsililo, metildiisopropilsililo, metil-di-t-butilsililo y triisopropilsililo y un grupo tri-alquilsililo inferior sustituido por uno o dos grupos arilo, por ejemplo, difenilmetilsililo, difenilbutilsililo, difenilisopropilsililo y fenildiisopropilsililo;

“un grupo alcóximetilo inferior” como metoximetilo, 1,1-dimetil-1-metoximetilo, etoximetilo, propoximetilo, isopropoximetilo, butoximetilo y t-butoximetilo;

“un grupo alcóximetilo inferior de alcóxido inferior” como 2-metoxietoximetilo;

“un grupo alcóximetilo inferior de halógeno” como 2,2,2-tricloroetoximetilo y bis(2-cloroetoxi)metilo;

“un grupo etilo inferior alcóxilado” como 1-etoxietilo y 1-(isopropoxi)etilo;

“un grupo etilo halogenado” como 2,2,2-tricloroetilo;

“un grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupos arilo” como benzilo, α -naftilmetilo, β -naftilmetilo, difenilmetilo, trifenilmetilo, α -naftildifenilmetilo y 9-antrilmetilo;

“un grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupos arilo en qué dicho anillo de arilo se sustituye por un grupo alquilo inferior, un alcóxido inferior, un halógeno o un ciano” como 4-metilbenzilo, 2,4,6-trimetilbenzilo, 3,4,5-trimetilbenzilo, 4-metoxibenzilo, 4-metoxifenildifenilmetilo, 4,4'-dimetoxitritenilmetilo, 2-nitrobenzilo, 4-nitrobenzilo, 4-clorobenzilo, 4-bromobenzilo y 4-cianobenzilo;

“un grupo alcóxicarbonilo inferior” como metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, t-butoxicarbonilo y isobutoxicarbonilo;

“un grupo alcóxicarbonilo inferior sustituido por un halógeno o un grupo tri-alquilsililo inferior” como 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo y 2-trimetilsililetoxicarbonilo;

“un grupo alquenoiloxicarbonilo” como viniloxicarbonilo y aliloxicarbonilo; y “un grupo aralquiloiloxicarbonilo en qué dicho anillo de arilo se puede sustituir por uno o dos grupos alcóxido o nitro inferiores” como benziloxicarbonilo, 4-metoxibenziloxicarbonilo, 3,4-dimetoxibenziloxicarbonilo, 2-nitrobenziloxicarbonilo y 4-nitrobenziloxicarbonilo.

“El grupo protector hidroxilo” de R¹ y R² puede incluir preferentemente “el grupo acilo alifático”, “el grupo acilo aromático”, “el grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupos arilo”, “el grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupos arilo en qué dicho anillo de arilo se sustituye por un grupo alquilo inferior, un alcóxido inferior, un halógeno o un ciano” o “el grupo sililo”; más preferentemente un grupo acetilo, un grupo benzoilo, un grupo benzilo, un grupo p-metoxibenzoilo, un grupo dimetoxitritilo, un grupo monometoxitritilo o un grupo tert-butildifenilsililo.

El grupo protector de el “grupo hidroxilo protegido” de R³ y R⁴ o el grupo α preferentemente incluyen “el grupo acilo alifático” o “el grupo acilo aromático”, más preferentemente un grupo benzoilo.

El grupo protector de “el grupo ácido fosfórico protegido” de R¹ y R² en la fórmula de más arriba (1) representa un grupo protector que se puede cortar mediante un método químico como la hidrogenólisis, la hidrólisis, la electrólisis,

ES 2 234 563 T3

lisis y la fotólisis y un método biológico como la hidrólisis en el cuerpo humano y estos grupos protectores pueden incluir “un grupo alquilo inferior” como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, s-butilo, tert-butilo, n-pentilo, isopentilo, 2-metilbutilo, neopentilo, 1-etilpropilo, n-hexilo, isohexilo, 4-metilpentilo, 3-metilpentilo, 2-metilpentilo, 1-metilpentilo, 3,3-dimetilbutilo, 2,2-dimetilbutilo, 1,1-dimetilbutilo, 1,2-dimetilbutilo, 1,3-dimetilbutilo, 2,3-dimetilbutilo y 2-etilbutilo;

“un grupo alquilo inferior cianado” como 2-cianoetilo y 2-ciano-1,1-dimeteiletilo; “un grupo etilo sustituido por un grupo sililo” como 2-metildifenilsililetilo, 2-trimetilsililetilo y 2-trifenilsililetilo;

“un grupo alquilo halogenado inferior” como 2,2,2-tricloroetilo, 2,2,2-tribromoetilo, 2,2,2-trifluoroetilo y 2,2,2-tricloro-1,1-dimeteiletilo;

“un grupo alqueno inferior” como etenilo, 1-propenilo, 2-propenilo, 1-metil-2-propenilo, 1-metil-1-propenilo, 2-metil-1-propenilo, 2-metil-2-propenilo, 2-etil-2-propenilo, 1-butenilo, 2-butenilo, 1-metil-2-butenilo, 1-metil-1-butenilo, 3-metil-2-butenilo, 1-etil-2-butenilo, 3-butenilo, 1-metil-3-butenilo, 2-metil-3-butenilo, 1-etil-3-butenilo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 1-metil-2-pentenilo, 2-metil-2-pentenilo, 3-pentenilo, 1-metil-3-pentenilo, 2-metil-3-pentenilo, 4-pentenilo, 1-metil-4-pentenilo, 2-metil-4-pentenilo, 1-hexenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 4-hexenilo y 5-hexenilo;

“un grupo cicloalquilo” como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, norbornilo y adamantilo;

“un grupo alqueno cianatado inferior” como 2-cianobutenilo;

“un grupo aralquilo” como benzilo, α -naftilmetilo, β -naftilmetilo, indenilmetilo, fenanetrenilmetilo, antracencilmetilo, difenilmetilo, trifenilmetilo, 1-feniletilo, 2-feniletilo, 1-naftiletilo, 2-naftiletilo, 1-fenilpropilo, 2-fenilpropilo, 3-fenilpropilo, 1-naftilpropilo, 2-naftilpropilo, 3-naftilpropilo, 1-fenilbutilo, 2-fenilbutilo, 3-fenilbutilo, 4-fenilbutilo, 1-naftilbutilo, 2-naftilbutilo, 3-naftilbutilo, 4-naftilbutilo, 1-fenilpentilo, 2-fenilpentilo, 3-fenilpentilo, 4-fenilpentilo, 5-fenilpentilo, 1-naftilpentilo, 2-naftilpentilo, 3-naftilpentilo, 4-naftilpentilo, 5-naftilpentilo, 1-fenilhexilo, 2-fenilhexilo, 3-fenilhexilo, 4-fenilhexilo, 5-fenilhexilo, 6-fenilhexilo, 1-naftilhexilo, 2-naftilhexilo, 3-naftilhexilo, 4-naftilhexilo, 5-naftilhexilo y 6-naftilhexilo;

“un grupo aralquilo en que dicho anillo de arilo se sustituye por un grupo nitro o un átomo de halógeno” como 4-clorobenzilo, 2-(4-nitrofenil)etilo, o-nitrobenzilo, 4-nitrobenzilo, 2,4-di-nitrobenzilo y 4-cloro-2-nitrobenzilo;

“un grupo arilo” como fenilo, indenilo, naftilo, fenantrenilo y antracencilo; y

“un grupo arilo sustituido por un grupo alquilo inferior, un átomo de halógeno o un grupo nitro” como 2-metilfenilo, 2,6-dimetilfenilo, 2-clorofenilo, 4-clorofenilo, 2,4-diclorofenilo, 2,5-diclorofenilo, 2-bromofenilo, 4-nitrofenilo y 4-cloro-2-nitrofenilo;

se prefieren “el grupo alquilo inferior”, “el grupo alquilo inferior sustituido por un grupo ciano”, “el grupo aralquilo” o “el grupo aralquilo en que dicho anillo de arilo se sustituye por un grupo nitro o un átomo de halógeno”; más preferentemente un grupo 2-cianoetilo, un grupo 2,2,2-tricloroetilo o un grupo benzilo.

“El grupo alcóxido que tiene de 1 a 4 átomos de carbono” de R^3 y R^4 o el grupo α en la fórmula de más arriba (1) o (2) puede incluir metóxido, etóxido, n-propóxido, isopropóxido, n-butóxido, isobutóxido, s-butóxido o tert-butóxido, se prefiere un grupo metóxido o etóxido.

El grupo protector de “el grupo mercapto protegido” de R^3 y R^4 o el grupo α en la fórmula de más arriba (1) o (2) puede incluir, además del grupo protector hidroxilo mencionado más arriba, “un grupo que forma un disulfido” como un grupo alquiltio, por ejemplo, metiltio, etiltio, tert-butiltio y un grupo ariltio como benziltio, se prefiere “el grupo acilo alifático” o “el grupo acilo aromático”, se prefiere más un grupo benzoilo.

“El grupo alquiltio que tiene de 1 a 4 átomos de carbono” de R^3 y R^4 o el grupo α en la fórmula de más arriba (1) o (2) puede incluir metiltio, etiltio, propiltio, isopropiltio, butiltio, isobutiltio, s-butiltio y tert-butiltio, se prefiere un grupo metiltio o etiltio.

El grupo protector de “el grupo amino protegido” de R^3 y R^4 o el grupo α en la fórmula de más arriba (1) o (2) puede incluir

“un grupo acilo alifático” como un grupo alquilcarbonilo, por ejemplo, formilo, acetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, pentanoilo, pivaloilo, valerilo, isovalerilo, octanoilo, nonanoilo, decanoilo, 3-metilnonanoilo, 8-metilnonanoilo, 3-etiloctanoilo, 3,7-dimetiloctanoilo, undecanoilo, dodecanoilo, tridecanoilo, tetradecanoilo, pentadecanoilo, hexadecanoilo, 1-metilpentadecanoilo, 14-metilpentadecanoilo, 13,13-dimetil-tetradecanoilo, heptadecanoilo, 15-metilhexadecanoilo, octadecanoilo, 1-metil-heptadecanoilo, nonadecanoilo, eicosanoilo y heneicosanoilo, un grupo alquilcarbonilo carboxilado, por ejemplo, succinoilo, glutarilo y adipoilo, un grupo alquilcarbonilo inferior de halógeno, por ejemplo, cloroacetilo, dicloroacetilo, tricloroacetilo y trifluoroacetilo, un grupo alquilcarbonilo inferior de alcóxido inferior, por ejemplo, metoxiacetilo, y un grupo alquilcarbonilo insaturado, por ejemplo, (E)-2-metil-2-butenilo;

ES 2 234 563 T3

“un grupo acilo aromático” como un grupo arilcarbonilo, por ejemplo, benzoilo, α -naftoilo y β -naftoilo, un grupo halogenoarilcarbonilo, por ejemplo, 2-bromobenzoilo y 4-clorobenzoilo, un grupo arilcarbonilo inferior alquilado, por ejemplo, 2,4,6-trimetilbenzoilo y 4-toluoilo, un grupo arilcarbonilo inferior alcoxlado, por ejemplo, 4-anisoilo, un grupo arilcarbonilo carboxilado, por ejemplo, 2-carboxibenzoilo, 3-carboxibenzoilo y 4-carboxibenzoilo, un grupo arilcarbonilo nitrado, por ejemplo, 4-nitrobenzoilo y 2-nitrobenzoilo, un grupo arilcarbonilo inferior de alcóxido carbonilado, por ejemplo, 2-(metoxicarbonil)benzoilo y un grupo arilcarbonilo arilado, por ejemplo, 4-fenilbenzoilo;

“un grupo alcoxicarbonilo inferior” como metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, t-butoxicarbonilo y isobutoxicarbonilo;

“un grupo alcoxicarbonilo inferior sustituido por un grupo halógeno o un grupo tri-alquilsililo inferior” como 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo y 2-trimetilsililetoxicarbonilo;

“un grupo alqueniloxicarbonilo” como viniloxicarbonilo y aliloxicarbonilo; y

“un grupo aralquiloxicarbonilo en qué dicho anillo de arilo se puede sustituir por un grupo alcóxido o nitro inferior” como benziloxicarbonilo, 4-metoxibenziloxicarbonilo, 3,4-dimetoxibenziloxicarbonilo, 2-nitrobenziloxicarbonilo, y 4-nitrobenziloxicarbonilo, se prefieren “el grupo acilo alifático o “el grupo acilo aromático”, se prefiere más un grupo benzoilo.

“El grupo amino sustituido por un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono” de R^3 y R^4 o el grupo α en la fórmula de más arriba (1) o (2) puede incluir metilamino, etilamino, propilamino, isopropilamino, butilamino, isobutilamino, s-butilamino, tert-butilamino, dimetilamino, dietilamino, dipropilamino, diisopropilamino, dibutilamino, diisobutilamino, di(s-butil)amino y di(tert-butil)amino, se prefieren metilamino, etilamino, dimetilamino, dietilamino o diisopropilamino.

“El grupo cianoalcóxido que tiene de 1 a 5 átomos de carbono” de R^3 y R^4 en la fórmula de más arriba (1) representa un grupo en qué “el grupo alcóxido que tiene de 1 a 4 átomos de carbono” descrito más arriba se sustituye por un grupo ciano, y este grupo ciano puede incluir cianometóxido, 2-cianoetóxido, 3-cianopropóxido, 4-cianobutóxido, 3-ciano-2-metilpropóxido o 1-cianometil-1,1-dimetilmetóxido, se prefiere un grupo 2-cianoetóxido.

“El grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono” del grupo α en la fórmula de más arriba (1) o (2) puede incluir metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, s-butil y tert-butilo, se prefiere un grupo metilo o un grupo etilo.

“El átomo de halógeno” del grupo α en la fórmula de más arriba (1) o (2) puede incluir un átomo de flúor, un átomo de cloro, un átomo de bromo o un átomo de yodo, se prefiere un átomo de flúor o un átomo de cloro.

Los grupos preferidos de “el grupo purin-9-ilo” y “el grupo purin-9-ilo sustituido” de B en la fórmula de más arriba (1) o (2) puede incluir, como un conjunto, 6-aminopurin-9-ilo (es decir, adeninilo), (6-aminopurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido), 2,6-diaminopurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo (el grupo amino del cual está protegido), 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo (el grupo amino del cual está protegido), 2-amino-6-bromopurin-9-ilo, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo (el grupo amino del cual está protegido), 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo (es decir, guaninilo), 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo (el grupo amino del cual está protegido), 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo (los grupos amino y hidroxilo del cual están protegidos), 6-amino-2-metoxipurin-9-ilo, 6-amino-2-cloropurin-9-ilo, 6-amino-2-fluoropurin-9-ilo, 2,6-dimetoxipurin-9-ilo, 2,6-dicloropurin-9-ilo o 6-mercaptopurin-9-ilo, se prefieren más un grupo 6-benzoilaminopurin-9-ilo, adeninilo, 2-isobutilamino-6-hidroxipurin-9-ilo o guaninilo.

Los grupos preferidos de “el grupo 2-oxo-pirimidin-1-ilo” y “el grupo 2-oxo-pirimidin-1-ilo sustituido” de B en la fórmula de más arriba (1) o (2) puede incluir, como un conjunto, el grupo 2-oxo-4-amino-pirimidin-1-ilo (es decir, citosinilo), 2-oxo-4-amino-pirimidin-1-ilo (el grupo amino del cual está protegido), 2-oxo-4-amino-5-fluoro-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-pirimidin-1-ilo (el grupo amino del cual está protegido), 4-amino-2-oxo-5-cloro-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-metoxi-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-mercapto-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-hidroxi-pirimidin-1-ilo (es decir, uracínulo), 2-oxo-4-hidroxi-5-metilpirimidin-1-ilo (es decir, tiaminilo) o 4-amino-5-metil-2-oxo-pirimidin-1-ilo (es decir, 5-metilcitosinilo), se prefieren más los grupos 2-oxo-4-benzoilamino-pirimidin-1-ilo, citosinilo, timinilo, uracínulo, 2-oxo-4-benzoilamino-5-metil-pirimidin-1-ilo o 5-metilcitosinilo.

“El análogo de nucleósido” se refiere a un tipo de “nucleósido” no natural en el que un grupo purina o pirimidina se une al azúcar.

“El análogo de oligonucleótido” se refiere a un tipo de derivado de “oligonucleótido” no natural en el que de 2 a 50 “nucleósidos”, que pueden ser iguales o diferentes, se encuentran enlazados a través de un enlace fosfodiéster y estos análogos preferentemente incluyen derivados de azúcar en los que la porción de azúcar se modifica; derivados de tioato en los que la parte del enlace fosfodiéster está tioado; productos de éster en los que la parte de ácido fosfórico terminal está esterificado; y productos de amida en los que un grupo amino sobre una base purina está amidado, se prefieren más los derivados de azúcar en los que la parte de azúcar se modifica y los derivados de tioato en los que la parte del enlace fosfodiéster está tioado.

ES 2 234 563 T3

“Su sal” se refiere a sales del compuesto (1) de la presente invención puesto que se pueden convertir en sales y estas sales preferentemente pueden incluir sales inorgánicas por ejemplo sales de metales como sales de metales alcalinos, por ejemplo, sales de sodio, sales de potasio y sales de litio, sales de metales alcalinotérreos, por ejemplo, sales de calcio y sales de magnesio, sales de aluminio, sales de hierro, sales de zinc, sales de cobre, sales de níquel y sales de cobalto; sales de amina como sales inorgánicas, por ejemplo, sales de amonio, sales orgánicas, por ejemplo, sales de t-octilamina, sales de dibenzilamina, sales de morfolino, sales de glucosamina, sales de éster de fenilglicina de alquilo, sales de etilendiamina, sales de N-metilglucamina, sales de guanidina, sales de dietilamina, sales de trietilamina, sales de dicitclohexilamina, sales de N,N'-dibenziletiletilendiamina, sales de cloroprocaina, sales de procaina, sales de dietanolamina, sales de N-benzil-fenetilamina, sales de piperazina, sales de tetrametilamonio y sales de tris(hidroximetil)aminometano; sales de ácido inorgánico como sales de ácido hidrohlogénico, por ejemplo, sales de ácido fluorhídrico, sales de ácido clorhídrico, sales de ácido bromhídrico y sales de ácido yodhídrico, sales de ácido nítrico, sales de ácido perclórico, sales de ácido sulfúrico y sales de ácido fosfórico; sales de ácido orgánico como sales de ácido alcansulfónico inferior, por ejemplo, metansulfónico, sales de ácido trifluorometansulfónico y sales de ácido etansulfónico, sales de ácido arilsulfónico, por ejemplo, sales de ácido benzensulfónico y sales de ácido p-toluensulfónico, sales de ácido acético, sales de ácido málico, sales de ácido fumárico, sales de ácido succínico, sales de ácido cítrico, sales de ácido tartárico, sales de ácido oxálico y sales de ácido maleico; y sales de aminoácido como sales de glicina, sales de lisina, sales de arginina, sales de ornitina, sales de ácido glutámico y sales de ácido aspártico.

Como los análogos de oligonucleótidos o polinucleótidos modificados de la presente invención se pueden convertir a sales, “el sus sales farmacológicamente aceptables” se refiere a su sal, y estas sales preferentemente pueden incluir sales inorgánicas por ejemplo sales de metales como sales de metales alcalinos, por ejemplo, sales de sodio, sales de potasio y sales de litio, sales de metales alcalinotérreos, por ejemplo, sales de calcio y sales de magnesio, sales de aluminio, sales de hierro, sales de zinc, sales de cobre, sales de níquel y sales de cobalto; sales de amina como sales inorgánicas, por ejemplo, sales de amonio, sales orgánicas, por ejemplo, sales de t-octilamina, sales de dibenzilamina, sales de morfolino, sales de glucosamina, sales de éster de fenilglicina de alquilo, sales de etilendiamina, sales de N-metilglucamina, sales de guanidina, sales de dietilamina, sales de trietilamina, sales de dicitclohexilamina, sales de N,N'-dibenziletiletilendiamina, sales de cloroprocaina, sales de procaina, sales de dietanolamina, sales de N-benzil-fenetilamina, sales de piperazina, sales de tetrametilamonio y sales de tris(hidroximetil)aminometano; sales de ácido inorgánico como sales de ácido hidrohlogénico, por ejemplo, sales de ácido fluorhídrico, sales de ácido clorhídrico, sales de ácido bromhídrico y sales de ácido yodhídrico, sales de ácido nítrico, sales de ácido perclórico, sales de ácido sulfúrico y sales de ácido fosfórico; sales de ácido orgánico como sales de ácido alcansulfónico inferior, por ejemplo, metansulfónico, sales de ácido trifluorometansulfónico y sales de ácido etansulfónico, sales de ácido arilsulfónico, por ejemplo, sales de ácido benzensulfónico y sales de ácido p-toluensulfónico, sales de ácido acético, sales de ácido málico, sales de ácido fumárico, sales de ácido succínico, sales de ácido cítrico, sales de ácido tartárico, sales de ácido oxálico y sales de ácido maleico; y sales de aminoácido como sales de glicina, sales de lisina, sales de arginina, sales de ornitina, sales de ácido glutámico y sales de ácido aspártico.

De los compuestos (1) y de sus sales de la presente invención, los compuesto preferidos pueden incluir

(1) compuestos en los que R¹ es un átomo de hidrógeno, un grupo acilo alifático, un grupo acilo aromático, un grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupo arilos, un grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupo arilos el anillo de arilo del cuál está sustituido por un grupo alquilo inferior, alcóxido inferior, halógeno o ciano, o un grupo sililo, y sus sales;

(2) compuestos en los que R¹ es un átomo de hidrógeno, un grupo acetilo, un grupo benzoilo, un grupo benzilo, un grupo p-metoxibenzilo, un grupo dimetoxitritilo, un grupo mono-metoxitritilo o un grupo tert-butildifenilsililo, y sus sales;

(3) compuestos en los que R² es un átomo de hidrógeno, un grupo acilo alifático, un grupo acilo aromático, un grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupo arilos, un grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupo arilos el anillo de arilo del cuál está sustituido por un grupo alquilo inferior, un alcóxido inferior, un halógeno o ciano, un grupo sililo, un grupo fosforamidita, un grupo fosfonilo, un grupo ácido fosfórico o un grupo ácido fosfórico protegido, y sus sales;

(4) compuestos en los que R² es un átomo de hidrógeno, un grupo acetilo, un grupo benzoilo, un grupo benzilo, un grupo p-metoxibenzilo, un grupo tert-butildifenilsililo, -P(OC₂H₄CN)(NCH(CH₃)₂), -P(OCH₃)(NCH(CH₃)₂), un grupo fosfonilo o un grupo ácido fosfórico de 2-clorofenilo o 4-clorofenilo, y sus sales;

(5) compuestos en los que A es un grupo metileno, y sus sales;

(6) compuestos en los que B es un grupo 6-aminopurin-9-ilo (es decir, adeninilo), 6-aminopurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2,6-diaminopurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo (es decir, guaninilo), 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo el grupo amino y el grupo hidroxilo del cual están protegidos, 6-amino-2-metoxipurin-9-ilo, 6-amino-2-cloropurin-9-ilo, 6-amino-2-fluoropurin-9-ilo, 2,6-dimetoxipurin-9-ilo, 2,6-dicloropurin-9-ilo, 6-mercaptipurin-9-ilo, 2-oxo-4-amino-pirimidin-1-ilo (es decir, citosinilo), 2-oxo-4-amino-pirimidin-1-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-pirimidin-1-ilo el grupo amino del cual está protegido, 4-amino-2-oxo-5-cloro-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-metoxi-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-mercapto-

ES 2 234 563 T3

pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-hidroxi-pirimidin-1-ilo (es decir, uracilo), 2-oxo-4-hidroxi-5-metilpirimidin-1-ilo (es decir, timinilo), 4-amino-5-metil-2-oxo-pirimidin-1-ilo (es decir, 5-metilcitosinilo) o 4-amino-5-metil-2-oxo-pirimidin-1-ilo el grupo amino del cual está protegido, y sus sales; y

- 5 (7) compuestos en los que B es un grupo 6-benzoilaminopurin-9-ilo, adeninilo, 2-isobutirilamino-6-hidroxipurin-9-ilo, guaninilo, 2-oxo-4-benzoilamino-pirimidin-1-ilo, citosinilo, 2-oxo-5-metil-4-benzoilamino-pirimidin-1-ilo, 5-metilcitosinilo, uracilo o timinilo, y sus sales.

10 Los puntos (1) y (2), (3) y (4) o (6) y (7) de más arriba indican a mayor número los compuestos más preferidos y en la fórmula (1), se prefiere el compuesto obtenido mediante opcionalmente seleccionando R¹ de (1) y (2), opcionalmente seleccionando R² de (3) y (4), opcionalmente seleccionando A de (5) y opcionalmente seleccionando B de (6) y (7) o mediante opcionalmente combinándolos y combinando sus sales y se prefieren en particular los compuestos y sus sales que se eligen entre los siguientes grupos.

15 (Grupo de compuestos)

2'-O,4'-C-etilenguanosina,

2'-O,4'-C-etiladenosina,

20 3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina,

3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina,

25 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina,

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina,

2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina,

30 2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina,

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita,

35 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina-3'-O-(2-cianoetil

N,N-diisopropilo)fosforamidita,

2'-O,4'-C-etilenuridina,

40 2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina,

2'-O,4'-C-etilencitidina,

45 2'-O,4'-C-etilen-5-metilcitidina,

3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilenuridina,

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilenuridina,

50 3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina,

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina,

55 3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina,

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina,

3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina,

60 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina,

2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina,

65 2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina,

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-uridina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita,

ES 2 234 563 T3

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita,

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitudina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita, y

5 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitudina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita.

De los análogos de oligonucleótido que contienen una o dos o más estructuras de fórmula (2) y sus sales farmacológicamente aceptables de la presente invención, los compuestos preferidos pueden incluir

10

(8) análogos de oligonucleótido en los que A es un grupo metileno, y sus sales farmacológicamente aceptables;

(9) análogos de oligonucleótido en los que B es un grupo 6-aminopurin-9-ilo (es decir, adeninilo), 6-aminopurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2,6-diaminopurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo (es decir, guaninilo), 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo el grupo amino y el grupo hidroxilo del cual están protegidos, 6-amino-2-metoxipurin-9-ilo, 6-amino-2-cloropurin-9-ilo, 6-amino-2-fluoropurin-9-ilo, 2,6-dimetoxipurin-9-ilo, 2,6-dicloropurin-9-ilo, 6-mercaptopurin-9-ilo, 2-oxo-4-amino-pirimidin-1-ilo (es decir, citosinilo), 2-oxo-4-amino-pirimidin-1-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-pirimidin-1-ilo el grupo amino del cual está protegido, 4-amino-2-oxo-5-cloro-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-metoxi-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-mercapto-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-hidroxi-pirimidin-1-ilo (es decir, uracinilo), 2-oxo-4-hidroxi-5-metilpirimidin-1-ilo (es decir, timinilo), 4-amino-5-metil-2-oxo-pirimidin-1-ilo (es decir, 5-metilcitosinilo) o a 4-amino-5-metil-2-oxo-pirimidin-1-ilo el grupo amino del cual está protegido, y sus sales farmacológicamente aceptables; y

20

(10) análogos de oligonucleótido en los que B es un grupo 6-benzoilaminopurin-9-ilo, adeninilo, 2-isobutirilamino-6-hidroxipurin-9-ilo, guaninilo, 2-oxo-4-benzoilamino-pirimidin-1-ilo, citosinilo, 2-oxo-5-metil-4-benzoilamino-pirimidin-1-ilo, 5-metilcitosinilo, uracinilo o timinilo, y sus sales farmacológicamente aceptables.

30

Los puntos (9) y (10) de más arriba indican a mayor número los análogos de oligonucleótido que más se prefieren, y en la fórmula (2), se prefieren los análogos de oligonucleótido obtenidos mediante opcionalmente seleccionando A de (8) y opcionalmente seleccionando B de (9) y (10) u opcionalmente combinándolos y sus sales farmacológicamente aceptables.

35

Se ilustran los compuestos específicos incluidos en el compuesto de más arriba de fórmula (1) de la presente invención en las Tablas 1 y 2. Sin embargo, los compuestos de la presente invención no se limitan a éstos.

En la Tabla 1 y Tabla 2 Exe. com. num. significa Ejemplificación del compuesto número, Me representa un grupo metilo, Bn representa un grupo benzilo, Bz representa un grupo benzoilo, PMB representa un grupo p-metoxibenzilo, Tr representa un grupo trifenilmetilo, MMTr representa un grupo 4-metoxitriifenilmetilo (monometoxitritilo), DMTr representa un grupo 4,4'-dimetoxitriifenilmetilo (dimetoxitritilo), TMTr representa un grupo 4,4',4''-trimetoxitriifenilmetilo (trimetoxitritilo), TMS representa un grupo trimetilsililo, TBDMS representa un grupo tert-butildimetilsililo, TBDPS representa un grupo tert-butildifenilsililo y TIPS representa un grupo triisopropilsililo.

45

(Tabla pasa a página siguiente)

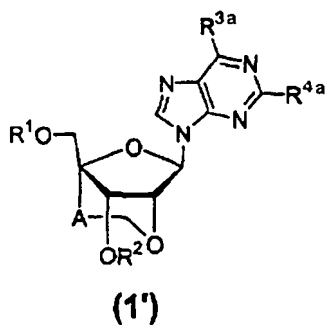
50

55

60

65

TABLA I



Exe. com. num.	A	R ¹	R ²	R ^{3a}	R ^{4a}
1-1	CH ₂	H	H	H	H
1-2	CH ₂	H	H	H	NH ₂
1-3	CH ₂	H	H	H	OH
1-4	CH ₂	H	H	OH	H
1-5	CH ₂	H	H	OH	NH ₂
1-6	CH ₂	H	H	OH	OH
1-7	CH ₂	H	H	NH ₂	H
1-8	CH ₂	H	H	NH ₂	NH ₂
1-9	CH ₂	H	H	NH ₂	Cl
1-10	CH ₂	H	H	NH ₂	F
1-11	CH ₂	H	H	NH ₂	Br
1-12	CH ₂	H	H	NH ₂	OH
1-13	CH ₂	H	H	Ome	H
1-14	CH ₂	H	H	Ome	OMe
1-15	CH ₂	H	H	Ome	NH ₂
1-16	CH ₂	H	H	Cl	H
1-17	CH ₂	H	H	Br	H
1-18	CH ₂	H	H	F	H
1-19	CH ₂	H	H	Cl	Cl
1-20	CH ₂	H	H	SH	H
1-21	CH ₂	Bn	H	NHB	H
1-22	CH ₂	Bn	H	OH	NHCOCH(CH ₃)

2

ES 2 234 563 T3

5	1-23	CH ₂	Bn	Bn	NHB z	H
	1-24	CH ₂	Bn	Bn	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
10	1-25	CH ₂	PMB	H	NHB z	H
15	1-26	CH ₂	PMB	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	1-27	CH ₂	PMB	PMB	NHB z	H
20	1-28	CH ₂	PMB	PMB	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
25	1-29	CH ₂	Tr	H	NHB z	H
	1-30	CH ₂	MMTr	H	NHB z	H
30	1-31	CH ₂	DMTr	H	NHB z	H
35	1-32	CH ₂	TMTr	H	NHB z	H
40	1-33	CH ₂	Tr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	1-34	CH ₂	MMTr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
45	1-35	CH ₂	DMTr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
50	1-36	CH ₂	TMTr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
55	1-37	CH ₂	TMS	H	NHB z	H
	1-38	CH ₂	TBDMS	H	NHB z	H
60	1-39	CH ₂	TBDPS	H	NHB z	H
65	1-40	CH ₂	TIPS	H	NHB z	H

ES 2 234 563 T3

5	1-41	CH ₂	TMS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	1-42	CH ₂	TBDMS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
10	1-43	CH ₂	TBDPS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
15	1-44	CH ₂	TIPS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	1-45	(CH ₂) 2	H	H	H	H
20	1-46	(CH ₂) 2	H	H	H	NH ₂
25	1-47	(CH ₂) 2	H	H	H	OH
	1-48	(CH ₂) 2	H	H	OH	H
30	1-49	(CH ₂) 2	H	H	OH	NH ₂
35	1-50	(CH ₂) 2	H	H	OH	OH
40	1-51	(CH ₂) 2	H	H	NH ₂	H
	1-52	(CH ₂) 2	H	H	NH ₂	NH ₂
45	1-53	(CH ₂) 2	H	H	NH ₂	Cl
50	1-54	(CH ₂) 2	H	H	NH ₂	F
55	1-55	(CH ₂) 2	H	H	NH ₂	Br
	1-56	(CH ₂) 2	H	H	NH ₂	OH
60	1-57	(CH ₂) 2	H	H	OMe	H
65	1-58	(CH ₂) 2	H	H	OMe	OMe

ES 2 234 563 T3

5	1-59	(CH ₂) 2	H	H	OMe	NH ₂
	1-60	(CH ₂) 2	H	H	Cl	H
10	1-61	(CH ₂) 2	H	H	Br	H
	1-62	(CH ₂) 2	H	H	F	H
15	1-63	(CH ₂) 2	H	H	Cl	Cl
	1-64	(CH ₂) 2	H	H	SH	H
25	1-65	(CH ₂) 2	Bn	H	NHB z	H
	1-66	(CH ₂) 2	Bn	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
30	1-67	(CH ₂) 2	Bn	Bn	NHB z	H
	1-68	(CH ₂) 2	Bn	Bn	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
35	1-69	(CH ₂) 2	PMB	H	NHB z	H
	1-70	(CH ₂) 2	PMB	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
45	1-71	(CH ₂) 2	PMB	PMB	NHB z	H
	1-72	(CH ₂) 2	PMB	PMB	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
50	1-73	(CH ₂) 2	Tr	H	NHB z	H
55	1-74	(CH ₂) 2	MMTr	H	NHB z	H
	1-75	(CH ₂) 2	DMTr	H	NHB z	H
65	1-76	(CH ₂) 2	TMTr	H	NHB z	H

ES 2 234 563 T3

5	1-77	(CH ₂) 2	Tr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
10	1-78	(CH ₂) 2	MMTr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
15	1-79	(CH ₂) 2	DMTr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
20	1-80	(CH ₂) 2	TMTr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
25	1-81	(CH ₂) 2	TMS	H	NHB Z	H
30	1-82	(CH ₂) 2	TBDMS	H	NHB Z	H
35	1-83	(CH ₂) 2	TBDPS	H	NHB Z	H
40	1-84	(CH ₂) 2	TIPS	H	NHB Z	H
45	1-85	(CH ₂) 2	TMS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
50	1-86	(CH ₂) 2	TBDMS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
55	1-87	(CH ₂) 2	TBDPS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
60	1-88	(CH ₂) 2	TIPS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
65	1-89	(CH ₂) 3	H	H	H	H
	1-90	(CH ₂) 3	H	H	H	NH ₂
	1-91	(CH ₂) 3	H	H	H	OH
	1-92	(CH ₂) 3	H	H	OH	H
	1-93	(CH ₂) 3	H	H	OH	NH ₂
	1-94	(CH ₂) 3	H	H	OH	OH

ES 2 234 563 T3

5	1-95	(CH ₂) 3	H	H	NH ₂	H
	1-96	(CH ₂) 3	H	H	NH ₂	NH ₂
10	1-97	(CH ₂) 3	H	H	NH ₂	Cl
15	1-98	(CH ₂) 3	H	H	NH ₂	F
20	1-99	(CH ₂) 3	H	H	NH ₂	Br
	1-100	(CH ₂) 3	H	H	NH ₂	OH
25	1-101	(CH ₂) 3	H	H	OMe	H
30	1-102	(CH ₂) 3	H	H	OMe	OMe
35	1-103	(CH ₂) 3	H	H	OMe	NH ₂
	1-104	(CH ₂) 3	H	H	Cl	H
40	1-105	(CH ₂) 3	H	H	Br	H
45	1-106	(CH ₂) 3	H	H	F	H
50	1-107	(CH ₂) 3	H	H	Cl	Cl
	1-108	(CH ₂) 3	H	H	SH	H
55	1-109	(CH ₂) 3	Bn	H	NHB z	H
60	1-110	(CH ₂) 3	Bn	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	1-111	(CH ₂) 3	Bn	Bn	NHB z	H
65	1-112	(CH ₂) 3	Bn	Bn	OH	NHCOCH(CH ₃) 2

ES 2 234 563 T3

5	1-113	(CH ₂) 3	PMB	H	NHB z	H
	1-114	(CH ₂) 3	PMB	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
10	1-115	(CH ₂) 3	PMB	PMB	NHB z	H
15	1-116	(CH ₂) 3	PMB	PMB	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
20	1-117	(CH ₂) 3	Tr	H	NHB z	H
	1-118	(CH ₂) 3	MMTr	H	NHB z	H
25	1-119	(CH ₂) 3	DMTr	H	NHB z	H
30	1-120	(CH ₂) 3	TMTr	H	NHB z	H
	1-121	(CH ₂) 3	Tr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
35	1-122	(CH ₂) 3	MMTr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
40	1-123	(CH ₂) 3	DMTr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
45	1-124	(CH ₂) 3	TMTr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	1-125	(CH ₂) 3	TMS	H	NHB z	H
50	1-126	(CH ₂) 3	TBDMS	H	NHB z	H
55	1-127	(CH ₂) 3	TBDPS	H	NHB z	H
	1-128	(CH ₂) 3	TIPS	H	NHB z	H
60	1-129	(CH ₂) 3	TMS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
65	1-130	(CH ₂) 3	TBDMS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2

ES 2 234 563 T3

5	1- 131	(CH ₂) 3	TBDPS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	1- 132	(CH ₂) 3	TIPS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
10	1- 133	(CH ₂) 4	H	H	H	H
15	1- 134	(CH ₂) 4	H	H	H	NH ₂
20	1- 135	(CH ₂) 4	H	H	H	OH
	1- 136	(CH ₂) 4	H	H	OH	H
25	1- 137	(CH ₂) 4	H	H	OH	NH ₂
30	1- 138	(CH ₂) 4	H	H	OH	OH
	1- 139	(CH ₂) 4	H	H	NH ₂	H
35	1- 140	(CH ₂) 4	H	H	NH ₂	NH ₂
40	1- 141	(CH ₂) 4	H	H	NH ₂	Cl
45	1- 142	(CH ₂) 4	H	H	NH ₂	F
	1- 143	(CH ₂) 4	H	H	NH ₂	Br
50	1- 144	(CH ₂) 4	H	H	NH ₂	OH
55	1- 145	(CH ₂) 4	H	H	OMe	H
60	1- 146	(CH ₂) 4	H	H	OMe	OMe
	1- 147	(CH ₂) 4	H	H	OMe	NH ₂
65	1- 148	(CH ₂) 4	H	H	Cl	H

ES 2 234 563 T3

5	1- 149	(CH ₂) 4	H	H	Br	H
	1- 150	(CH ₂) 4	H	H	F	H
10	1- 151	(CH ₂) 4	H	H	Cl	Cl
15	1- 152	(CH ₂) 4	H	H	SH	H
20	1- 153	(CH ₂) 4	Bn	H	NHB z	H
	1- 154	(CH ₂) 4	Bn	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
25	1- 155	(CH ₂) 4	Bn	Bn	NHB z	H
30	1- 156	(CH ₂) 4	Bn	Bn	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
35	1- 157	(CH ₂) 4	PMB	H	NHB z	H
	1- 158	(CH ₂) 4	PMB	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
40	1- 159	(CH ₂) 4	PMB	PMB	NHB z	H
45	1- 160	(CH ₂) 4	PMB	PMB	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
50	1- 161	(CH ₂) 4	Tr	H	NHB z	H
	1- 162	(CH ₂) 4	MMTr	H	NHB z	H
55	1- 163	(CH ₂) 4	DMTr	H	NHB z	H
60	1- 164	(CH ₂) 4	TMTr	H	NHB z	H
	1- 165	(CH ₂) 4	Tr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
65	1- 166	(CH ₂) 4	MMTr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2

ES 2 234 563 T3

5	167	1-	(CH ₂) 4	DMTr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	168	1-	(CH ₂) 4	TMTr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
10	169	1-	(CH ₂) 4	TMS	H	NHB z	H
15	170	1-	(CH ₂) 4	TBDMS	H	NHB z	H
	171	1-	(CH ₂) 4	TBDPS	H	NHB z	H
20	172	1-	(CH ₂) 4	TIPS	H	NHB z	H
25	173	1-	(CH ₂) 4	TMS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	174	1-	(CH ₂) 4	TBDMS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
30	175	1-	(CH ₂) 4	TBDPS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
35	176	1-	(CH ₂) 4	TIPS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
40	177	1-	CH ₂	H	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
45	178	1-	CH ₂	H	H	NHB z	H
	179	1-	(CH ₂) 2	H	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
50	180	1-	(CH ₂) 2	H	H	NHB z	H
55	181	1-	(CH ₂) 3	H	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	182	1-	(CH ₂) 3	H	H	NHB z	H
60	183	1-	(CH ₂) 4	H	H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
65	184	1-	(CH ₂) 4	H	H	NHB z	H

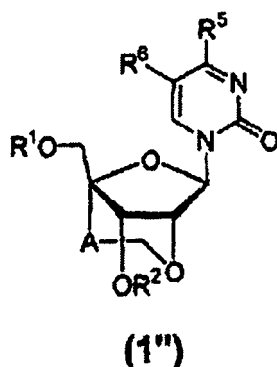
ES 2 234 563 T3

5	1-	CH ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ C N)	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	185					
	1-	CH ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ C N)	NHB z	H
	186					
10	1-	(CH ₂) 2	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ C N)	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	187					
15	1-	(CH ₂) 2	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ C N)	NHB z	H
	188					
20	1-	(CH ₂) 3	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ C N)	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	189					
25	1-	(CH ₂) 3	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ C N)	NHB z	H
	190					
30	1-	(CH ₂) 4	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ C N)	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	191					
35	1-	(CH ₂) 4	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ C N)	NHB z	H
	192					
40	1-	CH ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	193					
45	1-	CH ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	NHB z	H
	194					
50	1-	(CH ₂) 2	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	195					
55	1-	(CH ₂) 2	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	NHB z	H
	196					
60	1-	(CH ₂) 3	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	197					
65	1-	(CH ₂) 3	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	NHB z	H
	198					
	1-	(CH ₂) 4	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	199					
	1-	(CH ₂) 4	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	NHB z	H
	200					
	1-	CH ₂	DMTr	P(O)(OH)H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
	201					
	1-	CH ₂	DMTr	P(O)(OH)H	NHB z	H
	202					

ES 2 234 563 T3

1- 203	(CH ₂) 2	DMTr	P(O)(OH)H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
1- 204	(CH ₂) 2	DMTr	P(O)(OH)H	NHB z	H
1- 205	(CH ₂) 3	DMTr	P(O)(OH)H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
1- 206	(CH ₂) 3	DMTr	P(O)(OH)H	NHB z	H
1- 207	(CH ₂) 4	DMTr	P(O)(OH)H	OH	NHCOCH(CH ₃) 2
1- 208	(CH ₂) 4	DMTr	P(O)(OH)H	NHB z	H

TABLA 2



Exe. com. num.	A	R ¹	R ²	R ⁵	R ⁶
2-1	CH ₂	H	H	OH	H
2-2	CH ₂	H	H	OH	CH ₃
2-3	CH ₂	H	H	NH ₂	H
2-4	CH ₂	H	H	NH ₂	CH ₃
2-5	CH ₂	H	H	NH ₂	F
2-6	CH ₂	H	H	Cl	H
2-7	CH ₂	H	H	OMe	H
2-8	CH ₂	H	H	SH	H
2-9	CH ₂	Bn	H	OH	H
2-10	CH ₂	Bn	Bn	OH	H
2-11	CH ₂	PMB	H	OH	H

ES 2 234 563 T3

	2-12	CH ₂	PMB	PMB	OH	H	
5		2-13	CH ₂	Tr	H	OH	H
		2-14	CH ₂	MMTr	H	OH	H
		2-15	CH ₂	DMTr	H	OH	H
10		2-16	CH ₂	TMTr	H	OH	H
		2-17	CH ₂	TMS	H	OH	H
		2-18	CH ₂	TBDMS	H	OH	H
15		2-19	CH ₂	TBDPS	H	OH	H
		2-20	CH ₂	TIPS	H	OH	H
		2-21	CH ₂	Bn	H	OH	CH ₃
20		2-22	CH ₂	Bn	Bn	OH	CH ₃
		2-23	CH ₂	PMB	H	OH	CH ₃
		2-24	CH ₂	PMB	PMB	OH	CH ₃
25		2-25	CH ₂	Tr	H	OH	CH ₃
		2-26	CH ₂	MMTr	H	OH	CH ₃
		2-27	CH ₂	DMTr	H	OH	CH ₃
30		2-28	CH ₂	TMTr	H	OH	CH ₃
		2-29	CH ₂	TMS	H	OH	CH ₃
		2-30	CH ₂	TBDMS	H	OH	CH ₃
35		2-31	CH ₂	TBDPS	H	OH	CH ₃
		2-32	CH ₂	TIPS	H	OH	CH ₃
40		2-33	CH ₂	Bn	H	NHBz	H
		2-34	CH ₂	Bn	Bn	NHBz	H
		2-35	CH ₂	PMB	H	NHBz	H
45		2-36	CH ₂	PMB	PMB	NHBz	H
		2-37	CH ₂	Tr	H	NHBz	H
		2-38	CH ₂	MMTr	H	NHBz	H
50		2-39	CH ₂	DMTr	H	NHBz	H
		2-40	CH ₂	TMTr	H	NHBz	H
55		2-41	CH ₂	TMS	H	NHBz	H
		2-42	CH ₂	TBDMS	H	NHBz	H
		2-43	CH ₂	TBDPS	H	NHBz	H
60		2-44	CH ₂	TIPS	H	NHBz	H
		2-45	CH ₂	Bn	H	NHBz	CH ₃
65		2-46	CH ₂	Bn	Bn	NHBz	CH ₃

ES 2 234 563 T3

	2-47	CH ₂	PMB	H	NHBz	CH ₃	
5		2-48	CH ₂	PMB	PMB	NHBz	CH ₃
		2-49	CH ₂	Tr	H	NHBz	CH ₃
		2-50	CH ₂	MMTr	H	NHBz	CH ₃
10		2-51	CH ₂	DMTr	H	NHBz	CH ₃
		2-52	CH ₂	TMTr	H	NHBz	CH ₃
		2-53	CH ₂	TMS	H	NHBz	CH ₃
15		2-54	CH ₂	TBDMS	H	NHBz	CH ₃
		2-55	CH ₂	TBDPS	H	NHBz	CH ₃
		2-56	CH ₂	TIPS	H	NHBz	CH ₃
20		2-57	(CH ₂) ₂	H	H	OH	H
		2-58	(CH ₂) ₂	H	H	OH	CH ₃
25		2-59	(CH ₂) ₂	H	H	NH ₂	H
		2-60	(CH ₂) ₂	H	H	NH ₂	CH ₃
		2-61	(CH ₂) ₂	H	H	NH ₂	F
30		2-62	(CH ₂) ₂	H	H	Cl	H
		2-63	(CH ₂) ₂	H	H	OMe	H
		2-64	(CH ₂) ₂	H	H	SH	H
35		2-65	(CH ₂) ₂	Bn	H	OH	H
		2-66	(CH ₂) ₂	Bn	Bn	OH	H
40		2-67	(CH ₂) ₂	PMB	H	OH	H
		2-68	(CH ₂) ₂	PMB	PMB	OH	H
		2-69	(CH ₂) ₂	Tr	H	OH	H
45		2-70	(CH ₂) ₂	MMTr	H	OH	H
		2-71	(CH ₂) ₂	DMTr	H	OH	H
		2-72	(CH ₂) ₂	TMTr	H	OH	H
50		2-73	(CH ₂) ₂	TMS	H	OH	H
		2-74	(CH ₂) ₂	TBDMS	H	OH	H
55		2-75	(CH ₂) ₂	TBDPS	H	OH	H
		2-76	(CH ₂) ₂	TIPS	H	OH	H
		2-77	(CH ₂) ₂	Bn	H	OH	CH ₃
60		2-78	(CH ₂) ₂	Bn	Bn	OH	CH ₃
		2-79	(CH ₂) ₂	PMB	H	OH	CH ₃
		2-80	(CH ₂) ₂	PMB	PMB	OH	CH ₃
65		2-81	(CH ₂) ₂	Tr	H	OH	CH ₃

ES 2 234 563 T3

	2-82	(CH ₂) ₂	MMTr	H	OH	CH ₃
	2-83	(CH ₂) ₂	DMTr	H	OH	CH ₃
5	2-84	(CH ₂) ₂	TMTr	H	OH	CH ₃
	2-85	(CH ₂) ₂	TMS	H	OH	CH ₃
10	2-86	(CH ₂) ₂	TBDMS	H	OH	CH ₃
	2-87	(CH ₂) ₂	TBDPS	H	OH	CH ₃
	2-88	(CH ₂) ₂	TIPS	H	OH	CH ₃
15	2-89	(CH ₂) ₂	Bn	H	NHBz	H
	2-90	(CH ₂) ₂	Bn	Bn	NHBz	H
	2-91	(CH ₂) ₂	PMB	H	NHBz	H
20	2-92	(CH ₂) ₂	PMB	PMB	NHBz	H
	2-93	(CH ₂) ₂	Tr	H	NHBz	H
25	2-94	(CH ₂) ₂	MMTr	H	NHBz	H
	2-95	(CH ₂) ₂	DMTr	H	NHBz	H
	2-96	(CH ₂) ₂	TMTr	H	NHBz	H
30	2-97	(CH ₂) ₂	TMS	H	NHBz	H
	2-98	(CH ₂) ₂	TBDMS	H	NHBz	H
	2-99	(CH ₂) ₂	TBDPS	H	NHBz	H
35	2-100	(CH ₂) ₂	TIPS	H	NHBz	H
	2-101	(CH ₂) ₂	Bn	H	NHBz	CH ₃
40	2-102	(CH ₂) ₂	Bn	Bn	NHBz	CH ₃
	2-103	(CH ₂) ₂	PMB	H	NHBz	CH ₃
	2-104	(CH ₂) ₂	PMB	PMB	NHBz	CH ₃
45	2-105	(CH ₂) ₂	Tr	H	NHBz	CH ₃
	2-106	(CH ₂) ₂	MMTr	H	NHBz	CH ₃
50	2-107	(CH ₂) ₂	DMTr	H	NHBz	CH ₃
	2-108	(CH ₂) ₂	TMTr	H	NHBz	CH ₃
	2-109	(CH ₂) ₂	TMS	H	NHBz	CH ₃
55	2-110	(CH ₂) ₂	TBDMS	H	NHBz	CH ₃
	2-111	(CH ₂) ₂	TBDPS	H	NHBz	CH ₃
	2-112	(CH ₂) ₂	TIPS	H	NHBz	CH ₃
60	2-113	(CH ₂) ₃	H	H	OH	H
	2-114	(CH ₂) ₃	H	H	OH	CH ₃
	2-115	(CH ₂) ₃	H	H	NH ₂	H
65	2-116	(CH ₂) ₃	H	H	NH ₂	CH ₃

ES 2 234 563 T3

	2-117	(CH ₂) ₃	H	H	NH ₂	F
5	2-118	(CH ₂) ₃	H	H	Cl	H
	2-119	(CH ₂) ₃	H	H	OMe	H
	2-120	(CH ₂) ₃	H	H	SH	H
10	2-121	(CH ₂) ₃	Bn	H	OH	H
	2-122	(CH ₂) ₃	Bn	Bn	OH	H
	2-123	(CH ₂) ₃	PMB	H	OH	H
15	2-124	(CH ₂) ₃	PMB	PMB	OH	H
	2-125	(CH ₂) ₃	Tr	H	OH	H
	2-126	(CH ₂) ₃	MMTr	H	OH	H
20	2-127	(CH ₂) ₃	DMTr	H	OH	H
	2-128	(CH ₂) ₃	TMTr	H	OH	H
25	2-129	(CH ₂) ₃	TMS	H	OH	H
	2-130	(CH ₂) ₃	TBDMS	H	OH	H
	2-131	(CH ₂) ₃	TBDPS	H	OH	H
30	2-132	(CH ₂) ₃	TIPS	H	OH	H
	2-133	(CH ₂) ₃	Bn	H	OH	CH ₃
35	2-134	(CH ₂) ₃	Bn	Bn	OH	CH ₃
	2-135	(CH ₂) ₃	PMB	H	OH	CH ₃
	2-136	(CH ₂) ₃	PMB	PMB	OH	CH ₃
40	2-137	(CH ₂) ₃	Tr	H	OH	CH ₃
	2-138	(CH ₂) ₃	MMTr	H	OH	CH ₃
	2-139	(CH ₂) ₃	DMTr	H	OH	CH ₃
45	2-140	(CH ₂) ₃	TMTr	H	OH	CH ₃
	2-141	(CH ₂) ₃	TMS	H	OH	CH ₃
50	2-142	(CH ₂) ₃	TBDMS	H	OH	CH ₃
	2-143	(CH ₂) ₃	TBDPS	H	OH	CH ₃
	2-144	(CH ₂) ₃	TIPS	H	OH	CH ₃
55	2-145	(CH ₂) ₃	Bn	H	NHBz	H
	2-146	(CH ₂) ₃	Bn	Bn	NHBz	H
	2-147	(CH ₂) ₃	PMB	H	NHBz	H
60	2-148	(CH ₂) ₃	PMB	PMB	NHBz	H
	2-149	(CH ₂) ₃	Tr	H	NHBz	H
	2-150	(CH ₂) ₃	MMTr	H	NHBz	H
65	2-151	(CH ₂) ₃	DMTr	H	NHBz	H

ES 2 234 563 T3

5	2-152	(CH ₂) ₃	TMTr	H	NHBz	H
	2-153	(CH ₂) ₃	TMS	H	NHBz	H
	2-154	(CH ₂) ₃	TBDMS	H	NHBz	H
	2-155	(CH ₂) ₃	TBDPS	H	NHBz	H
10	2-156	(CH ₂) ₃	TIPS	H	NHBz	H
	2-157	(CH ₂) ₃	Bn	H	NHBz	CH ₃
	2-158	(CH ₂) ₃	Bn	Bn	NHBz	CH ₃
15	2-159	(CH ₂) ₃	PMB	H	NHBz	CH ₃
	2-160	(CH ₂) ₃	PMB	PMB	NHBz	CH ₃
	2-161	(CH ₂) ₃	Tr	H	NHBz	CH ₃
20	2-162	(CH ₂) ₃	MMTr	H	NHBz	CH ₃
	2-163	(CH ₂) ₃	DMTr	H	NHBz	CH ₃
25	2-164	(CH ₂) ₃	TMTr	H	NHBz	CH ₃
	2-165	(CH ₂) ₃	TMS	H	NHBz	CH ₃
	2-166	(CH ₂) ₃	TBDMS	H	NHBz	CH ₃
30	2-167	(CH ₂) ₃	TBDPS	H	NHBz	CH ₃
	2-168	(CH ₂) ₃	TIPS	H	NHBz	CH ₃
35	2-169	(CH ₂) ₄	H	H	OH	H
	2-170	(CH ₂) ₄	H	H	OH	CH ₃
	2-171	(CH ₂) ₄	H	H	NH ₂	H
40	2-172	(CH ₂) ₄	H	H	NH ₂	CH ₃
	2-173	(CH ₂) ₄	H	H	NH ₂	F
	2-174	(CH ₂) ₄	H	H	Cl	H
45	2-175	(CH ₂) ₄	H	H	OMe	H
	2-176	(CH ₂) ₄	H	H	SH	H
	2-177	(CH ₂) ₄	Bn	H	OH	H
50	2-178	(CH ₂) ₄	Bn	Bn	OH	H
	2-179	(CH ₂) ₄	PMB	H	OH	H
55	2-180	(CH ₂) ₄	PMB	PMB	OH	H
	2-181	(CH ₂) ₄	Tr	H	OH	H
	2-182	(CH ₂) ₄	MMTr	H	OH	H
60	2-183	(CH ₂) ₄	DMTr	H	OH	H
	2-184	(CH ₂) ₄	TMTr	H	OH	H
	2-185	(CH ₂) ₄	TMS	H	OH	H
65	2-186	(CH ₂) ₄	TBDMS	H	OH	H

ES 2 234 563 T3

5	2-187	(CH ₂) ₄	TBDPS	H	OH	H
	2-188	(CH ₂) ₄	TIPS	H	OH	H
	2-189	(CH ₂) ₄	Bn	H	OH	CH ₃
	2-190	(CH ₂) ₄	Bn	Bn	OH	CH ₃
10	2-191	(CH ₂) ₄	PMB	H	OH	CH ₃
	2-192	(CH ₂) ₄	PMB	PMB	OH	CH ₃
	2-193	(CH ₂) ₄	Tr	H	OH	CH ₃
15	2-194	(CH ₂) ₄	MMTr	H	OH	CH ₃
	2-195	(CH ₂) ₄	DMTr	H	OH	CH ₃
	2-196	(CH ₂) ₄	TMTr	H	OH	CH ₃
20	2-197	(CH ₂) ₄	TMS	H	OH	CH ₃
	2-198	(CH ₂) ₄	TBDMS	H	OH	CH ₃
	2-199	(CH ₂) ₄	TBDPS	H	OH	CH ₃
25	2-200	(CH ₂) ₄	TIPS	H	OH	CH ₃
	2-201	(CH ₂) ₄	Bn	H	NHBz	H
30	2-202	(CH ₂) ₄	Bn	Bn	NHBz	H
	2-203	(CH ₂) ₄	PMB	H	NHBz	H
	2-204	(CH ₂) ₄	PMB	PMB	NHBz	H
35	2-205	(CH ₂) ₄	Tr	H	NHBz	H
	2-206	(CH ₂) ₄	MMTr	H	NHBz	H
40	2-207	(CH ₂) ₄	DMTr	H	NHBz	H
	2-208	(CH ₂) ₄	TMTr	H	NHBz	H
	2-209	(CH ₂) ₄	TMS	H	NHBz	H
45	2-210	(CH ₂) ₄	TBDMS	H	NHBz	H
	2-211	(CH ₂) ₄	TBDPS	H	NHBz	H
	2-212	(CH ₂) ₄	TIPS	H	NHBz	H
50	2-213	(CH ₂) ₄	Bn	H	NHBz	CH ₃
	2-214	(CH ₂) ₄	Bn	Bn	NHBz	CH ₃
55	2-215	(CH ₂) ₄	PMB	H	NHBz	CH ₃
	2-216	(CH ₂) ₄	PMB	PMB	NHBz	CH ₃
	2-217	(CH ₂) ₄	Tr	H	NHBz	CH ₃
60	2-218	(CH ₂) ₄	MMTr	H	NHBz	CH ₃
	2-219	(CH ₂) ₄	DMTr	H	NHBz	CH ₃
	2-220	(CH ₂) ₄	TMTr	H	NHBz	CH ₃
65	2-221	(CH ₂) ₄	TMS	H	NHBz	CH ₃

ES 2 234 563 T3

	2-222	(CH ₂) ₄	TBDMS	H	NHBz	CH ₃
	2-223	(CH ₂) ₄	TBDPS	H	NHBz	CH ₃
5	2-224	(CH ₂) ₄	TIPS	H	NHBz	CH ₃
	2-225	CH ₂	H	H	NHBz	H
	2-226	CH ₂	H	H	NHBz	CH ₃
10	2-227	(CH ₂) ₂	H	H	NHBz	H
	2-228	(CH ₂) ₂	H	H	NHBz	CH ₃
15	2-229	(CH ₂) ₃	H	H	NHBz	H
	2-230	(CH ₂) ₃	H	H	NHBz	CH ₃
	2-231	(CH ₂) ₄	H	H	NHBz	H
20	2-232	(CH ₂) ₄	H	H	NHBz	CH ₃
	2-233	CH ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	OH	H
	2-234	CH ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	OH	CH ₃
25	2-235	CH ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	NHBz	H
	2-236	CH ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	NHBz	CH ₃
30	2-237	(CH ₂) ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	OH	H
	2-238	(CH ₂) ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	OH	CH ₃
	2-239	(CH ₂) ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	NHBz	H
35	2-240	(CH ₂) ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	NHBz	CH ₃
	2-241	(CH ₂) ₃	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	OH	H
40	2-242	(CH ₂) ₃	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	OH	CH ₃
	2-243	(CH ₂) ₃	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	NHBz	H
	2-244	(CH ₂) ₃	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	NHBz	CH ₃
45	2-245	(CH ₂) ₄	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	OH	H
	2-246	(CH ₂) ₄	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	OH	CH ₃
50	2-247	(CH ₂) ₄	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	NHBz	H
	2-248	(CH ₂) ₄	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	NHBz	CH ₃
	2-249	CH ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	OH	H
55	2-250	CH ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	OH	CH ₃
	2-251	CH ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	NHBz	H
	2-252	CH ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	NHBz	CH ₃
60	2-253	(CH ₂) ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	OH	H
	2-254	(CH ₂) ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	OH	CH ₃
	2-255	(CH ₂) ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	NHBz	H
65	2-256	(CH ₂) ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	NHBz	CH ₃

ES 2 234 563 T3

5	2-257	(CH ₂) ₃	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	OH	H
	2-258	(CH ₂) ₃	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	OH	CH ₃
	2-259	(CH ₂) ₃	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	NHBz	H
	2-260	(CH ₂) ₃	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	NHBz	CH ₃
10	2-261	(CH ₂) ₄	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	OH	H
	2-262	(CH ₂) ₄	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	OH	CH ₃
	2-263	(CH ₂) ₄	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	NHBz	H
15	2-264	(CH ₂) ₄	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	NHBz	CH ₃

20 En la Tabla 1 y Tabla 2 de más arriba, los compuestos preferidos incluyen los compuestos (1-5), (1-7), (1-23), (1-24), (1-31), (1-35), (1-39), (1-43), (1-49), (1-51), (1-67), (1-68), (1-75), (1-79), (1-83), (1-87), (1-93), (1-95), (1-111), (1-112), (1-119), (1-123), (1-127), (1-131), (1-137), (1-139), (1-155), (1-156), (1-163), (1-167), (1-171), (1-175), (1-177), (1-178), (1-185), (1-186), (1-193), (1-194), (1-201), (1-202), (2-1), (2-2), (2-3), (2-4), (2-10), (2-15), (2-19), (2-22), (2-27), (2-31), (2-34), (2-39), (2-43), (2-46), (2-51), (2-55), (2-57), (2-58), (2-59), (2-60), (2-66), (2-71), (2-75), (2-78), (2-83), (2-87), (2-90), (2-95), (2-99), (2-102), (2-107), (2-111), (2-113), (2-114), (2-115), (2-116), (2-122), (2-127), (2-131), (2-134), (2-139), (2-143), (2-146), (2-151), (2-155), (2-158), (2-163), (2-167), (2-169), (2-170), (2-171), (2-172), (2-178), (2-183), (2-187), (2-190), (2-195), (2-199), (2-202), (2-207), (2-211), (2-214), (2-219), (2-223), (2-225), (2-226), (2-233), (2-234), (2-235) o (2-236), los compuestos que se prefieren más pueden incluir

- 25 2'-O,4'-C-etilenguanosina (1-5),
- 30 2'-O,4'-C-etilenadenosina (1-7),
- 35 3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina (1-23),
- 35 3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina (1-24),
- 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina (1-31),
- 40 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina (1-35),
- 40 2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina (1-177),
- 2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina (1-178),
- 45 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita (1-185),
- 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita (1-186),
- 50 2'-O,4'-C-etilenuridina (2-1),
- 2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina (2-2),
- 55 2'-O,4'-C-etilencitidina (2-3),
- 2'-O,4'-C-etilen-5-metilcitidina (2-4),
- 3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilenuridina (2-10),
- 60 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilenuridina (2-15),
- 3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina (2-22),
- 65 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina (2-27),
- 3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina (2-34),

ES 2 234 563 T3

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina (2-39),

3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina (2-46),

5 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina (2-51),

2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina (2-225),

2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina (2-226),

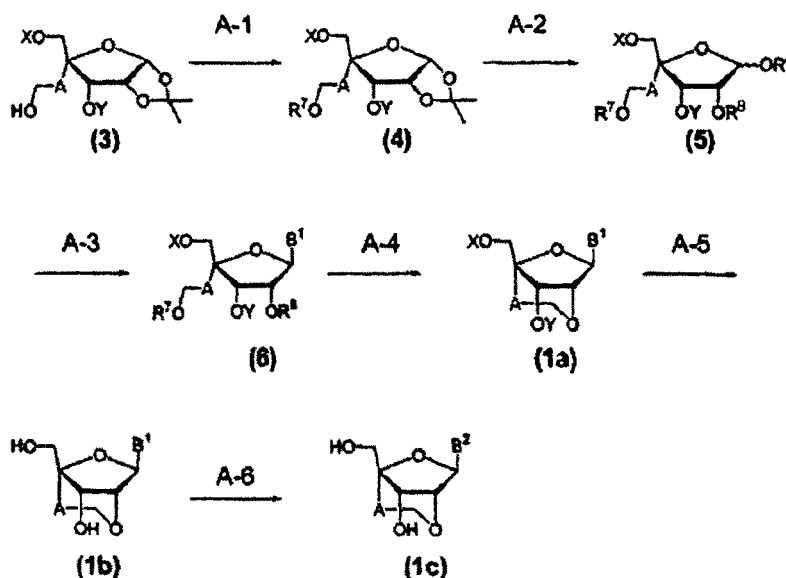
10 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-uridina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita (2-233),

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita (2-234),

15 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita (2-235), y

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita (2-236).

20 Proceso A



El compuesto (1) de la presente invención se puede producir de acuerdo con el Proceso A descrito más abajo.

En el Proceso A, X representa un grupo protector; Y representa un grupo protector; A tiene el mismo significado tal y como se ha definido más arriba; mientras B¹ representa un grupo purin-9-ilo, un grupo purin-9-ilo sustituido o un grupo 2-oxo-pirimidin-1-ilo sustituido, dichos sustituyentes se eligen entre R³ y R⁴ de más arriba pero con la exclusión de un grupo amino desprotegido de "un grupo amino que se puede proteger"; mientras B² representa un grupo purin-9-ilo, un grupo purin-9-ilo sustituido o un grupo 2-oxo-pirimidin-1-ilo sustituido, dichos sustituyentes se eligen entre R³ y R⁴ de más arriba pero con la exclusión de los grupos aminos protegidos de "un grupo amino que se puede proteger"; R⁷ representa un grupo que forma un grupo saliente; y R⁸ representa un grupo acilo alifático que tiene de 1 a 4 átomos de carbono.

El grupo protector de X es el mismo grupo que "el grupo protector hidroxilo" en R¹ de más arriba.

El grupo protector de Y es el mismo grupo que "el grupo protector hidroxilo" en R² de más arriba.

60 "El grupo que forma un grupo saliente" de R⁷ puede incluir un grupo alquilsulfonilo inferior como metansulfonilo y etansulfonilo; un grupo alquilsulfonilo inferior sustituido por halógeno como trifluorometansulfonilo; y un grupo arilsulfonilo como p-toluensulfonilo; se prefiere un grupo metansulfonilo o un grupo p-toluensulfonilo.

65 "El grupo acilo alifático que tiene de 2 a 4 átomos de carbono" de R⁸ puede incluir grupos acetilo, propionilo, butirilo y similares, se prefiere un grupo acetilo.

ES 2 234 563 T3

A continuación, cada uno de los pasos del Proceso A se describirá en detalle.

Paso A-1

5 Este paso consiste en preparar un compuesto (4) mediante la reacción de un compuesto (3) que se puede preparar mediante los Métodos del B al D que se describirán más adelante con un reactivo para introducir un grupo saliente en presencia de un catalizador base en un solvente inerte.

10 El solvente que se puede utilizar aquí puede incluir hidrocarburos alifáticos como hexano, heptano, ligroína y éter de petróleo; hidrocarburos aromáticos como benceno, tolueno y xileno; hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, dicloroetano, clorobenceno y diclorobenceno; ésteres como formato de etilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo y carbonato de dietilo; éteres como dietiléter, éter de diisopropilo, tetrahidrofurano, dioxano, dimetoxietano y éter de dimetilo de dietilen glicol; cetonas como acetona, metiletilcetona, metilisobutilcetona, isoforona y ciclohexanona; compuestos nitros como nitroetano y nitrobenzeno; 15 nitrilos como acetonitrilo y isobutironitrilo; amidas como formamida, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona, N-metilpirrolidinona y triamida hexametilfosfórica; sulfóxidos como sulfolano; y derivados de piridina; se prefiere piridina.

20 El catalizador base que se puede utilizar aquí preferentemente puede incluir una base como trietilamina, piridina y dimetilaminopiridina.

El reactivo para introducir un grupo saliente puede incluir haluros de alquilsulfonilo como cloruro de metansulfonilo y bromuro de etansulfonilo; y haluros de arilsulfonilo como cloruro de p-toluensulfonilo, se prefiere cloruro de metansulfonilo y cloruro de p-toluensulfonilo.

25 La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el reactivo para introducir a grupo saliente y el catalizador base, pero usualmente es desde 0°C hasta 50°C, se prefieren desde 10°C hasta 40°C.

30 El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el reactivo para introducir a grupo saliente, el catalizador base y el tiempo de reacción, pero usualmente es desde 10 minutos hasta 24 horas, se prefieren desde 1 hasta 10 horas.

35 Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (4) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la neutralización de la solución de la reacción, la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

40 El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, recristalización y cromatografía de columna de gel de sílice.

Paso A-2

45 Este paso consiste en preparar el compuesto (5) mediante la reacción del compuesto (4) preparado en el Paso A-1 con anhídrido ácido en presencia de un catalizador ácido en un solvente.

50 El solvente que se puede utilizar aquí puede incluir éteres como éter de dietilo, dioxano y tetrahidrofurano; nitrilos como acetonitrilo y isobutironitrilo; amidas como formamida, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona, N-metilpirrolidinona y triamida hexametilfosfórico; y ácidos orgánicos como ácido acético; se prefiere ácido acético.

El catalizador ácido que se puede utilizar aquí puede incluir ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido nítrico, se prefiere ácido sulfúrico (en particular ácido sulfúrico concentrado).

55 El anhídrido ácido que se puede utilizar aquí puede incluir un anhídrido de un ácido carboxílico alifático inferior como anhídrido acético y anhídrido del ácido propiónico, se prefiere anhídrido acético.

60 La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el catalizador ácido y el anhídrido ácido y es normalmente desde 0°C hasta 50°C, se prefiere desde 10°C hasta 40°C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el catalizador ácido, el anhídrido ácido y el tiempo de reacción, pero usualmente es desde 10 minutos hasta 12 horas, se prefiere desde 30 minutos hasta 3 horas.

65 Después de la reacción, el compuesto deseado (5) de la presente reacción se obtiene, por ejemplo, mediante la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

ES 2 234 563 T3

El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, recristalización, y cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

Paso A-3

Este paso consiste en preparar el compuesto (6) mediante la reacción del compuesto (5) preparado en el Paso A-2 con un compuesto trimetilsililado que corresponde a la purina o pirimidina que puede tener un sustituyente deseado preparado de acuerdo con la referencia (H. Vorbruggen, K. Krolkiewicz y B. Bennua, Chem. Ber., 114, 1234-1255 (1981)) en presencia de un catalizador ácido en un solvente inerte.

El solvente que se puede utilizar aquí puede incluir hidrocarburos aromáticos como benceno, tolueno, xileno; hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, 1,2-dicloroetano, clorobenceno y diclorobenceno; nitrilos como acetonitrilo y isobutironitrilo; amidas como formamida, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona, N-metilpirrolidinona y triamida hexametilfosfórica; sulfuro de carbono; se prefiere 1,2-dicloroetano.

El catalizador ácido que se puede utilizar aquí puede incluir catalizadores ácidos Lewis como $AlCl_3$, $SnCl_4$, $TiCl_4$, $ZnCl_2$, BF_3 , trifluorometansulfonato de trimetilsililo; se prefiere trifluorometansulfonato de trimetilsililo.

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el catalizador ácido pero usualmente es desde 0°C hasta 100°C, se prefiere desde 50°C hasta 80°C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el catalizador ácido y el tiempo de reacción pero usualmente es desde 1 hora hasta 24 horas, se prefiere desde 1 hora hasta 8 horas.

Después de la reacción, el compuesto deseado (6) de la presente reacción se obtiene, por ejemplo, mediante la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, recristalización, y cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

Paso A-4

Este paso consiste en preparar el compuesto (1a) de la presente invención mediante la ciclización del compuesto (6) preparado mediante el Paso A-3 en presencia de un catalizador base en un solvente inerte.

El solvente que se puede utilizar aquí puede incluir agua; derivados de piridina; acetonitrilos como acetonitrilo y isobutironitrilo; amidas como formamida, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona, N-metilpirrolidinona y triamida hexametilfosfórica; y su mezcla, se prefiere una mezcla de agua y piridina.

El catalizador base que se puede utilizar aquí puede incluir hidróxidos de metales alcalinos como hidróxido de sodio y hidróxido de potasio; carbonatos de metales alcalinos como carbonato de sodio y carbonato de potasio; alcóxidos de metales alcalinos como metóxido de sodio y etóxido de sodio; y amoníaco acuoso; se prefiere los hidróxidos de metales alcalinos (en particular hidróxido de sodio).

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el catalizador base pero usualmente es desde 0°C hasta 50°C, se prefiere desde 10°C hasta 30°C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el catalizador ácido y el tiempo de reacción pero usualmente es desde 1 minuto hasta 5 horas, se prefiere desde 1 minuto hasta 30 minutos.

Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (1a) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, recristalización, y cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

Paso A-5

Este paso consiste en preparar el compuesto (1b) mediante la reacción del compuesto (1a) obtenido mediante el Paso A-4 con un reactivo que desprotege en un solvente inerte.

El método de desprotección varía dependiendo del tipo de grupo protector y en particular no está limitado a no ser que cause reacciones secundarias y se puede llevar a cabo, por ejemplo, mediante un método que se describe en

ES 2 234 563 T3

“Protective Groups in Organic Synthesis” (Theodora W. Greene y Peter G. M. Wuts, 1999, publicado por A Wiley-Interscience Publication).

5 En particular, el método de desprotección se puede llevar a cabo mediante los siguientes métodos en el caso que el grupo protector sea (1) “un grupo acilo alifático o un grupo acilo aromático”, (2) “un grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupo arilos” o “un grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupo arilos el anillo de arilo del cual está sustituido por un grupo alquilo inferior, alcóxido inferior, halógeno o ciano” o (3) “un grupo sililo”.

10 En el caso dónde el grupo protector es un grupo acilo alifático o un grupo acilo aromático, la reacción de desprotección normalmente se lleva a cabo mediante su tratamiento con una base en un solvente inerte.

15 El solvente que se puede utilizar aquí no está particularmente limitado mientras se mezcle fácilmente con agua, no inhiba la reacción y disuelva el material de partida y puede incluir amidas acuosas o anhídricas como dimetilformamida y dimetilacetamida; hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, cloroformo, 1,2-dicloroetano o tetracloruro de carbono; y éteres como tetrahidrofurano, éter de dietilo y dioxano; se prefiere éteres, se prefiere más tetrahidrofurano.

20 La base que se puede utilizar aquí puede incluir hidróxidos de metales alcalinos como hidróxido de litio, hidróxido de potasio y hidróxido de sodio; carbonatos de metales alcalinos como carbonato de sodio y carbonato de potasio; alcóxidos de metales alcalinos como metóxido de sodio y etóxido de sodio; y una solución de amoníaco como una solución de amoníaco acuoso y amoníaco/metanol.

El tiempo de reacción es desde 0°C hasta 60°C, se prefiere desde 20°C hasta 40°C.

25 El tiempo de reacción es desde 10 minutos hasta 24 horas, se prefiere desde 1 hora hasta 3 horas.

30 Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (1b) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, recristalización, y cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

35 (2) En el caso dónde el grupo protector es “un grupo metilo sustituido por de uno a tres grupos arilo” o “un grupo metilo sustituido por de uno a tres grupos arilo el anillo de arilo del cual está sustituido por un grupo alquilo inferior, alcóxido inferior, halógeno o ciano”, la reacción se lleva a cabo en un solvente inerte utilizando un agente reductor.

40 El solvente que se puede utilizar aquí preferentemente puede incluir alcoholes como metanol, etanol y isopropanol; éteres como éter de dietilo, tetrahidrofurano y dioxano; hidrocarburos aromáticos como tolueno, benceno y xileno; hidrocarburos alifáticos como hexano y ciclohexano; ésteres como acetato de etilo y acetato de propilo; ácidos orgánicos como ácido acético; o una mezcla de estos solventes orgánicos y agua.

45 El agente reductor que se puede utilizar aquí no está en particular limitado mientras sea usualmente utilizado para una reducción catalítica y preferentemente puede incluir paladio sobre carbono, Níquel de Raney, Óxido de platino, platino negro, rodio-óxido de aluminio, trifenilfosfina-cloruro de rodio y paladio -sulfato de bario.

La presión no está en particular limitada pero usualmente es desde 1 hasta 10 atm.

50 El tiempo de reacción es desde 0°C hasta 60°C, se prefiere desde 20°C hasta 40°C.

El tiempo de reacción es desde 10 minutos hasta 24 horas, se prefiere desde una hora hasta tres horas.

55 Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (1b) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la eliminación del agente reductor de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente. El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, recristalización, y cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

60 En el caso en el que el grupo protector es “un grupo metilo sustituido por tres grupo arilos”, es decir, un grupo tritilo, la reacción de desprotección también se puede llevar a cabo utilizando un ácido.

65 En este caso, el solvente que se puede utilizar aquí puede incluir hidrocarburos aromáticos como benceno, tolueno y xileno; hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, 1,2-dicloroetano, clorobenceno y diclorobenceno; alcoholes como metanol, etanol, isopropanol y tert-butanol; nitrilos como acetonitrilo y isobutironitrilo; amidas como formamida, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona, N-

ES 2 234 563 T3

metilpirrolidinona y triamida hexametilfosfórica; y ácidos orgánicos como ácido acético; se prefieren ácidos orgánicos (en particular ácido acético) o alcoholes (en particular tert-butanol).

El ácido que se puede utilizar aquí preferentemente puede incluir ácido acético o ácido trifluoroacético.

El tiempo de reacción es desde 0°C hasta 60°C, se prefiere desde 20°C hasta 40°C.

El tiempo de reacción es desde 10 minutos hasta 24 horas, se prefiere desde 1 hasta 3 horas.

Después de la reacción, el compuesto deseado (1b) de la presente reacción se obtiene, por ejemplo, mediante la neutralización de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, recristalización, y cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

(3) En el caso en el que el grupo protector es “un grupo sililo”, normalmente se puede eliminar mediante el tratamiento con un compuesto que produce un anión de flúor como fluoruro de tetrabutilamonio, ácido fluorhídrico, ácido fluorhídrico-piridina y fluoruro de potasio, o ácidos orgánicos como ácido acético, ácido metansulfónico, ácido paratoluensulfónico, ácido trifluoroacético y ácido trifluorometansulfónico, o ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico.

En el caso en el que el grupo protector se elimina mediante un anión de flúor, la reacción a veces está promovida mediante la adición de ácidos orgánicos como ácido fórmico, ácido acético y ácido propiónico.

El solvente que se puede utilizar aquí no está en particular limitado mientras que no inhiba la reacción y disuelva el material de partida y preferentemente puede incluir éteres como éter de dietilo, éter de diisopropilo, tetrahidrofurano, dioxano, dimetoxietano y dimetiléter de dietilenglicol; nitrilos como acetronitrilo y isobutironitrilo; agua; ácidos orgánicos como ácido acético; y su mezcla.

El tiempo de reacción es desde 0°C hasta 100°C, se prefiere desde 20°C hasta 70°C.

El tiempo de reacción es desde 5 minutos hasta 48 horas, se prefiere desde una hora hasta 24 horas.

Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (1b) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente. El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, recristalización, y cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

Paso A-6

Este paso consiste en preparar el compuesto (1c) de la presente invención mediante la reacción del compuesto (1b) obtenido en el Paso A-5 con un reactivo de desprotección en un solvente inerte.

El método de desprotección varía dependiendo del tipo de grupo protector y no está en particular limitado mientras no cause reacciones secundarias y se puede llevar a cabo, por ejemplo, mediante un método descrito en “Protective Groups in Organic Synthesis” (por Theodora W. Greene, 1981, publicado por A Wiley-Interscience Publication).

En particular, el método de desprotección se puede llevar a cabo mediante el siguiente método en el caso que el grupo protector sea un grupo acilo alifático o un grupo acilo aromático.

Principalmente, el método de desprotección normalmente se lleva a cabo mediante la reacción de una base en un solvente inerte en el caso que el grupo protector sea un grupo acilo alifático o un grupo acilo aromático.

El solvente que se puede utilizar aquí no está en particular limitado mientras se mezcle fácilmente con agua, no inhiba la reacción y disuelva el material de partida y puede incluir alcoholes acuosos o anhídricos como metanol y etanol; amidas como dimetilformamida y dimetilacetamida; hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, cloroformo, 1,2-dicloroetano o tetracloruro de carbono; y éteres como tetrahidrofurano, éter de dietilo y dioxano; se prefieren los alcoholes; se prefiere más el metanol.

La base que se puede utilizar aquí puede incluir hidróxidos de metal alcalino como hidróxido de litio, hidróxido de potasio y hidróxido de sodio; carbonatos de metales alcalinos como carbonato de sodio y carbonato de potasio; alcóxidos de metal alcalino como metóxido de sodio y etóxido de sodio; y amoníaco; se prefiere el amoníaco.

El tiempo de reacción es desde 0°C hasta 50°C, se prefiere desde 10°C hasta 40°C.

ES 2 234 563 T3

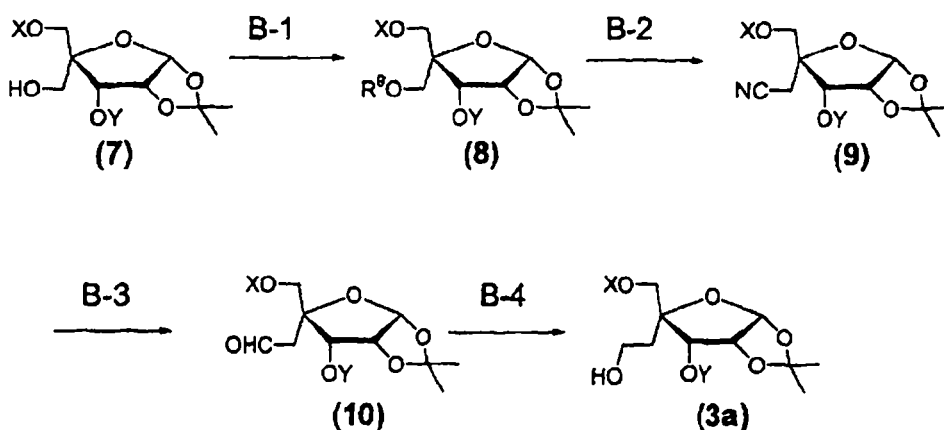
El tiempo de reacción es desde 10 minutos hasta 24 horas, se prefiere desde 10 minutos hasta 15 horas.

Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (1c) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhidrido y la eliminación por destilación del solvente.

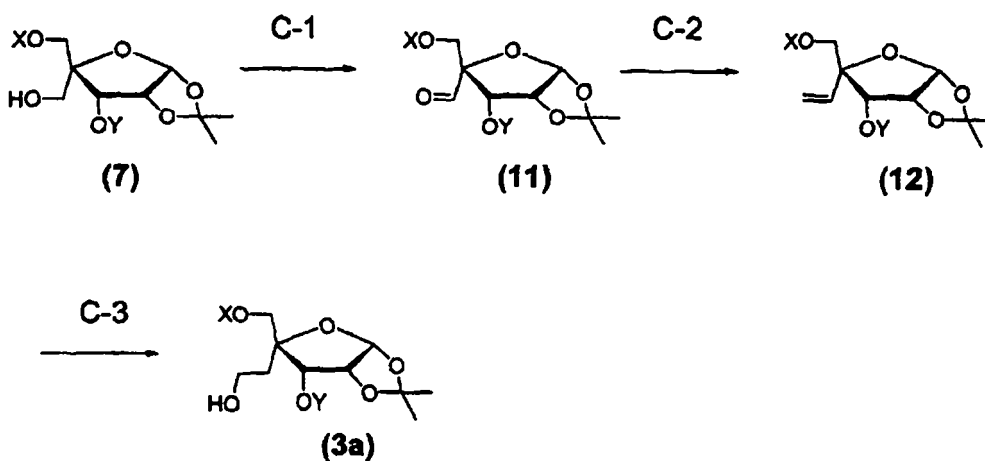
El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, recristalización, y cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

El intermediario (3) descrito más arriba se puede preparar mediante los Procesos del B al D que se describen más abajo.

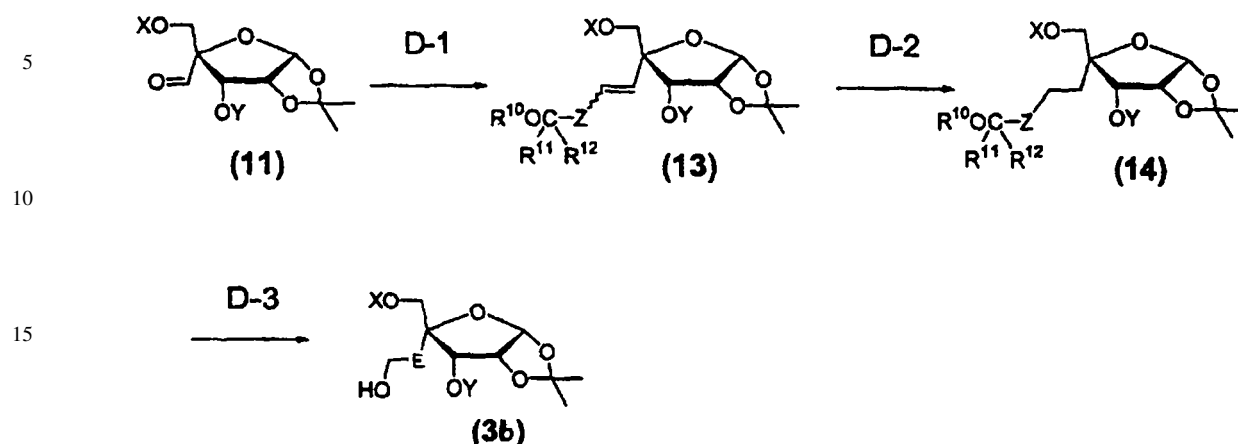
Proceso B



Proceso C



Proceso D



En los Procesos del B al D, X y Y tienen el mismo significado tal y como se ha definido más arriba;

25 R^9 representa un grupo que forma un grupo saliente; E representa un grupo etileno, trimetileno o tetrametileno; y Z representa a enlace simple, un grupo metileno o etileno.

El grupo que forma el grupo saliente de R^9 puede incluir el grupo descrito en R^7 de más arriba, se prefiere un grupo trifluorometansulfonilo.

30 R^{11} y R^{12} son iguales y representan un átomo de hidrógeno o juntos forman un átomo de oxígeno.

35 En el caso en el que R^{11} y R^{12} juntos forman el átomo de oxígeno, R^{10} representa un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, s-butilo y tert-butilo, se prefiere un grupo metilo. En el caso en el que R^{11} y R^{12} son iguales y representan un átomo de hidrógeno, R^{10} puede incluir un grupo aralquilo como un grupo benzilo; un grupo alcoxilquilo como un grupo metoximetilo; un grupo benzoiloximetilo como un grupo benziloximetilo, un grupo aralquilo como un grupo benziloximetilo; un grupo alcoxilalco-

40 El compuesto (7), es decir, se puede preparar el material de partida utilizado en el Proceso B o en el Proceso C mediante el siguiente método.

45 Principalmente, se prepara un compuesto que corresponda al compuesto (6) del cual la fracción "X" es un átomo de hidrógeno de 1,1,5,6-diisopropiliden D-glucosa de venta al público de acuerdo con el método de la literatura (R.D. Youssefyeh, J.P.H. Verheyden, J.G. Moffatt. J. Org. Chem., 44, 1301-1309 (1979)) y posteriormente se puede preparar el compuesto (6) de acuerdo con el método de la literatura (T. Waga, T. Nishizaki, I. Miyakawa, H. Ohru, H. Meguro, Biosci. Biotechnol. Biochem., 57, 1433-1438 (1993)) (en el caso de que X = Bn).

Proceso B

50 Paso B-1

55 Este paso consiste en preparar el compuesto (8) mediante la reacción del compuesto (7) preparado mediante el método de más arriba con un reactivo para introducir un grupo saliente en presencia de un catalizador base en un solvente inerte.

60 El solvente que se puede utilizar aquí puede incluir amidas como dimetilformamida y dimetilacetamida; hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, cloroformo, 1,2-dicloroetano o tetracloruro de carbono; y éteres como tetrahidrofurano, éter de dietilo y dioxano; se prefiere el cloruro de metileno.

65 El catalizador base que se puede utilizar aquí preferentemente puede incluir una base como trietilamina; piridina y dimetilaminopiridina.

El reactivo que se puede utilizar para introducir un grupo saliente preferentemente puede incluir cloruro del ácido trifluorometansulfónico o trifluorometansulfónico anhídrico.

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el catalizador ácido, pero usualmente es desde -100°C hasta -50°C , se prefiere desde -100°C hasta -70°C .

ES 2 234 563 T3

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el catalizador ácido y el tiempo de reacción pero usualmente es desde 30 minutos hasta 12 horas, se prefiere desde 30 minutos hasta 3 horas.

Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (8) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, recristalización, y cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

Paso B-2

Este paso consiste en preparar el compuesto (9) mediante la reacción del compuesto (8) preparado mediante el Paso B-1 con un reactivo cianador reactivo en un solvente inerte.

El solvente que se puede utilizar aquí puede incluir amidas como dimetilformamida y dimetilacetamida; hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, cloroformo, 1,2-dicloroetano o tetracloruro de carbono; éteres como tetrahidrofurano, éter de dietilo y dioxano; acetonitrilo; dimetilsulfóxido y similares; se prefieren las amidas (dimetilformamida).

El reactivo cianador reactivo que se puede utilizar aquí puede incluir KCN, NaCN y cianuro de trimetilsilano, se prefiere NaCN.

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el reactivo cianador pero usualmente es desde 0°C hasta 100°C, se prefiere desde 30°C hasta 70°C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el reactivo cianador y el tiempo de reacción pero usualmente es desde 30 minutos hasta 12 horas, se prefiere desde 1 hasta 3 horas.

Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (9) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, recristalización, y cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

Paso B-3

Este paso consiste en preparar el compuesto (10) mediante la reacción del compuesto (9) preparado en el Paso B-2 con un agente reductor en un solvente inerte.

El solvente que se puede utilizar aquí puede incluir hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, cloroformo, 1,2-dicloroetano o tetracloruro de carbono; hidrocarburos alifáticos como hexano, heptano, ligroína y éter de petróleo; hidrocarburos aromáticos como benceno, tolueno y xileno; éteres como éter de dietilo, éter de diisopropilo, tetrahidrofurano, dioxano, dimetoxietano y dimetiléter de dietilenglicol; y cetonas como acetona, metiletilcetona, metilisobutilcetona isoforona y ciclohexanona; se prefieren los hidrocarburos halogenados (en particular cloruro de metileno).

El agente reductor que se puede utilizar aquí puede incluir hidruro de diisobutilaluminio e hidruro de trietoxialuminio, se prefiere el hidruro de diisobutilaluminio.

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el agente reductor pero usualmente es desde -100°C hasta -50°C, se prefiere desde -90°C hasta -70°C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el agente reductor y el tiempo de reacción pero usualmente es desde 30 minutos hasta 12 horas, se prefiere desde 1 hora hasta 5 horas.

Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (10) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, recristalización, y cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

ES 2 234 563 T3

Paso B-4

Este paso consiste en preparar el compuesto (3a), uno de los materiales de partida del Proceso A mediante la reacción del compuesto (10) preparado en el Paso B-3 con un agente reductor en un solvente inerte.

5 El solvente que se puede utilizar aquí puede incluir alcoholes como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol, isobutanol, t-butanol, alcohol isoamílico, dietilenglicol, glicerina, octanol, ciclohexanol y etilglicol de metilo; y ácido acético; se prefieren los alcoholes (en particular etanol).

10 El agente reductor que se puede utilizar aquí puede incluir hidroboruros de metal alcalino como hidroboruro de sodio y hidroboruro de litio; compuestos de hidruro de aluminio como hidruro de aluminio litio y hidruro de trióxido de aluminio litio; y borano; se prefiere el hidroboruro de sodio.

15 La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el agente reductor pero usualmente es desde 0°C hasta 50°C, se prefiere desde 10°C hasta 40°C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el agente reductor y el tiempo de reacción pero usualmente es desde 10 minutos hasta 12 horas, se prefiere desde 30 minutos hasta 5 horas.

20 Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (3a) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la descomposición del agente reductor, la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

25 El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, recristalización, y cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

Proceso C

30 Paso C-1

Este paso consiste en preparar el compuesto (11) mediante la reacción del compuesto (7) preparado en el proceso de más arriba con un agente oxidante en un solvente inerte.

35 El solvente que se puede utilizar aquí puede incluir hidrocarburos alifáticos como hexano, heptano, ligroína y éter de petróleo; hidrocarburos aromáticos como benceno, tolueno y xileno; hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, dicloroetano, clorobenceno y diclorobenceno; ésteres como formato de etilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo y carbonato de dietilo; éteres como éter de dietilo, éter de diisopropilo, tetrahidrofurano, dioxano, dimetoxietano, dimetileter de dietilenglicol; y cetonas como acetona, metiltilcetona, metilisobutilcetona, isoforona y ciclohexanona; se prefieren los hidrocarburos halogenados (en particular el cloruro de metileno).

45 El agente oxidante que se puede utilizar aquí puede incluir el reactivo de Swern para la oxidación, el reactivo de Dess-Martin para la oxidación, un complejo de trióxido de cromo como complejo trióxido de hidrocloreuro de piridina/cromo de piridina (clorocromato de piridina y dicromato de piridina), se prefiere el reactivo de Swern para la oxidación (principalmente, cloruro de sulfóxido-oxalilo de dimetilo).

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el agente oxidante pero usualmente es desde -100°C hasta -50°C, se prefiere desde -100°C hasta -70°C.

50 El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el agente oxidante y el tiempo de reacción pero usualmente es desde 30 minutos hasta 12 horas, se prefiere desde 1 hora hasta 5 horas.

55 Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (11) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la descomposición del agente oxidante, la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

60 El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, la recristalización, y la cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

Paso C-2

65 Este paso consiste en preparar el compuesto (12) mediante la reacción del compuesto (11) preparado en el Paso C-1 con un reactivo aumentador de carbono en un solvente inerte.

El solvente que se puede utilizar aquí puede incluir hidrocarburos alifáticos como hexano, heptano, ligroína y éter de petróleo; hidrocarburos aromáticos como benceno, tolueno y xileno; hidrocarburos halogenados como cloruro de

ES 2 234 563 T3

metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, dicloroetano, clorobenceno y diclorobenceno; ésteres como formato de etilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo y carbonato de dietilo; éteres como éter de dietilo, éter de diisopropilo, tetrahidrofuran, dioxano, dimetoxietano, dimetiléter de dietilenglicol; y cetonas como acetona, metiletilcetona, metilisobutilcetona, isoforona y ciclohexanona; se prefieren los hidrocarburos halogenados (en particular el cloruro de metileno).

El reactivo que se puede utilizar aquí puede incluir el reactivo de Wittig, el reactivo de Horner-Emmons, el reactivo de la reacción de Peterson, el agente de reacción del sistema $\text{TiCl}_4\text{-CH}_2\text{Cl}_2\text{-Zn}$ y el reactivo de Tebbe, se prefiere el reactivo de Wittig, el reactivo de Horner-Emmons y el reactivo de Tebbe.

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el reactivo aumentador de carbono pero usualmente es desde -20°C hasta 20°C , se prefiere 0°C .

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el reactivo aumentador de carbono y el tiempo de reacción pero usualmente es desde 30 minutos hasta 12 horas, se prefiere desde 1 hora hasta 5 horas.

Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (12) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, la recristalización, y la cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

25 Paso C-3

Este paso consiste en preparar el compuesto (3a) mediante la introducción selectiva de un grupo hidroxilo a un carbono terminal de un compuesto de olefina (12) preparado en el Paso C-2 en un solvente inerte.

El solvente que se puede utilizar aquí puede incluir hidrocarburos alifáticos como hexano, heptano, ligroína y éter de petróleo; hidrocarburos aromáticos como benceno, tolueno y xileno; hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, dicloroetano, clorobenceno y diclorobenceno; ésteres como formato de etilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo y carbonato de dietilo; éteres como éter de dietilo, éter de diisopropilo, tetrahidrofuran, dioxano, dimetoxietano y dimetiléter de dietilenglicol; y cetonas como acetona, metiletilcetona, metilisobutilcetona, isoforona y ciclohexanona; se prefieren los éteres (en particular tetrahidrofuran).

El reactivo de la reacción que se puede utilizar aquí puede incluir borano, disiamilo borano, texilo borano, 9-BBN (9-borabicyclo[3.3.1]nonano), se prefiere 9-BBN.

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el reactivo pero usualmente es desde 0°C hasta 50°C , se prefiere desde 10°C hasta 40°C .

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el reactivo y el tiempo de reacción pero usualmente es desde 6 horas hasta 48 horas, se prefiere desde 12 horas hasta 24 horas.

Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (3a) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, la recristalización, y la cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

55 Proceso D

Paso D-1

Este paso consiste en preparar el compuesto (13) mediante la reacción del compuesto (11) preparado en el Paso C-1 con un reactivo aumentador de carbonos en un solvente inerte.

El solvente que se puede utilizar aquí puede incluir hidrocarburos alifáticos como hexano, heptano, ligroína y éter de petróleo; hidrocarburos aromáticos como benceno, tolueno y xileno; hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, dicloroetano, clorobenceno y diclorobenceno; ésteres como formato de etilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo y carbonato de dietilo; éteres como éter de dietilo, éter de diisopropilo, tetrahidrofuran, dioxano, dimetoxietano y dimetiléter de dietilenglicol; y cetonas como acetona, metiletilcetona, metilisobutilcetona, isoforona y ciclohexanona; se prefieren éteres (en particular tetrahidrofuran), se prefieren más los hidrocarburos halogenados (en particular el cloruro de metileno).

ES 2 234 563 T3

El reactivo aumentador de carbonos que se puede utilizar aquí puede incluir el reactivo de Wittig y el reactivo de Horner-Emmons.

5 La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el reactivo pero usualmente es desde -20°C hasta 40°C, se prefiere desde 0°C hasta 20°C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el reactivo y el tiempo de reacción pero usualmente es desde 30 minutos hasta 12 horas, se prefiere desde 1 hora hasta 5 horas.

10 Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (13) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

15 El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, la recristalización, y la cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

Paso D-2

20 Este paso consiste en preparar el compuesto (14) mediante la reacción del compuesto (13) preparado en el Paso D-1 con un agente reductor en un solvente inerte.

25 Este paso se puede llevar a cabo de acuerdo con (2) del Paso A-5. En el caso en el que R¹⁰ es un grupo benzilo sustituido opcionalmente y R¹¹ y R¹² son átomos de hidrógeno, se puede preparar el compuesto (3b) directamente en este paso.

Paso D-3

30 Este paso consiste en preparar el compuesto (3b), uno de los materiales de partida del Proceso A mediante la reacción del compuesto (14) preparado en el Paso D-2 con un agente reductor.

(a) En el caso en el que R¹¹ y R¹² juntos forman un átomo de oxígeno.

35 El solvente que se puede utilizar aquí puede incluir alcoholes como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol, isobutanol, t-butanol, alcohol isoamílico, dietilenglicol, glicerina, octanol, ciclohexanol y etilglicol de metilo; y ácido acético; se prefieren los alcoholes (en particular etanol).

40 El agente reductor que se puede utilizar aquí puede incluir hidroboruros de metal alcalino como hidroboruro de litio; compuestos de hidruro de aluminio como hidruro de aluminio litio y hidruro trietóxido de aluminio litio; y borano; se prefiere el borano y el hidruro de aluminio litio.

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el agente reductor pero usualmente es desde 0°C hasta 50°C, se prefiere desde 10°C hasta 40°C.

45 El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el agente reductor y el tiempo de reacción pero usualmente es desde 10 minutos hasta 12 horas, se prefiere desde 30 minutos hasta 5 horas.

50 Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (3b) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la descomposición del agente reductor, la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

55 El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, la recristalización, y la cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

(b) En el caso en el que R¹¹ y R¹² son átomos de hidrógeno y R¹⁰ es un grupo diferente a un grupo benzilo.

60 En el caso en el que R¹⁰ es un grupo sililo, este paso se puede llevar a cabo de acuerdo con el método (3) del Paso A-5.

65 En el caso en el que R¹⁰ es un grupo aralquilo como un grupo benzilo; un grupo alcoxialquilo como un grupo metoximetilo; un grupo arilcarboniloximetilo como un grupo benziloximetilo o un grupo aralquioximetilo como un grupo benziloxi-metilo; y un grupo alcoxialcoxialquilo como un grupo metoxietoximetilo, se utiliza un catalizador ácido y el catalizador ácido utilizado en este caso puede incluir un ácido orgánico como ácido p-toluensulfónico, ácido trifluoroacético y ácido dicloroacético y un ácido de Lewis como BF₃ y AlCl₃.

El solvente que se puede utilizar aquí puede incluir hidrocarburos aromáticos como benceno, tolueno y xileno; hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, 1,2-dicloroetano, cloro-

ES 2 234 563 T3

benzeno y diclorobenzeno; nitrilos como acetonitrilo y isobutironitrilo; amidas como formamida, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona, N-metilpirrolidinona y triamida hexametilfosfórica; y sulfuro de carbono.

5 La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el catalizador ácido pero usualmente es desde 0°C hasta 50°C, se prefiere desde 10°C hasta 40°C.

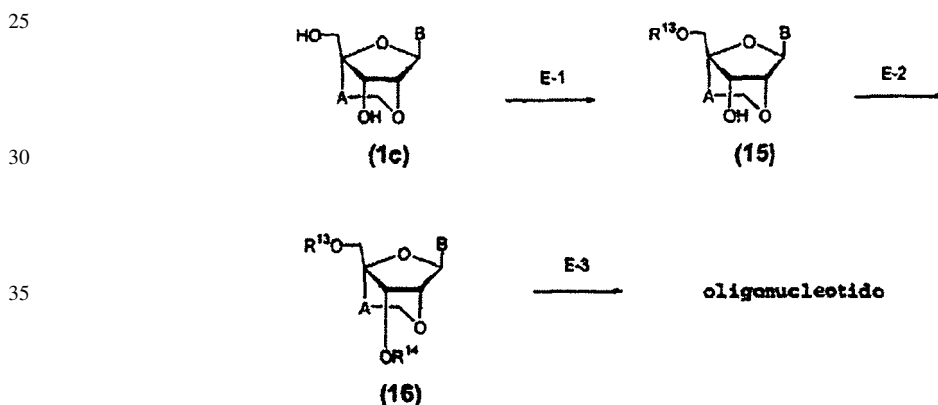
10 El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el catalizador ácido y el tiempo de reacción y normalmente es desde 10 minutos hasta 12 horas, se prefiere desde 30 minutos hasta 5 horas.

15 Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (3b) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la neutralización de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, la recristalización, y la cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

20 Los oligonucleótidos que contienen un nucleósido modificados o su derivado de tioato se pueden preparar mediante el Proceso E que se describe más abajo utilizando el compuesto (1) de la presente invención.

Proceso E



45 En el Proceso E, A y B tiene el mismo significado tal y como se ha definido más arriba; R¹³ representa un grupo hidroxilo protector (en particular un grupo tritilo que se puede sustituir por un grupo metoxi); R¹⁴ representa un grupo fosfonilo o un grupo formado mediante la reacción de cloro(alcóxido)fosfinas mono-sustituido o alcoxifosfinas di-sustituidas que se describirán más adelante.

Proceso E

Paso E-1

50 Este paso consiste en preparar el compuesto (15) mediante la reacción del compuesto (1) preparado en el Proceso A con un reactivo protector en un solvente inerte.

55 El solvente que se preferentemente se puede utilizar aquí incluye hidrocarburos aromáticos como benzeno, tolueno y xileno; hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, dicloroetano, clorobenzeno y diclorobenzeno; ésteres como formato de etilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo y carbonato de dietilo; éteres como éter de dietilo, éter de diisopropilo, tetrahidrofurano, dioxano, dimetoxietano y dimetiléter de dietilenglicol; cetonas como acetona, metiletilcetona, metilisobutilcetona, isoforona y ciclohexanona; compuestos nitrados como nitroetano y nitrobenzeno; nitrilos como acetonitrilo y isobutironitrilo; amidas como formamida, dimetilformamida (DMF), dimetilacetamida y triamida hexametilfosfórica; sulfóxidos como sulfóxido y sulfolano de dimetilo y; aminas ternarias alifáticas como trimetilamina, trietilamina y N-metilmorfolina; y aminas aromáticas como piridina y picolina; prefieren más los hidrocarburos halogenados (en particular el cloruro de metileno) y las aminas aromáticas (en particular la piridina).

65 El reactivo protector que se puede utilizar aquí no está en particular limitado mientras sólo la posición 5' se pueda proteger selectivamente y se pueda eliminar bajo condiciones ácidas o neutrales pero preferiblemente incluye haluros de triarilmetilo como cloruro de tritilo, cloruro de monometoxitritilo y cloruro de dimetoxitritilo.

ES 2 234 563 T3

En el caso en el que los haluros de triarilmetilo se utilizan como reactivo protector, normalmente se utiliza una base.

5 En este caso, la base que se puede utilizar aquí puede incluir aminas heterocíclicas como piridina, dimetilaminopiridina y pirrolidinpiridina; y aminas ternarias alifáticas como trimetilamina y trietilamina; se prefiere piridina, dimetilaminopiridina y pirrolidinpiridina.

En el caso en el que se utiliza una base líquida como solvente, como la base por sí misma funciona como un agente de captura de ácido, no es necesario añadir otra base.

10

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el reactivo y el solvente pero usualmente es desde 0°C hasta 150°C, se prefiere desde 20°C hasta 100°C. El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y la temperatura de reacción pero usualmente es desde 1 hora hasta 100 horas, se prefiere desde 2 horas hasta 24 horas.

15

Después de la reacción, se obtiene el compuesto deseado (15) de la presente reacción, por ejemplo, mediante la concentración de la mezcla de reacción, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

20

El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, la recristalización, y la cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

Paso E-2

25

Este paso consiste en preparar el compuesto (16) mediante la reacción del compuesto (15) preparado en el Paso E-1 con cloro(alcóxido)fosfinas mono-sustituidas o alcofosfinas di-sustituidas normalmente utilizadas para la amidación en un solvente inerte.

30

El solvente que se puede utilizar aquí no está en particular limitado mientras no afecte la reacción y puede incluir preferentemente éteres como tetrahidrofurano, éter de dietilo y dioxano; y hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, dicloroetano, clorobenceno y diclorobenceno.

35

Las cloro(alcóxido)fosfinas mono-sustituidas que se pueden utilizar aquí pueden incluir derivados de fosfina como cloro(morfolin)metoxifosfina, cloro(morfolin)cianoetoxifosfina, cloro(dimetilamino)metoxifosfina, cloro(dimetilamino)cianoetoxifosfina, cloro(diisopropilamino)metoxifosfina y cloro(diisopropilamino)cianoetoxifosfina, se prefiere cloro(morfolin)metoxifosfina, cloro(morfolin)cianoetoxifosfina, cloro(diisopropilamino)metoxifosfina y cloro(diisopropilamino)cianoetoxifosfina.

40

En el caso en el que se utiliza las cloro(alcóxido)fosfinas mono-sustituidas, se utiliza un agente que captura ácido y en este caso, el agente que captura ácido que se puede utilizar aquí puede incluir aminas heterocíclicas como piridina y dimetilaminopiridina; y aminas alifáticas como trimetilamina, trietilamina y diisopropilamina; se prefieren las aminas alifáticas (en particular diisopropilamina).

45

Las alcofosfinas di-sustituidas que se pueden utilizar aquí pueden incluir derivados de fosfina como bis(diisopropilamino)cianoetoxifosfina, bis(dietilamino)metansulfoniletoxifosfina, bis(diisopropilamino)(2,2,2-tricloroetoxi)fosfina y bis(diisopropilamino)(4-clorofenilmetoxi)fosfina, se prefiere la bis(diisopropilamino)cianoetoxifosfina.

50

En el caso en el que se utiliza las alcofosfinas di-sustituidas, se utiliza un ácido, y en este caso, el ácido que se puede utilizar incluye preferentemente tetrazol, ácido acético o ácido p-toluensulfónico.

El tiempo de reacción no está en particular limitado pero usualmente es desde 0°C hasta 80°C, se prefiere la temperatura ambiente.

55

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el reactivo y el tiempo de reacción, pero usualmente es desde 5 minutos hasta 30 horas, se prefiere desde 30 minutos hasta 10 horas en el caso en el que la reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente.

60

Después de la reacción, el compuesto deseado (16) de la presente reacción se obtiene, por ejemplo, mediante la neutralización apropiada de la mezcla de reacción, la eliminación de los insolubles mediante la filtración en el caso que existan, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente. El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, la recristalización, la reprecipitación o la cromatografía y similares.

65

Alternativamente, este paso consiste en preparar el compuesto (16) mediante la reacción del compuesto (15) preparado en el Paso E-1 con tris-(1,2,4-triazolil)fosfito en un solvente inerte (se prefieren los hidrocarburos halogenados como el cloruro de metileno), seguido por la adición de agua para efectuar la H-fosfonación.

ES 2 234 563 T3

El tiempo de reacción no está en particular limitado, pero usualmente es desde - 20°C hasta 100°C, se prefiere desde 10 hasta 40°C.

5 El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el reactivo y el tiempo de reacción y es normalmente de 5 minutos hasta 30 horas, se prefieren 30 minutos en el caso que la reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente.

10 Después de la reacción, el compuesto deseado (16) de la presente reacción se obtiene, por ejemplo, mediante la neutralización apropiada de la mezcla de reacción, la eliminación de los insolubles mediante filtración en el caso que existan, la adición de un solvente orgánico inmiscible con agua como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una capa orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente. El producto deseado obtenido se puede purificar más, si es necesario, mediante un método convencional, por ejemplo, la recristalización, la reprecipitación o la cromatografía y similares.

15 Paso E-3

En este paso, se produce el análogo de oligonucleótido objetivo mediante un sintetizador de ADN automático utilizando como mínimo un compuesto (16) preparado en el paso E-2 y reactivos de fosforamidita disponibles comercialmente que se requieren para producir un análogo de oligonucleótido de una secuencia de nucleótido deseada de acuerdo con métodos convencionales.

20 Se puede sintetizar un análogo de oligonucleótido que tiene una secuencia de nucleótido deseada mediante un sintetizador de ADN como el Pekín-Elmer Model 392 utilizando el método de fosforamidita de acuerdo con el método descrito en la literatura (Nucleic Acids Research, 12, 4539 (1984)).

25 Además, en el caso de la conversión a un tioato tal y como se desea, se puede obtener un derivado de tioato de acuerdo con el método descrito en la literatura (Tetrahedron Letters, 32, 3005 (1991), J. Am. Chem. Soc., 112, 1253 (1990)) utilizando, a parte de sulfuro, un reactivo que forme un tioato mediante la reacción con ácido fosfórico trivalente como disulfuro de tetraetiltiuramo (TETD, Applied Biosystems Inc.) o el reactivo de Beaucage (Millipore Corp.).

El análogo de oligonucleótido resultante crudo se puede purificar mediante OligoPak (cromatocolumna de fase reversa) y se puede confirmar la pureza del producto mediante análisis por HPLC.

35 La longitud de la cadena del análogo de oligonucleótido resultante es normalmente de 2 hasta 50 unidades, y se prefiere de 10 hasta 30 unidades, en las unidades de nucleósido.

Se puede determinar la habilidad de formación de la cadena complementaria y la resistencia enzimática nucleasa del análogo de oligonucleótido resultante de acuerdo con los métodos descritos más abajo.

40 Método del Test 1

Se puede determinar la habilidad de formación híbrida del análogo de oligonucleótido de la presente invención con respecto a ADN y ARN complementario mediante el recocido de varios análogos de oligonucleótidos resultantes con un análogo de oligonucleótido compuesto por ADN o ARN de origen natural que tenga una secuencia complementaria y midiendo la temperatura de fusión (valor de T_m).

50 Se colocó una solución muestra que contenía cantidades equivalentes de análogo de oligonucleótido y oligonucleótido complementario de origen natural en una solución tampón de fosfato de sodio en un baño en ebullición de agua y después se enfrió lentamente hasta temperatura ambiente durante el curso del tiempo (recocido). Se aumentó la temperatura de la solución de 20°C hasta 90°C en la cámara de recuento de un espectrofotómetro (por ejemplo, Shimadzu UV-2100PC) seguido por la medida de la absorción ultravioletada a 260 nm.

Método del Test 2

55 *Medida de la resistencia enzimática nucleasa*

Se añadió una nucleasa al oligonucleótido en una solución tampón y se calentó la mezcla. Los ejemplos de nucleasas que se utilizan incluyen fosfodiesterasa venom de serpiente, endonucleasa P1 y endonucleasa S1. A pesar de que no hay restricciones particulares en la solución tampón proporcionada, ésta una solución tampón adecuada para enzimas; se utiliza el tampón Tris-HCl en el caso de la fosfodiesterasa venom de serpiente, mientras que se utiliza el tampón de acetato de sodio en el caso de la endonucleasa P1. Además, se añaden los iones metálicos a la solución tampón si es necesario. Los Ejemplos de iones metálicos utilizados incluyen Mg²⁺ en el caso de fosfodiesterasa venom de serpiente y Zn²⁺ en el caso de la endonucleasa. La temperatura de reacción que se prefiere es de 0 hasta 100°C, y se prefiere más de 30 a 50°C.

Se añade ácido tetraacético de etilendiamina (EDTA) después de una cantidad predeterminada de tiempo seguido por el calentamiento a 100°C durante 2 minutos para neutralizar la reacción.

ES 2 234 563 T3

Los ejemplos de los métodos utilizados para ensayar la cantidad de oligonucleótido que queda incluyen un método en el que el oligonucleótido se marca con un radioisótopo, etc. seguido por el ensayo del producto de reacción de corte con un analizador de imagen y, un método en el que el producto de reacción de corte se ensaya mediante cromatografía líquida de alta resolución de fase reversa (HPLC), y un método en el que el producto de reacción de corte se mancha con un tinte (como bromuro de etidio) y se ensaya con un procesador de imagen utilizando un ordenador.

Las formas de dosificación del análogo de oligonucleótido que tiene una, o dos o más estructuras de fórmula (2) de la presente invención pueden ser comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos o jarabe para la administración oral, o inyecciones o supositorios para la administración parenteral. Estas formas de dosificación se preparan por métodos conocidos utilizando aditivos como excipientes (por ejemplo, excipientes orgánicos como derivados del azúcar, por ejemplo lactosa, sucrosa, glucosa, manitol y sorbitol; derivados del almidón, por ejemplo almidón de maíz, almidón de patata, α -almidón y dextrina; derivados de la celulosa, por ejemplo celulosa cristalina; goma arábiga; dextran; y Pululan; y excipientes inorgánicos como derivados de silicato, por ejemplo anhídrido silícico ligero, silicato de aluminio sintetizado, silicato de calcio y metasilicato de aluminio de magnesio; fosfatos, por ejemplo hidrógenofosfato de calcio; carbonatos, por ejemplo carbonato de calcio; y sulfatos, por ejemplo sulfato de calcio), lubricantes (por ejemplo, ácido esteárico, sales metales del ácido esteárico como estearato de calcio y estearato de magnesio; talco; sílice coloidal; ceras como cera de abeja y espermaceti; ácido bórico; ácido adípico; sulfatos, por ejemplo sulfato de sodio; glicol; ácido fumárico; benzoato de sodio; DL-leucina; sales de sodio de ácidos grasos; laurilsulfatos como laurilsulfato de sodio y laurilsulfato de magnesio; ácidos silícicos como anhídrido silícico y hidrato del ácido silícico; y los derivados del almidón de más arriba), aglutinantes (por ejemplo, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, pirrolidona de polivinilo, Macrogol y compuestos similares a los excipientes de más arriba), desintegrantes (por ejemplo, derivados de la celulosa, como hidroxipropilcelulosa poco sustituida, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de calcio y carboximetilcelulosa de sodio con puentes internos; y almidón-celulosas modificadas químicamente como almidón de carboximetilo, almidón de carboximetilo de sodio y pirrolidona de polivinilo con puentes), estabilizadores (paraoxibenzoatos como metilparabeno y propilparabeno; alcoholes como clorobutanol, alcohol benzílico y alcohol fenilético; cloruro de benzalconio; derivados de fenol como fenol y cresol; timerosal; ácido deshidroacético; y ácido sórbico), correctores (por ejemplo, endulcorantes, agentes acidificadores, aromas, etc. utilizados normalmente), diluentes, etc.

Mientras que la dosis varía dependiendo de la condición de la enfermedad, edad del paciente, métodos de administración, etc., por ejemplo, en el caso de la administración oral, se prefiere administrar un ingrediente activo en una cantidad de 0.01 mg/kg de peso corporal (se prefieren 0.1 mg/kg de peso corporal) hasta 1000 mg/kg de peso corporal (se prefieren 100 mg/kg de peso corporal) y en el caso de la administración intravenosa, se prefiere administrar un ingrediente activo en una cantidad de desde 0.001 mg/kg de peso corporal (se prefieren 0.01 mg/kg de peso corporal) hasta 100 mg/kg de peso corporal (se prefieren 10 mg/kg de peso corporal), como única dosis al día o en dosis divididas varias veces al día respectivamente.

Ejemplo

Ejemplo 1

3',5'-di-O-Benzil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina

(Ejemplificación del compuesto número 2-34)

Se añadió una solución acuosa de hidróxido de sodio 2N (68 ml) a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 11 (6.80 g, 8.86 mmol) en piridina (136 ml) a 0°C y se removió la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Se neutralizó la mezcla de reacción mediante la adición gota a gota de ácido acético acuoso al 20% y se extrajo con cloroformo. Se lavó la capa de cloroformo con una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 100 : 3 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (3.3 g, 6.02 mmol, 68%).

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): 8.64(2H, brs), 7.89(2H, d, 7.6Hz), 7.64-7.60(1H, m), 7.54-7.51(2H, m), 7.48-7.37(3H, m), 7.36-7.26(8H, m), 6.18(1H,s), 4.70(1H, d, 11Hz), 4.60(1H, d, 11Hz), 4.55(1H, d, 11Hz), 4.46(1H, d, 2.9Hz), 4.42(1H, d, 11Hz), 4.10-4.02(2H,m), 3.89(1H, d, 2.9Hz), 3.75(1H, d, 11Hz), 3.62(1H, d, 11Hz), 2.34-2.26(1H, m), 1.39-1.36(1H, m).

FAB-MAS(mNBA):554(M+H)⁺

Ejemplo 2

2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina

(Ejemplificación del compuesto número 2-225)

Se añadió una solución (31.7 ml) de tricloroborano 1.0 M en diclorometano gota a gota a una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 1 (2.06 g, 3.72 mmol) en cloruro de metileno anhídrico (317 ml) a -78°C y se removió la mezcla a -78°C durante 1 hora. Se calentó la mezcla de reacción lentamente hasta -20°C y se colocó el vaso de

ES 2 234 563 T3

reacción en un baño de hielo-cloruro de sodio y se removió la mezcla a entre -20°C y -10°C durante 2 horas. Se añadió lentamente metanol (12 ml) a la mezcla y se removió la mezcla durante 10 minutos. El pH de la mezcla de reacción se ajustó a 7-8 mediante la adición gota a gota de solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada. Se calentó la mezcla hasta temperatura ambiente y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano: metanol = 100 : 5 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (1.21 g, 3.24 mmol, 87%) en forma de un sólido blanco.

¹H-NMR(500MHz, DMSO-d₆): 11.23(1H,brs), 8.70(1H,d,7.2Hz), 8.00(2H,d,7.5Hz), 7.3-6(4H,m), 5.97(1H,s), 5.35(1H,dd,5 y 10Hz), 4.10(1H,dd,5 y 10Hz), 4.03(1H,d,3.2Hz), 3.95-3.85(2H,m) 3.83(1H,d,3.2Hz), 3.65-3.51 (2H,m), 2.06-1.98(1H,m), 1.26(1).

FAB-MAS(mNBA):374(M+H)⁺

Ejemplo 3

2'-O,4'-C-etilen-citidina

(Ejemplificación del compuesto número 2-3)

Se dejó una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 2 (0.1 g, 0.268 mmol) en metanol saturado con amoníaco (12 ml) toda la noche. La mezcla se concentró hasta sequedad obteniéndose el compuesto del título (0.054 g, 75%) en forma de un sólido blanco.

¹H-NMR(500MHz, DMSO-d₆): 8.18(1H, d, 7.4Hz), 7.10(2H, br), 5.84(1H, s), 5.69(1H, d, 7.6Hz), 5.27-5.24(2H, m), 3.86(1H, d, 3.2Hz), 3.90-3.78(2H, m), 3.76(1H, d, 3.2Hz), 3.56(1H, dd, 5.5 y 12Hz), 3.49(1H, dd, 5.5 y 12Hz), 2.01-1.93(1H,dt, 7.5 y 12Hz), 1.22(1H, dd, 3.6 y 13Hz).

FAB-MAS(mNBA):270(M+H)⁺

Ejemplo 4

5'-O-Dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina

(Ejemplificación del compuesto número 2-39)

Se sometió a reflujo azeotrópicamente una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 2 (1.29 g, 3.46 mmol) en piridina anhídrica para eliminar el agua. Se disolvió el producto en piridina anhídrica (26 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y se añadió 4,4'-dimetoxitritilcloruro (1.76 g, 5.18 mmol) a la solución y se removió la mezcla a temperatura ambiente toda la noche. Se añadió una pequeña cantidad de metanol a la mezcla de reacción y después el solvente se evaporó al vacío. Se dividió el residuo entre agua y cloroformo y se lavó la capa orgánica con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano: metanol = 100 : 5 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (2.10 g, 3.11 mmol, 90%) en forma de un sólido amorfo sin color.

¹H-NMR(270MHz, DMSO-d₆): 11.27(1H,brs), 8.59(1H,m), 6.92-8.01(19H,m), 6.03(1H,s), 5.56(1H,m), 4.17 (1H,m), 4.08(1H,m), 3.86(2H,m), 3.77(6H,s), 3.24(2H,m), 1.98(1H,m), 1.24(1H,m).

FAB-MAS(mNBA):676(M+H)⁺

Ejemplo 5

5'-O-Dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita

(Ejemplificación del compuesto número 2-235)

Se sometió a reflujo azeotrópicamente una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 4 (6.53 g, 9.66 mmol) en piridina anhídrica para eliminar el agua. El producto se disolvió bajo atmósfera de nitrógeno en diclorometano anhídrico (142 ml). Se añadió N,N-diisopropilamina (2.80 ml, 16.1 mmol) a la solución y después se añadió 2-cianoetil N,N-diisopropilclorofosforamidita (2.16 ml, 9.66 mmol) gota a gota en un baño de hielo. Se removió la mezcla a temperatura ambiente durante 6 horas. Se lavó la mezcla de reacción con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : trietilamina = 50 : 1 - diclorometano : acetato de etilo : trietilamina = 60 : 30 : 1 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (7.10 g, 8.11 mmol, 84%) en forma de un compuesto de color blanco pálido.

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): 1.1-1.2(12H,m), 1.35(1H,m), 2.11(1H,m), 2.3(2H,m), 3.35-3.7(6H,m), 3.8(6H,m), 3.9-4.1(2H,m), 4.33(1H,m), 4.45(1H,m), 6.23(1H,s), 6.9(4H,m), 7.3-7.9(15H,m), 8.7-8.8(1H,m).

ES 2 234 563 T3

Ejemplo 6

3',5'-Di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina

5 (Ejemplificación del compuesto número 2-22)

Se añadió una solución acuosa de hidróxido de sodio 2N y una solución mezcla (5 ml), dicha solución mezcla comprendía piridina : metanol : agua = 65 : 30 : 5, al compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 10 (418 mg, 0.62 mmol) en piridina : metanol : agua = 65 : 30 : 5 (5 ml) a 0°C y se removió la mezcla a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se neutralizó la mezcla de reacción con ácido clorhídrico 1N y se extrajo con acetato de etilo (aproximadamente 30 ml). Se lavó la capa orgánica con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada (aproximadamente 30 ml) y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada (aproximadamente 30 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidrico y después se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando hexano : acetato de etilo = 1 : 1 como eluyente) obteniéndose un sólido amorfo sin color (228 mg, 0.49 mmol, 79%).

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.35(1H, d, 13Hz), 1.41(3H, s), 2.28(1H, dt, 9.4 y 13Hz), 3.60(1H, d, 11Hz), 3.76(1H, d, 11Hz), 3.94(1H, d, 3.0Hz), 4.10(1H, d, 7.0Hz), 4.14(1H, d, 7.0Hz), 4.31(1H,d, 3.0Hz), 4.51(1H, d, 12Hz), 4.54(1H, d, 12Hz), 4.58(1H, d, 12Hz), 4.75(1H, d, 12Hz), 6.06(1H, s), 7.3(10H, m), 7.91(1H, s), 8.42(1H, brs).

20 FAB-MAS(mNBA):465(M+H)⁺

Ejemplo 7

25 *2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina*

(Ejemplificación del compuesto número 2-2)

Se removió una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 6 (195 mg, 0.42 mmol) en metanol (10 ml) bajo atmósfera de hidrógeno a presión atmosférica durante 5 horas. Se filtró la mezcla de reacción para eliminar el catalizador y se concentró el filtrado al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 10 : 1 como eluyente) obteniéndose un polvo incoloro (76 mg, 0.268 mmol, 64%).

35 ¹H-NMR (400MHz, CD₃OD): 1.33(1H, dd, 3.8 y 13Hz), 1.86(3H, d, 0.9Hz), 1.94(1H, ddd, 7.5, 11.7 y 13Hz), 3.68(1H, d, 12Hz), 3.75(1H, d, 12Hz), 3.9-4.0(2H, m), 4.05(1H, d, 3.2Hz), 4.09(1H, d, 3.2Hz), 6.00(1H, s), 8.28(1H, d, 1.1Hz).

40 FAB-MAS(mNBA):285(M+H)⁺

Ejemplo 8

5'-O-Dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina

45 (Ejemplificación del compuesto número 2-27)

Se sometió a reflujo azeotrópicamente una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 7 (1.45 g, 5.10 mmol) en piridina anhidrica para eliminar el agua. Se disolvió el producto en piridina anhidrica (44 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y se añadió 4,4'-dimetoxitritilcloruro (2.59 g, 7.65 mmol) a una solución y se removió la mezcla a temperatura ambiente toda la noche. Se añadió una pequeña cantidad de metanol a la mezcla de reacción y después se evaporó el solvente al vacío. Se dividió el residuo entre agua y cloroformo y la capa orgánica se lavó con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 100 : 10 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (2.42 g, 4.13 mmol, 81%) en forma de un sólido amorfo.

¹H-NMR(270MHz, DMSO-d₆): 11.36(1H,s), 7.68(1H,s), 6.90-7.44(13H,m), 5.89(1H,s), 5.55(1H,d), 4.09(1H,m), 4.04(1H,d), 3.82(2H,m), 3.74(6H,s), 3.19(2H,m), 1.99(1H,m), 1.36(1H,m), 1.17(3H,s).

60 FAB-MAS(mNBA):587(M+H)⁺

65

ES 2 234 563 T3

Ejemplo 9

5'-O-Dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita

5 (Ejemplificación del compuesto número 2-234)

Se sometió a reflujo azeotrópicamente una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 8 (4.72 g, 8.05 mmol) en piridina anhídrica para eliminar el agua. Se disolvió el producto bajo atmósfera de nitrógeno en diclorometano anhídrico (142 ml). Se añadió N,N-diisopropilamina (2.80 ml, 16.1 mmol) a la solución y después se añadió gota a gota 2-cianoetil N,N-diisopropilclorofosforamidita (2.16 ml, 9.66 mmol) en un baño de hielo. Se removió la mezcla a temperatura ambiente durante 6 horas. Se lavó la mezcla de reacción con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando hexano : acetato de etilo : trietilamina = 50 : 50 : 1 - hexano : acetato de etilo : trietilamina = 30 : 60 : 1 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (5.64 g, 15 7.17 mmol, 89%) en forma de un sólido amorfo incoloro.

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): 1.1-1.2(15H,m), 1.4(1H,m), 2.08(1H,m), 2.4(2H,m), 3.2-4.0(14H,m), 4.38(2H,m), 4.47(1H,m), 6.06(1H,s), 6.8-6.9(4H,m), 7.2-7.5(9H,m), 7.91(1H,m).

20 FAB-MAS(mNBA):787(M+H)⁺

Ejemplo 10

3',5'-Di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina

25 (Ejemplificación del compuesto número 1-23)

Se añadió una solución acuosa de hidróxido de sodio 2N y una solución mezcla (5 ml), dicha solución mezcla estaba compuesta por piridina : metanol : agua = 65 : 30 : 5, al compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 12 (238 mg, 0.30 mmol) en piridina : metanol : agua = 65 : 30 : 5 (5 ml) a 0°C y se removió la mezcla a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se neutralizó la mezcla de reacción con ácido clorhídrico 1N y se extrajo con acetato de etilo (aproximadamente 30 ml). La capa orgánica se lavó con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada (aproximadamente 30 ml) y la solución acuosa de cloruro de sodio saturada (aproximadamente 30 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico y después se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 50 : 1 como eluyente) obteniéndose un sólido amorfo incoloro (133 mg, 0.23 mmol, 78%).

40 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.44(1H, d, 13Hz), 2.31(1H, dd, 13 y 19Hz), 3.56(1H, d, 11Hz), 3.70(1H, d, 11Hz), 4.10(2H, m), 4.24(1H, s), 4.45(1H, d, 12Hz), 4.53-4.67(4H, m), 6.52(1H, s), 7.3(10H, m), 7.53(2H, m), 7.62(1H, m), 8.03(2H, d, 7.6Hz), 8.66(1H, s), 8.78(1H, s), 9.00(1H, brs).

FAB-MAS(mNBA):578(M+H)⁺

Ejemplo 11

45 *2'-O,4'-C-Etilen-6-N-benzoiladenosina*

(Ejemplificación del compuesto número 1-178)

50 Se añadió gota a gota una solución de tricloruro de boro 1M (1.5 ml, 1.5 mmol) en diclorometano lentamente a una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 10 (116 mg, 0.20 mmol) en cloruro de metileno anhídrico (5 ml) a -78°C y se removió la mezcla a -78°C durante 3 horas. Se añadió a la mezcla de reacción una solución de tricloruro de boro 1M (1.5 ml, 1.5 mmol) en diclorometano y se removió la mezcla durante 2 horas. Se calentó la mezcla lentamente hasta temperatura ambiente y después se enfrió rápidamente hasta -78°C y después se añadió metanol (5 ml) a la mezcla. Se calentó la mezcla de reacción lentamente hasta temperatura ambiente y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 9 : 1 como eluyente) obteniéndose un polvo blanco (49 mg, 0.17 mmol, 84%).

60 ¹H-NMR (400MHz, CD₃OD): 1.45(1H, dd, 4.3 y 13Hz), 2.12(1H, m), 3.72(1H, d, 12Hz), 3.79(1H, d, 12Hz), 4.04(1H, dd, 7.3 y 12Hz), 4.15(1H, dt, 4.3 y 9.4Hz), 4.36(1H, d, 3.2Hz), 4.43(1H, d, 3.2Hz), 6.57(1H, s), 7.57(2H, m), 7.66(1H, m), 8.09(2H, d, 8.0Hz), 8.72(1H, s), 8.85(1H, s).

FAB-MAS(mNBA):398(M+H)⁺

65

ES 2 234 563 T3

Ejemplo 12

2'-O,4'-C-Etilenadenosina

5 (Ejemplificación del compuesto número 1-7)

Se dejó una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 11 (14 mg, 0.035 mmol) en metanol saturado con amoníaco (1 ml) toda la noche. La mezcla se concentró y se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 10 : 1 como eluyente) obteniéndose un polvo blanco (10 mg, 0.034 mmol, 98%).

¹H-NMR (400MHz, CD₃OD): 1.32(1H, dd, 4 y 13Hz), 2.04(1H, dt, 7.4 y 12Hz), 3.53(1H, dd, 5 y 12Hz), 3.61(1H, dd, 5.2 y 12Hz), 3.90(1H, dd, 7.4 y 12Hz), 3.97(1H, dt, 4 y 12Hz), 4.15(1H, d, 3.1Hz), 4.21(1H, d, 3.1Hz), 5.27(1H, t, 5.2Hz), 5.39(1H, d, 3.1Hz), 6.33(1H, s), 7.29(2H, s), 7.66(1H, m), 8.14(1H, s), 8.42(1H, s).

15 FAB-MAS(mNBA):294(M+H)⁺

UV(λmax) : 260(pH7), 260(pH1), 258(pH13)

20 Ejemplo 13

5'-O-Dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina

25 (Ejemplificación del compuesto número 1-31)

Se sometió a reflujo azeotrópicamente una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 11 (14 mg, 0.035 mmol) en piridina anhídrica para eliminar el agua. Se disolvió el producto en piridina anhídrica (1 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y se añadió 4,4'-dimetoxitritilcloruro (18 mg, 0.053 mmol) a la solución y se removió la mezcla a 40°C durante 5 horas. Se añadió una pequeña cantidad de metanol a la mezcla de reacción y después se evaporó el solvente al vacío. Se dividió el residuo entre agua y cloroformo y se lavó la capa orgánica con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 100 : 5 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (18 mg, 0.026 mmol, 73%) en forma de un sólido incoloro amorfo.

35 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.63(1H,m), 2.14(1H,7.5,12,y 13Hz), 3.37(1H,d,11Hz), 3.41(1H,d,11Hz), 3.79(6H,s), 4.10(2H,m), 4.48(1H,d, 3.3Hz), 4.59(1H,d,3.3Hz), 6.54(1H,s), 6.85(4H,m), 7.2-7.6(12H,m), 8.02(2H,m), 8.45(1H,s), 8.82(1H,s), 9.02(1H,brs).

40 FAB-MAS(mNBA):700(M+H)⁺

Ejemplo 14

5'-O-Dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropil)fosforamidita

45 (Ejemplificación del compuesto número 1-186)

Se sometió a reflujo azeotrópicamente una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 13 (16 mg, 0.023 mmol) en piridina anhídrica para eliminar el agua. Se disolvió el producto bajo atmósfera de nitrógeno en diclorometano anhídrico (0.5 ml). Se añadió sal de Tetrazol N,N-diisopropilamina (10 mg) a la solución y después se añadió gota a gota 2-cianoetil N,N,N',N'-tetraisopropilofosforamidita (aproximadamente 20 μl) en un baño de hielo. Se removió la mezcla a temperatura ambiente toda la noche. Se lavó la mezcla de reacción con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : acetato de etilo = 2 : 1 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (20 mg, 0.022 mmol, 97%) en forma de un sólido blanco.

55 ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): 1.0-1.2(12H,m), 1.54(1H,m), 2.15(1H,m), 2.33(2H,m), 3.3-3.6(6H,m), 3.80(6H,s), 4.08(2H,m), 4.65(1H,m), 4.75(1H,m), 6.53(1H,s), 6.84(4H,m), 7.2-7.6(12H,m), 8.01(2H,m), 8.53(1H,s), 8.83(1H,s), 9.01(1H,brs).

60 FAB-MAS(mNBA):900(M+H)⁺

65

ES 2 234 563 T3

Ejemplo 15

3',5'-Di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilenouridina

5 (Ejemplificación del compuesto número 2-10)

Se añadió una solución de hidróxido de sodio acuoso 1N (2 ml) a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 13 (194 mg, 0.292 mmol) en piridina (3 ml) a 0°C y se removió la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se neutralizó la mezcla de reacción con ácido clorhídrico 1N y se extrajo con acetato de etilo (10 ml). Se lavó la capa orgánica con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidrico y después se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 100 : 3 como eluyente) obteniéndose un aceite incoloro (105 mg, 0.233 mmol, 80%).

15 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.36(1H,m), 2.29(1H,m), 3.63(1H,d,11Hz), 3.74(1H,d, 11Hz), 3.87(1H,d, 2.9Hz), 4.03(2H,m), 4.29(1H,d,2.9Hz), 4.49(1H,d,12Hz), 4.50(1H,d,11Hz), 4.53(1H,d,11Hz), 4.73(1H,d,12Hz), 5.20(1H,dd, 2 y 8Hz), 6.04(1H,s), 7.2-7.4(10H,m), 8.13(1H,d,8.2Hz), 8.57(1H,brs).

FAB-MAS(mNBA):451(M+H)⁺

20 Ejemplo 16

2'-O,4'-C-Etilenuridina

25 (Ejemplificación del compuesto número 2-1)

Se removió una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 15 (100 mg, 0.222 mmol) en metanol (4 ml) bajo atmósfera de hidrógeno a presión atmosférica durante 5 horas. Se filtró la mezcla de reacción para eliminar el catalizador y se concentró el filtrado al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 10 : 1 como eluyente) obteniéndose un aceite incoloro (45 mg, 0.167 mmol, 75%).

35 ¹H-NMR (400MHz, CD₃OD): 1.35(1H,dd,4 y 13Hz), 2.13(1H,ddd, 7,11 y 13Hz), 3.66(1H,d,12Hz), 3.73(1H,d, 12Hz), 3.91-4.08(2H,m),4.01(1H,d,3.2Hz), 4.12(1H,d,3.2Hz), 5.66(1H,d,8.2Hz), 6.00(1H,s), 8.37(1H,d,8.2Hz).

FAB-MAS(mNBA):271(M+H)⁺

Ejemplo 17

40 *5'-O-Dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilenuridina*

(Ejemplificación del compuesto número 2-15)

Se sometió a reflujo azeotrópicamente una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 16 (28 mg, 0.104 mmol) en piridina anhídrica para eliminar el agua. Se disolvió el producto en piridina anhídrica (3 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y se añadió 4,4'-dimetoxitritilcloruro (50 mg, 0.15 mmol) a la solución y se removió la mezcla a temperatura ambiente toda la noche. Se añadió una pequeña cantidad de metanol a la mezcla de reacción y después se evaporó el solvente al vacío. El residuo se dividió entre agua y cloroformo y la capa orgánica se lavó con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 100 : 3 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (25 mg, 0.044 mmol, 42%) en forma de un aceite incoloro.

55 ¹H-NMR (400MHz, CD₃OD): 1.35(1H,dd, 3 y 14Hz), 2.03(1H,ddd, 8,11 y 14Hz), 2.46(1H,d,8Hz), 3.36(1H,d, 11Hz), 3.41(1H,d,11Hz), 3.80(3H,s), 3.81(3H,s), 3.97(2H,m), 4.21(1), 4.33(1H,brm), 5.31(1H,m), 6.10(1H,s), 6.86(4H,m), 7.2-7.5(9H,m), 8.27(1H,d,8.2Hz), 8.43(1H,brs).

FAB-MAS(mNBA):573(M+H)⁺

60 Ejemplo 18

5'-O-Dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilenouridina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropil)fosforamidita

(Ejemplificación del compuesto número 2-233)

65 Se sometió a reflujo azeotrópicamente una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 17 (6 mg, 0.0105 mmol) en piridina anhídrica para eliminar el agua. Se disolvió el producto bajo atmósfera de nitrógeno en diclorometano anhídrico (0.5 ml). Se añadió sal de Tetrazol N,N-diisopropilamina (3 mg) a la solución y después se añadió 2-cianoetil

ES 2 234 563 T3

N,N,N',N'-tetraisopropiloforamidita (aproximadamente 5 μ l) gota a gota en un baño de hielo. Se removió la mezcla a temperatura ambiente toda la noche. La mezcla de reacción se lavó con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuosa saturada y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : acetato de etilo = 2 : 1 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (8 mg) en forma de un sólido blanco.

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): 1.1-1.2(13H,m), 2.09(1H,m), 2.4 (2H,m), 3.3-3.6(6H,m), 3.81(6H,m), 3.94(2H,m), 4.35(1H,m), 4.47(1H,m), 5.18(1H,d,8.2Hz), 6.08(1H,s), 6.86(4H,m), 7.2-7.4(9H,m), 8.31(1H,d,8.2Hz).

FAB-MAS(mNBA):773(M+H)⁺

Ejemplo 19

3',5'-Di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina

(Ejemplificación del compuesto número 2-46)

Se añadió una solución acuosa de hidróxido de sodio 1N (5 ml) a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 14 (310 mg, 0.396 mmol) en piridina (5 ml) a 0°C y se removió la mezcla a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se neutralizó la mezcla de reacción mediante la adición gota a gota de ácido acético acuoso al 20% y se extrajo con diclorometano. Se lavó la capa de diclorometano con una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 100 : 2 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (190 mg, 0.334 mmol, 84%).

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): 1.37(1H,m), 1.58(3H,s), 2.30(1H,dt,10 y 13Hz), 3.64(1H,d,11Hz), 3.7(1H,d,11Hz), 3.95(1H,d,3.0Hz), 4.04(2H,dd,2.3 y 10Hz), 4.37(1H,d,3.0Hz), 4.50(1H,d,12Hz), 4.56(1H,d,11Hz), 4.61(1H,d,11Hz), 4.76(1H,d,12Hz), 6.11(1H,s), 7.2-7.5(13H,m), 8.09(1H,s), 8.29(2H,m).

FAB-MAS(mNBA):568(M+H)⁺

Ejemplo 20

2'-O,4'-C-Etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina

(Ejemplificación del compuesto número 2-226)

Se añadió gota a gota una solución de tricloruro de boro 1M (1.6 ml) en diclorometano a una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 19 (120 mg, 0.211 mmol) en diclorometano anhídrico (5 ml) a -78°C y se removió la mezcla a -78°C durante 4 horas. Se añadió metanol (1 ml) lentamente gota a gota a la mezcla y se removió la mezcla durante 10 minutos. Se ajustó el pH de la mezcla de reacción hasta 7-8 mediante la adición gota a gota de una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuosa saturada. Se calentó la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 100 : 6 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (29 mg, 0.075 mmol, 36%) en forma de un sólido blanco.

¹H-NMR(400MHz, d-DMSO): 1.24(1H,m), 2.01(3H,s), 2.0(1H,m), 3.54(1H,dd,5.4 y 12Hz), 3.64(1H,dd,5.4 y 12Hz), 3.88(3H,m), 4.10(1H,m), 5.36(1H,d,5.4Hz), 5.49(1H,t,5.0Hz), 5.95(1H,s), 7.4-7.6(3H,m), 8.21(2H,m), 8.49(1H,s), 13.17(1H,brs).

FAB-MAS(mNBA):388(M+H)⁺

Ejemplo 21

5'-O-Dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina

(Ejemplificación del compuesto número 2-51)

Se sometió a reflujo azeotrópicamente una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 20 (44 mg, 0.114 mmol) en piridina anhídrica para eliminar el agua. Se disolvió el producto en piridina anhídrica (1 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y se añadió 4,4'-dimetoxitritilcloruro (60 mg, 0.177 mmol) a la solución y se removió la mezcla a temperatura ambiente toda la noche. Se añadió una pequeña cantidad de metanol a la mezcla de reacción y después se evaporó el solvente al vacío. Se dividió el residuo entre agua y cloroformo. Se lavó la capa orgánica con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuosa saturada y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 100 : 4 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (73 mg, 0.106 mmol, 93%) en forma de un aceite incoloro.

ES 2 234 563 T3

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): 1.46(1H,m), 1.49(3H,s), 2.06(1H,m), 2.59(1H,d, 8.6Hz), 3.36(1H,d,11Hz), 3.39(1H, d,11Hz), 3.80(3H, s), 3.81(3H, s), 3.99(2H,m), 4.30(1H,d, 3.3Hz), 4.39(1H,m), 6.12(1H,s), 6.85(4H,m), 7.2-7.5 (12H,m), 8.03(1H,s), 8.28(2H,m).

5 FAB-MAS(mNBA):573(M+H)⁺

Ejemplo 22

10 *5'-O-Dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina-3'-O-(2- cianoetil N,N-diisopropil)fosforamidita*

(Ejemplificación del compuesto número 2-236)

15 Se sometió a reflujo azeotrópicamente una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 21 (35 mg, 0.0507 mmol) en piridina anhídrica para eliminar el agua. Se disolvió el producto bajo atmósfera de nitrógeno en dicloro- metano anhídrico (1 ml). Se añadió sal de Tetrazol N,N-diisopropilamina (17 mg) a la solución y después se añadió 2-cianoetil N,N,N',N'-tetraisopropilfosforamidita (32 µl, 0.1 mmol) gota a gota en un baño de hielo. Se removió la mezcla a temperatura ambiente toda la noche. Se lavó la mezcla de reacción con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuosa saturada y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se concentró al vacío. Se pu-
20 rificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : acetato de etilo = 2 : 1 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (40 mg, 0.0445 mmol, 89%) en forma de un sólido blanco.

25 ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): 1.1-1.2(12H,m), 1.36(3H,s), 1.37(1H,m), 2.10(1H,m), 2.36(2H,m), 3.3-3.6(6H,m), 3.81(6H,m), 3.98(2H,m), 4.42(1H,m), 4.49(1H,m), 6.11(1H,s), 6.88(4H,m), 7.2-7.5(12H,m), 8.14(1H,s), 8.28 (2H,m).

FAB-MAS(mNBA):890(M+H)⁺

Ejemplo 23

30

2'-O,4'-C-Etilen-5-metilcitidina

(Ejemplificación del compuesto número 2-226)

35 Una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 20 (11.6 mg, 0.030 mmol) en metanol saturada con amoníaco (2 ml) se dejó toda la noche. La mezcla se concentró obteniéndose un sólido blanco (8.5 mg, 0.030 mmol).

40 ¹H-NMR(400MHz, d-DMSO): 1.20(1H,m), 1.82(3H,s), 1.97(1H,m), 3.49(1H,dd,5 y 12Hz), 3.58(1H,dd,5 y 12Hz), 3.85(2H,m), 5.23(1H,d,5Hz), 5.32(1H,t,5Hz), 5.84(1H,s), 6.7(1H,brs), 7.2(1H,brs), 8.08(1H,s).

FAB-MAS(mNBA):284(M+H)⁺

UV(λmax): 279(pH7), 289(pH1), 279(pH13)

45 Ejemplo 24

3',5'-Di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina

(Ejemplificación del compuesto número 1-24)

50

Se añadió una solución acuosa de hidróxido de sodio 1N (2 ml) a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 15 (aproximadamente 200 mg) en piridina (2 ml) y se removió la mezcla a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se neutralizó la mezcla de reacción con ácido clorhídrico 1N y se extrajo con acetato de etilo. Se lavó la capa orgánica con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuosa saturada y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico y después se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 50 : 1 como eluyente) obteniéndose un sólido amorfo incoloro (20 mg, 0.036 mmol, 6%, 2 pasos).

60 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.27(3H,s), 1.29(3H,s), 1.43(1H,dd,3 y 13Hz), 2.28(1H,m), 2.59(1H,qui,6.9Hz), 3.54 (1H,d,11Hz), 3.68(1H,d,11Hz), 4.03(2H,m), 4.15(1H,d,3.0Hz), 4.31(1H,d,3.0Hz), 4.45(1H,d,12), 4.56(1H,d,12Hz), 4.61(1H,d,12Hz), 4.63(1H,d,12Hz), 6.18(1H,s), 7.2-7.4(10H,m), 8.19(1H,s), 11.93(1H,brs).

FAB-MAS(mNBA):560(M+H)⁺

65

ES 2 234 563 T3

Ejemplo 25

2'-O,4'-C-Etilen-2-N-isobutirilguanosina

5 (Ejemplificación del compuesto número 1-177)

Se removió una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 24 (10 mg, 0.018 mmol) en metanol (2 ml) bajo atmósfera de hidrógeno a presión atmosférica durante 5 horas. Se filtró la mezcla de reacción para eliminar el catalizador y se concentró el filtrado al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 10 : 2 como eluyente) obteniéndose un aceite incoloro (5 mg, 0.013 mmol, 72%).

¹H-NMR (400MHz, CD₃OD): 1.21(3H,s), 1.22(3H,s), 1.41(1H,dd, 4 y 13Hz), 2.18(1H,m), 2.69(1H,qui,6.9Hz), 3.69(1H,d,12Hz), 3.76(1H,d,12Hz), 4.0(2H,m), 4.26(1H,d,3.2Hz), 4.30(1H,d,3.2Hz), 6.30(1H,s), 8.40(1H,s).

15 FAB-MAS(mNBA):380(M+H)⁺

Ejemplo 26

20 *5'-O-Dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina*

(Ejemplificación del compuesto número 1-35)

Se sometió a reflujo azeotrópicamente una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 25 (5 mg, 0.013 mmol) en piridina anhídrica para eliminar el agua. Se disolvió el producto en piridina anhídrica (1 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y se añadió 4,4'-dimetoxitritilcloruro (14 mg, 0.04 mmol) a la solución y se removió la mezcla a 40°C durante 3 horas. Se añadió una pequeña cantidad de metanol a la mezcla de reacción y después se evaporó el solvente al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 100 : 6 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (4 mg, 0.0059 mmol, 45%) en forma de un sólido incoloro.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.26(3H,d,1.4Hz), 1.28(3H,d,1.4Hz), 1.66(1H,m), 2.15(1H,m), 2.59(1H,qui,6.9Hz), 3.65(1H,m), 3.78(1H,m), 4.06(2H,m), 4.35(1H,m), 4.38(1H,d,3.2Hz), 6.23(1H,s), 6.8(4H,m), 7.2-7.5(9H,m), 8.01(1H,s), 8.19(1H,brs).

35 FAB-MAS(mNBA):682(M+H)⁺

Ejemplo 27

40 *5'-O-Dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropil)fosforamidita*

(Ejemplificación del compuesto número 1-185)

Se sometió a reflujo azeotrópicamente una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 26 (4 mg, 0.0058 mmol) en piridina anhídrica para eliminar el agua. Se disolvió el producto bajo atmósfera de nitrógeno en diclorometano anhídrico (0.5 ml). Se añadió sal de Tetrazol N,N-diisopropilamina (5 mg) a la solución y después se añadió 2-cianoetil N,N,N',N'-tetraisopropilfosforamidita (9 µl, 0.03 mmol) gota a gota en un baño de hielo. Se removió la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Se lavó la mezcla de reacción con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuosa saturada y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : acetato de etilo = 2 : 1 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (4 mg) en forma de un sólido blanco.

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): 1.1-1.4(19H,m), 2.1(1H,m), 2.4(2H,m), 2.6(1H,m), 3.3-3.6(6H, m), 3.8(6H,s), 4.0-4.6(4H,m), 6.2(1H,s), 6.8(4H,m), 7.2-7.5(9H,m), 8.1(1H,s).

Ejemplo 28

2'-O,4'-C-Etilenguanosina

60 (Ejemplificación del compuesto número 1-5)

Una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 25 (0.5 mg) en metanol saturado con amoníaco (0.5 ml) se dejó a 60°C durante 5 horas. Se concentró la mezcla obteniéndose un polvo blanco (0.4 mg).

65 FAB-MAS(mNBA):310(M+H)⁺

UV(λmax): 255(pH7), 256(pH1), 258-266(pH13)

ES 2 234 563 T3

Ejemplo 29

Síntesis de derivado de oligonucleótido

5 Se llevó a cabo la síntesis de un derivado de oligonucleótido utilizando un sintetizador de ácido nucleico mecánico (sintetizador de ADN/ARN model392 ABI: un producto de Perkin-Elmer Corporation) a una escala de 1.0 μmol . Los solventes, reactivos y las concentraciones de fosforamidita en cada ciclo sintético son los mismos que en la síntesis natural de oligonucleótidos. Los solventes, los reactivos y las fosforamiditas de los nucleósidos de tipo natural son productos de PE Biosystems Corporation. Se sintetizó cada derivado modificado de secuencia de oligonucleótido mediante la repetición de la condensación del compuesto obtenido en el Ejemplo 9 o las amiditas que contenían las 4 especies de base de ácido nucleico para la síntesis de nucleótido con 5'-hidroxitimidina producida mediante la desprotección del grupo DMTr de 5'-O-DMTr-timidina (1.0 μmole) utilizando ácido tricloroacético y el grupo 3'-hidroxi de la timidina unida al transportador de CGP. El ciclo sintético se muestra a continuación:

- 15 1) destrilación ácido tricloroacético/diclorometano; 35 segundos
- 2) acoplamiento de la fosforamidita (aproximadamente 20eq), tetrazol/acetonitrilo; 25 segundos o 10 minutos
- 3) caperuzación de 1-metilimidazol/tetrahidrofurano, anhídrido acético/piridina/tetrahidrofurano; 15 segundos
- 20 4) oxidación yodo/agua/piridina/tetrahidrofurano; 15 segundos

en el ciclo de más arriba 2), cuando se utilizó el compuesto obtenido en el Ejemplo 9 el tiempo de reacción era de 10 minutos y cuando se utilizó fosforamiditas el tiempo de reacción era de 25 segundos.

25 Después de la síntesis de la secuencia del derivado de oligonucleótido deseada, se eliminó el grupo 5'-DMTr y después se trató el transportador que contenía el producto deseado convencionalmente con una solución de amoníaco acuosa concentrada para desatar el oligómero del transportador y para desproteger el grupo cianoetilo que es el protector del grupo fosfórico. Se eliminó el grupo amino protector en adenina, guanina y citosina del oligómero. Se purificó el derivado del oligonucleótido mediante HPLC de fase reversa (HPLC: LC-VP: un producto de Shimazu Corp.; columna : Wakopak WS-ADN: un producto de Wako Pure Chemical Industry Ltd.) obteniéndose el oligonucleótido deseado.

35 De acuerdo con este método sintético se obtuvo la siguiente oligosecuencia de nucleótido (en qué el oligonucleótido se refiere aquí como el "oligonucleótido 1") (0.23 μmol , 23% de rendimiento).

5'-gcgtttttgcct-3' (ejemplificación del número de secuencia 2 en la lista de secuencia) en qué el motivo azúcar de las bases de timidinas a los números de base del 4 al 8 es de 2'-O,4'-C etileno.

40 Ejemplo referencial 1

3,5-Di-O-benzil-4-trifluorometansulfoniloximetil-1,2-O-isopropiliden- α -D-eritropentofuranosa

45 Se añadió piridina anhídrica (0.60 ml, 7.5 mmol) a una solución de 3,5-di-O-benzil-4-hidroximetil-1,2-O-isopropiliden- α -D-eritropentofuranosa (2000 mg, 5.0 mmol) en diclorometano anhídrico (50 ml) y trifluorometansulfónico anhídrido (1010 mg, 6.0 mmol) bajo atmósfera de nitrógeno a -78°C y se removió la mezcla durante 40 minutos. La mezcla de reacción se dividió entre el cloruro de metileno y la solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada (aproximadamente 100 ml). La capa orgánica se lavó con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada (aproximadamente 100 ml) y la solución acuosa de cloruro de sodio saturada (aproximadamente 100 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico y después se concentró al vacío obteniéndose un polvo blanco (2520 mg, 4.73 mmol, 95%) que se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

55 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.34(3H, s), 1.63(3H, s), 3.48(1H, d, 10Hz), 3.53(1H, d, 10Hz), 4.21(1H, d, 5.0Hz), 4.5(4H, m), 4.74(1H, d, 12Hz), 4.80(1H, d, 12Hz), 5.01(1H, d, 12Hz), 5.73(1H, d, 4.6Hz), 7.3(10H, m).

Ejemplo referencial 2

3,5-Di-O-benzil-4-cianometil-1,2-O-isopropiliden- α -D-eritropentofuranosa

60 Se disolvió el compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 1 (2520 mg, 4.73 mmol) en dimetilsulfóxido (50 ml) a 90°C. Se añadió cianuro de sodio a la solución (463 mg, 9.46 mmol) a temperatura ambiente y se removió la mezcla a 50°C durante 3 horas. Se dividió la mezcla de reacción entre agua (aproximadamente 100 ml) y acetato de etilo (aproximadamente 100 ml). Se lavó la capa orgánica con una solución acuosa de cloruro de sodio saturada (aproximadamente 100 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico y después se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice (utilizando hexano : acetato de etilo = 4 : 1) obteniéndose un aceite incoloro (1590 mg, 3.89 mmol, 82%).

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.34(3H, s), 1.62(3H, s), 2.88(1H, d, 17Hz), 3.15(1H, d, 17Hz), 3.50(1H, d, 10Hz),

ES 2 234 563 T3

3.58(1H, d, 10Hz), 4.08(1H, d, 5.1Hz), 4.52(1H, d, 12Hz), 4.56(1H, d, 12Hz), 4.57(1H, m), 4.58(1H, d, 12Hz), 4.76(1H, d, 12Hz), 5.73(1H, d, 3.7Hz), 7.3(10H, m).

Ejemplo referencial 3

5

3,5-Di-O-benzil-4-formilmetil-1,2-O-isopropiliden- α -D-eritropentofuranosa

10 Se añadió una solución de tolueno 1.5 M de hidruro de isobutilaluminio (2 ml, 3.0 mmol) lentamente gota a gota a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 2 (610 mg, 1.49 mmol) en diclorometano (10 ml) bajo atmósfera de nitrógeno a -78°C y se removió la mezcla durante 1 hora a -78°C y después se calentó hasta temperatura ambiente. Se añadió metanol a la mezcla de reacción (5 ml) y una solución de cloruro de amonio acuoso saturado (aproximadamente 20 ml) y se removió esta mezcla durante 30 minutos. Se extrajo la mezcla de reacción con acetato de etilo (aproximadamente 30 ml). Se lavó la capa orgánica con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada (aproximadamente 30 ml) y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada (aproximadamente 30 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidrico y después se concentró al vacío obteniéndose un producto que se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

Ejemplo referencial 4

20

3,5-Di-O-benzil-4-hidroxietil-1,2-O-isopropiliden- α -D-eritropentofuranosa

25 Se añadió NaBH₄ (7.6 mg, 0.2 mmol) a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 3 (154 mg, 0.377 mmol) en etanol (5 ml) y se removió la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Se dividió la mezcla de reacción entre acetato de etilo (aproximadamente 10 ml) y agua (aproximadamente 10 ml) y se lavó la capa orgánica con una solución acuosa de cloruro de sodio saturada (aproximadamente 10 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidrico y después se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice (utilizando hexano : acetato de etilo = 2 : 1) obteniéndose un aceite incoloro (117 mg, 0.284 mmol, 75%).

30 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.33(3H, s), 1.66(3H, s), 1.78(1H, ddd, 4.0, 8.5, 15Hz), 2.51(1H, ddd, 3.4, 6.4, 15Hz), 3.31(1H, d, 10Hz), 3.54(1H, d, 10Hz), 3.80(2H, m), 4.13(1H, d, 5.3Hz), 4.43(1H, d, 12Hz), 4.52(1H, d, 12Hz), 4.55(1H, d, 12Hz), 4.65(1H, dd, 4.0, 5.3Hz), 4.77(1H, d, 12Hz), 5.77(1H, d, 4.0 Hz), 7.3 (10H, m).

FABMS(mNBA):415(M+H)⁺, [α]_D+57.4°(0.91, metanol).

Ejemplo referencial 5

3,5-Di-O-benzil-4-formil-1,2-O-isopropiliden- α -D-eritropentofuranosa

40 Se añadió cloruro de oxalilo (6.02 ml, 69.0 mmol) a cloruro de metileno (200 ml) enfriado a -78°C. Se añadió una solución de dimetilsulfóxido (7.87 ml, 110 mmol) en cloruro de metileno anhidrico (100 ml) gota a gota a esta solución. Después de remover durante 20 minutos, se añadió gota a gota una solución de 3,5-di-O-benzil-1,2-O-isopropiliden- α -D-eritropentofuranosa (9210 mg, 23.02 mmol) en diclorometano anhidrico (100 ml) a esta mezcla y se removió la mezcla durante 30 minutos. Se añadió trietilamina (28 ml, 200 mmol) a esta mezcla de reacción y se calentó la mezcla lentamente hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se dividió entre el diclorometano y agua (aproximadamente 300 ml). La capa orgánica se lavó con agua (aproximadamente 300 ml) y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada (aproximadamente 300 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidrico y después se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice (utilizando hexano : acetato de etilo = 5 : 1) obteniéndose un aceite incoloro (8310 mg, 20.88 mmol, 91%).

50 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.35(3H, s), 1.60(3H, s), 3.61(1H, d, 11Hz), 3.68(1H, d, 11Hz), 4.37(1H, d, 4.4Hz), 4.46(1H, d, 12Hz), 4.52(1H, d, 12Hz), 4.59(1H, d, 12Hz), 4.59(1H, dd, 3.4, 4.4Hz), 4.71(1H, d, 12Hz), 5.84(1H, d, 3.4Hz), 7.3 (10H, m), 9.91(1H, s).

FABMS(mNBA):397(M-H)⁺, 421(M+Na)⁺, [α]_D+27.4°(0.51, metanol).

55

Ejemplo referencial 6

3,5-Di-O-benzil-4-vinil-1,2-O-isopropiliden- α -D-eritropentofuranosa

60 Se añadió una solución de tolueno 0.5 M del reactivo de Tebbe (44 ml, 22 mmol) a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 5 (8310 mg, 20.88 mmol) en tetrahidrofurano anhidrico (300 ml) bajo atmósfera de nitrógeno a 0°C y se removió la mezcla a 0°C durante 1 hora. Se añadió éter de dietilo(300 ml) a la mezcla de reacción y después se añadió lentamente una solución de hidróxido de sodio acuosa 0.1N (20 m). Se filtró la mezcla a través de celite para eliminar los precipitados y se lavaron los precipitados con éter de dietilo (aproximadamente 100 ml). Se secó la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidrico y después se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía sobre alúmina básica utilizando diclorometano obteniéndose un producto crudo que después de purificarlo mediante cromatografía sobre gel de sílice (utilizando hexano: acetato de etilo = 8 : 1 - 5 : 1) obteniéndose un aceite incoloro (5600 mg, 14.14 mmol, 68%).

ES 2 234 563 T3

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.28(3H, s), 1.52(3H, s), 3.31(1H, d, 11Hz), 3.34(1H, d, 11Hz), 4.25(1H, d, 4.9Hz), 4.40(1H, d, 12Hz), 4.52(1H, d, 12Hz), 4.57(1H, dd, 3.9, 4.9Hz), 4.59(1H, d, 12Hz), 4.76(1H, d, 12Hz), 5.25(1H, dd, 1.8, 11Hz), 5.52(1H, dd, 1.8, 18Hz), 5.76(1H, d, 3.9Hz), 6.20(1H, dd, 11, 18Hz), 7.3 (10H, m).

5 FABMS(mNBA):419(M+Na)⁺.

Ejemplo referencial 7

10 *3,5-Di-O-benzil-4-hidroxietyl-1,2-O-isopropiliden-α-D-eritropentofuranosa*

10 Se añadió una solución de tetrahidrofurano 0.5 M de 9-BBN (9-borabicyclo[3.3.1]nonano) (80 ml, 40 mmol) gota a gota a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 6 (5500 mg, 13.89 mmol) en tetrahidrofurano anhídrico (200 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y se removió la mezcla a temperatura ambiente toda la noche. Se añadió agua a la mezcla de reacción hasta que cesó la evolución de gas, se añadió una solución de hidróxido de sodio acuoso 3N (30 ml) y después se añadió lentamente una solución de peróxido de hidrógeno acuoso al 30% manteniéndola entre 30 y 50°C. Se removió esta mezcla durante 30 minutos y se dividió entre la solución acuosa de cloruro de sodio saturada (aproximadamente 200 ml) y acetato de etilo (200 ml). Se lavó la capa orgánica con una solución tampón de ácido fosfórico neutro (aproximadamente 200 ml) y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada (aproximadamente 200 ml) y se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico y después se concentró al vacío. 15 20 Se purificó el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice (utilizando hexano : acetato de etilo = 2 : 1 - 1 : 1) obteniéndose un aceite incoloro (5370 mg, 12.97 mmol, 93%).

25 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.33(3H, s), 1.66(3H, s), 1.78(1H, ddd, 4.0, 8.5, 15Hz), 2.51(1H, ddd, 3.4, 6.4, 15Hz), 3.31(1H, d, 10Hz), 3.54(1H, d, 10Hz), 3.80(2H, m), 4.13(1H, d, 5.3Hz), 4.43(1H, d, 12Hz), 4.52(1H, d, 12Hz), 4.55 (1H, d, 12Hz), 4.65(1H, dd, 4.0, 5.3Hz), 4.77(1H, d, 12Hz), 5.77(1H, d, 4.0 Hz), 7.3 (10H, m).

FABMS(mNBA):415(M+H)⁺, [α]_D+57.4°(0.91, metanol).

Ejemplo referencial 8

30

3,5-Di-O-benzil-4-(p-toluensulfoniloxietil)-1,2-O-isopropiliden-α-D-eritropentofuranosa

35 Se añadieron trietilamina (1.8 ml, 13 mmol), dimetilaminpiridina (30 mg, 0.25 mmol), y cloruro de p-toluensulfonilo (858 mg, 4.5 mmol) a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 4 que se sometió a reflujo azeotrópicamente con tolueno (1035 mg, 2.5 mmol) en diclorometano anhídrico (35 ml) bajo atmósfera de nitrógeno a 0°C y se removió la mezcla a temperatura ambiente toda la noche. Se dividió la mezcla de reacción entre el diclorometano y la solución de hidrógenocarbonato de sodio acuosa saturada (aproximadamente 100 ml). Se lavó la capa orgánica con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada (aproximadamente 100 ml) y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada (aproximadamente 100 ml) y se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico y después se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice (utilizando hexano : acetato de etilo = 3 : 1) obteniéndose un aceite incoloro (1340 mg, 2.6 mmol, 94%). 40

45 ¹H-NMR (400MHz, DCI₃): 1.33(3H, s), 1.49(3H, s), 1.99(1H, dt, 7.6 y 15 Hz), 2.47(3H, s), 2.60(1H, ddd, 5.7, 7.6, 15Hz), 3.28(1H, d, 10Hz), 3.45(1H, d, 10Hz), 4.11(1H, d, 5.3Hz), 4.32(2H, m), 4.42(1H, d, 12Hz), 4.50(1H, d, 12Hz), 4.54(1H, d, 12Hz), 4.62(1H, dd, 4.0, 5.2Hz), 4.76(1H, d, 12Hz), 5.74(1H, d, 4.0 Hz), 7.3 (12H, m), 7.78(2H, d, 8.3Hz).

FAB-MAS(mNBA):569(M+H)⁺

50 Ejemplo referencial 9

1,2-Di-O-acetil-3,5-di-O-benzil-4-(p-toluensulfoniloxietil)-α-D-eritropentofuranosa

55 Se añadió anhídrido acético (1.88 ml, 20 mmol) y ácido sulfúrico concentrado (0.01 ml) a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 8 (1340 mg, 2.36 mmol) en ácido acético (15 ml) y se removió la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Se vertió la mezcla de reacción sobre agua (60 ml) en un baño de hielo y se removió durante 30 minutos y después se dividió entre la solución acuosa de cloruro de sodio saturada (aproximadamente 100 ml) y acetato de etilo (aproximadamente 100 ml). Se lavó la capa orgánica con una solución tampón de ácido fosfórico neutro, una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico y después se concentró. Se purificó el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice (utilizando hexano : acetato de etilo = 2 : 1) obteniéndose un aceite incoloro (1290 mg, 2.11 mmol, 89%, α : β = 1 : 5). 60

65 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): (derivado β) 1.86(3H, s), 2.05(3H, s), 2.08(1H, m), 2.18(1H, m), 2.42(3H, s), 3.30 (1H, d, 10Hz), 3.33(1H, d, 10Hz), 4.23(1H, d, 5.1Hz), 4.24(2H, m), 4.42(2H, s), 4.45(1H, d, 12Hz), 4.55(1H, d, 12Hz), 5.28(1H, d, 5.1Hz), 6.01(1H, s), 7.3 (12H, m), 7.73(2H, d, 8.3Hz).

FAB-MAS(mNBA):613(M+H)⁺

ES 2 234 563 T3

Ejemplo referencial 10

2'-O-Acetil-3',5'-di-O-benzil-4'-p-toluensulfoniloxietil-5-metiluridina

5 Se añadió timina trimetilsililada (500 mg, aproximadamente 2 mmol), que se preparó de acuerdo con un método de H.Vorbrggen, K. Kroliekiewicz y B. Bennua (Chem.Ber., 114, 1234-1255 (1981)), a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 9 (650 mg, 1.06 mmol) en 1,2-dicloroetano anhídrico (15 ml) a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. Se añadió trifluorometanesulfonato de trimetilsililo (0.36 ml, 2 mmol) gota a gota a la mezcla y se removió la mezcla a 50°C durante 1 hora. Se añadió una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada (aproximadamente 50 ml) a la mezcla de reacción y se filtró la mezcla a través de celite. Se añadió diclorometano (aproximadamente 50 ml) al filtrado. Se lavó la capa orgánica con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada (aproximadamente 50 ml) y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada (aproximadamente 50 ml) y se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico y después se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice (utilizando hexano : acetato de etilo = 1.2 : 1) obteniéndose un sólido amorfo incoloro (432 mg, 0.64 mmol, 60%).

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.52(3H, d, 0.9Hz), 1.94(1H, dt, 7.5 y 15Hz), 2.06(3H, s), 2.23(1H, dt, 6.0 y 15Hz), 2.42(3H, s), 3.38(1H, d, 10Hz), 3.67(1H, d, 10Hz), 4.17(2H, m), 4.36(1H, d, 6.0Hz), 4.41(1H, d, 12Hz), 4.44(1H, d, 12Hz), 4.48(1H, d, 12Hz), 4.58(1H, d, 12Hz), 5.39(1H, dd, 5.1 y 6.0Hz), 6.04(1H, d, 5.1Hz), 7.3 (12H, m), 7.73(2H, dt, 1.8 y 8.3Hz), 8.18(1H, s).

FAB-MAS(mNBA):679(M+H)⁺

Ejemplo referencial 11

2'-O-Acetil-3',5'-di-O-benzil-4'-p-toluensulfoniloxietil-4-N-benzoilcitidina

30 Se añadió benzoilcitosina trimetilsililada (300 mg, aproximadamente 1.0 mmol), que se había preparado de acuerdo con un método de H.Vorbrggen, K. Kroliekiewicz y B. Bennua (Chem.Ber., 114, 1234-1255 (1981)), a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 9 (383 mg, 0.626 mmol) en 1,2-dicloroetano anhídrico (4 ml). Se añadió trifluorometanesulfonato de trimetilsililo (0.18 ml, 0.995 mmol) a 0°C a la mezcla y se removió la mezcla a 50°C durante 1 hora. Se añadió una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada (aproximadamente 10 ml) y de cloruro de metileno (aproximadamente 20 ml) a la mezcla y después se removió la mezcla. Se eliminaron los precipitados blancos por filtraron a través de celite. Se lavó la capa orgánica del filtrado con una solución acuosa de cloruro de sodio saturada (aproximadamente 20 ml) y se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico y después se concentró al vacío obteniéndose un sólido amorfo incoloro (397 mg, 83%).

40 ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): 8.70(1H, br), 8.18(1H, d, 7.4Hz), 7.87(2H, d, 7.5Hz), 7.72(2H, d, 8.3Hz), 7.61-7.57 (1H, m), 7.51-7.48(2H, m), 7.43-7.21(13H,m), 6.02(1H, d, 2.9Hz), 5.40(1H, dd, 5.8, 2.9Hz), 4.57(1H, d, 11Hz), 4.39 (1H, d, 11Hz), 4.32-4.28(3H, m), 4.19-4.16(2H,m), 3.69(1H, d,11Hz), 3.31(1H, d, 11Hz), 2.40(3H, s), 2.30-2.23(1H, m), 2.06(3H, s), 1.95-1.89(1H, m)

FAB-MAS(mNBA):768(M+H)⁺

Ejemplo referencial 12

2'-O-Acetil-3',5'-di-O-benzil-4'-p-toluensulfoniloxietil-6-N-benzoiladenosina

50 Se añadió benzoiladenosina trimetilsililada (500 mg, aproximadamente 2.0 mmol), que se preparó de acuerdo con un método de H.Vorbrggen, K. Kroliekiewicz y B. Bennua (Chem.Ber., 114, 1234-1255 (1981)), a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 9 (600 mg, 0.98 mmol) en 1,2-dicloroetano anhídrico (15 ml) a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. Después de la adición gota a gota de trifluorometanesulfonato de trimetilsililo (0.36 ml, 2 mmol) a la mezcla, se removió la mezcla a 50°C durante 4 horas. Se añadió una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada (aproximadamente 50 ml) y de diclorometano (50 ml) a la mezcla de reacción y se dividió la mezcla entre estas dos capas. Se lavó la capa orgánica con una solución de hidrógeno-carbonato de sodio acuosa saturada (aproximadamente 50 ml) y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada (aproximadamente 50 ml) y se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico y después se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 50 : 1) obteniéndose un sólido amorfo incoloro(405 mg, 0.51 mmol, 52%).

60 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 2.0(1H, m), 2.06(3H, s), 2.32(1H, dt, 6.0 y 15Hz), 2.40(3H, s), 3.36(1H, d, 10Hz), 3.58(1H, d, 10Hz), 4.22(2H, m), 4.39(1H, d, 12Hz), 4.45(1H, d, 12Hz), 4.47(1H, d, 12Hz), 4.59(1H, d, 12Hz), 4.62 (1H, d, 5.6Hz), 5.94(1H, dd, 4.5 y 5.6Hz), 6.21(1H, d, 4.5Hz), 7.2-7.3 (12H, m), 7.54(2H, m), 7.62(1H, dt, 1.2 y 6.2Hz), 7.72(2H, d, 8.3Hz), 8.02(2H, m), 8.21(1H, s), 8.75(1H, s), 8.97(1H, brs).

65 FAB-MAS(mNBA):792(M+H)⁺

ES 2 234 563 T3

Ejemplo referencial 13

2'-O-Acetil-3',5'-di-O-benzil-4'-p-toluensulfoniloxietil-uridina

5 Se añadió uracil trimetilsililado (200 mg, aproximadamente 0.8 mmol), que se preparó de acuerdo con un método de H.Vorbrggen, K. Krolkiewicz y B. Bennua (Chem.Ber., 114, 1234-1255 (1981)), a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 9 (200 mg, 0.327 mmol) en 1,2-dicloroetano anhídrico (8 ml) a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. Después de la adición gota a gota de trifluorometansulfonato de trimetilsililo (0.145 ml, 0.8 mmol) a la mezcla, se removió la mezcla a 70°C durante 1 hora. Se añadió una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada (aproximadamente 10 ml) a la mezcla de reacción, se filtró la mezcla a través de celite y se añadió diclorometano (aproximadamente 10 ml) al filtrado. Se lavó la capa orgánica con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico y después se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice (utilizando diclorometano : metanol = 100 : 2) obteniéndose un aceite incoloro (199 mg, 0.299 mmol, 92%).

15 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): 1.94(1H,dt,7.4 y 15Hz), 2.07(3H,s), 2.23(1H,dt,5.9 y 15Hz), 2.43(3H,s), 3.36(1H,d,10Hz), 3.65(1H,d,10Hz), 4.17(2H,dd,6 y 7Hz), 4.31(1H,d, 5.9Hz), 4.38(1H,d,11Hz), 4.39(1H,d,11Hz), 4.40(1H,d,11Hz), 4.58(1H,d, 11Hz), 5.29(1H,dd,2.4 y 8.2Hz),5.33(1H,dd,4.5 y 6Hz), 6.00(1H,d,4.5Hz), 7.2-7.4(12H,m), 7.61(1H,d,8.2Hz), 7.74(1H,d,8.3Hz), 8.14(1H,brs).

20 FAB-MAS(mNBA):665(M+H)⁺

Ejemplo referencial 14

2'-O-Acetil-3',5'-di-O-benzil-4'-p-toluensulfoniloxietil-4-N-benzoil-5-metilcitidina

25 Se añadió benzoil-5-metilcitosina trimetilsililada (400 mg, aproximadamente 1.2 mmol), que se había preparado de acuerdo con un método de H.Vorbrggen, K. Krolkiewicz y B. Bennua (Chem.Ber., 114, 1234-1255 (1981)) a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 9 (400 mg, 0.653 mmol) en 1,2-dicloroetano anhídrico (6 ml). Después de la adición de trifluorometansulfonato de trimetilsililo (0.180 μl, 1.0 mmol) a la mezcla a 0°C, se removió la mezcla a 50°C durante 1 hora. Se calentó la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente. Se añadió una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturada (aproximadamente 5 ml) y de cloruro de metileno (aproximadamente 10 ml) a la mezcla de reacción y se removió la mezcla. Se filtró la mezcla a través de celite para eliminar los precipitados blancos. Se lavó la capa orgánica del filtrado con una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico y después se concentró al vacío obteniéndose un sólido amorfo incoloro (320 mg, 0.409 mmol, 63%).

30 ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): 1.68(3H,s), 1.95(1H,dt,7.3 y 15Hz), 2.07(3H,s), 2.25(1H,dt,6 y 15Hz), 2.43(3H,s), 3.40(1H,d,10Hz), 3.71(1H,d,10Hz), 4.18(2H,m), 4.37(1H,d,5.8Hz), 4.42(1H,d,12Hz), 4.46(1H,d,12Hz), 4.51(1H,d,12Hz), 4.61(1H,d, 12Hz), 5.42(1H,dd,4.9 y 5.8Hz), 6.07(1H,d,4.9Hz), 7.2-7.6(17H,m), 7.74(2H,d, 8.3Hz), 8.28(2H,d, 7.0Hz).

35 FAB-MAS(mNBA):782(M+H)⁺

Ejemplo referencial 15

2'-O-Acetil-3',5'-di-O-benzil-4'-p-toluensulfoniloxietil-2-N-isobutirilguanosina

45 Se añadió isobutirilguanosina trimetilsililada (650 mg, aproximadamente 1.5 mmol), que se había preparado de acuerdo con un método de H.Vorbrggen, K. Krolkiewicz y B. Bennua (Chem.Ber., 114, 1234-1255 (1981)), a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo Referencial 9 (400 mg, 0.65 mmol) en 1,2-dicloroetano anhídrico (10 ml) a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. Después de la adición de trifluorometanesulfonato de trimetilsililo (0.2 ml, 1.2 mmol) a la mezcla, se removió la mezcla a 50°C durante 4 horas. Se añadió una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturado (aproximadamente 5 ml) a la mezcla de reacción y se lavó la capa orgánica con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuoso saturado y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se secó sobre sulfato de magnesio anhídrico y después se concentró al vacío obteniéndose un producto que se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

Ejemplo del test 1

60 *Test de medición de T_m*

Se calentó una solución muestra de 4 μM (1000 μL) que tiene una concentración final de NaCl de 100 mM, una solución tampón de fosfato de sodio (pH 7.2) de 10 mM, un oligonucleótido (1) de 4 μM, y ADN complementario (referido aquí como oligonucleótido (2)), que tiene una secuencia indicada mediante su cadena complementaria (secuencia : 5'-agcaaaaaacgc-3' (secuencia No. 1 de la lista de secuencia) o ARN complementario (referido aquí como oligonucleótido (3)) que tiene una secuencia indicada mediante la secuencia 5'-agcaaaaaacgc-3' (Secuencia No. 1 de la lista de Secuencia), en un baño de agua hirviendo y lentamente se enfrió hasta temperatura ambiente durante

ES 2 234 563 T3

5 el curso de aproximadamente dos horas. Se calentó después la solución muestra y se midió utilizando un espectrofotómetro (UV-3100PC : un producto de Shimadzu Corp.). Se calentó la muestra en una célula (grosor celular: 1.0 cm, tipo cylindrical jacket) mediante agua circulando calentada con un incubador (Haake FE2 : un producto de EKO Corp.), y se controló la temperatura utilizando un termómetro digital (SATO SK1250MC). La temperatura aumentó de 20°C a 95°C y se midió la intensidad de la absorbancia ultravioletada a la longitud de onda máxima de absorción alrededor de los 260 nm para cada aumento de 1°C en temperatura. Se utilizó el ADN de origen natural (aquí referido como oligonucleótido (4)) que tiene la secuencia indicada mediante la secuencia 5'-gcgttttgcct-3' (Secuencia No. 2 de la lista de Secuencia), que es la misma secuencia que el oligonucleótido (1) (compuesto del Ejemplo 29), como el control, y se llevó a cabo el mismo procedimiento.

10 Se tomó como T_m la temperatura a la que la cantidad de cambio por 1°C alcanza un máximo (temperatura de fusión), y se evaluó la habilidad de formación de la cadena complementaria del análogo de oligonucleótido a esta temperatura.

15 A continuación se muestran los resultados de medir los valores de T_m del oligonucleótido (4) (ADN de origen natural) y oligonucleótido (1) (Compuesto del Ejemplo 29) relativo al oligonucleótido (2) (ADN complementario) y oligonucleótido (3) (ARN complementario).

20 TABLA 3

T _m (°C)		
Compuesto	Oligonucleótido (2)	Oligonucleótido (3)
Oligonucleótido (4)	48	44
Oligonucleótido (1)	61	75

30 Tal y como se muestra en la anterior tabla, el análogo de oligonucleótido de la presente invención exhibió una T_m más alta remarcablemente y también una habilidad de formación de la cadena complementaria más alta remarcablemente comparado con el ADN de origen natural.

35 Ejemplo del test 2

Medida de la resistencia enzimática a la nucleasa

40 Se mezcló la exonucleasa o la endonucleasa en una solución tampón de oligonucleótido calentada a 37°C durante 15 minutos. La solución mezclada se calentó después a 37°C para una cantidad predeterminada de tiempo. Se añadió ácido tetraacético de etilendiamina (EDTA) a una porción de la solución mezclada y se calentó la mezcla a 100°C durante 2 minutos para parar la reacción. Se determinó la cantidad de oligonucleótido que quedaba en la mezcla mediante cromatografía de columna de alta resolución de fase reversa, y se midieron los cambios basados en el tiempo de la cantidad de oligonucleótido en presencia de nucleasa.

45 Los análogos de oligonucleótido de la presente invención mostraron una resistencia a la nucleasa remarcable.

Aplicaciones industriales

50 El nuevo análogo de oligonucleótido y análogo de nucleósido de la presente invención son útiles como farmacéuticos antisentido o antigénicos y presentan una excelente estabilidad, como agentes de detección (sondas) de un gen específico, como iniciadores para empezar la amplificación o como intermediarios para su producción.

55

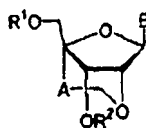
60

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (1):

5



10

(1)

en qué:

15

R¹ y R² son iguales o diferentes y representan un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo protector, un grupo ácido fosfórico, un grupo ácido fosfórico protegido o

20

-P(R³)R⁴ [en qué R³ y R⁴ son iguales o diferentes y representan un grupo hidroxilo, un grupo hidroxilo protegido, un grupo mercapto, un grupo mercapto protegido, un grupo amino, un grupo alcóxido que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo alquiltio que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo cianoalcóxido que tiene de 1 a 5 átomos de carbono o un grupo amino sustituido mediante un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono];

25

A representa un grupo aquileno que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; y

B representa un grupo purin-9-ilo, un grupo 2-oxo-pirimidin-1-ilo o un grupo purin-9-ilo sustituido o un grupo 2-oxo-pirimidin-1-ilo sustituido que tiene al menos un sustituyente que se selecciona del siguiente grupo α ;

30

o su sal;

Grupo α

un grupo hidroxilo,

35

un grupo hidroxilo protegido,

un grupo alcóxido que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,

40

un grupo mercapto,

un grupo mercapto protegido,

un grupo alquiltio que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,

45

un grupo amino,

un grupo amino protegido,

un grupo amino sustituido por un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,

50

un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, y

un átomo de halógeno.

55

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o su sal, en qué R¹ es un átomo de hidrógeno, un grupo acilo alifático, un grupo acilo aromático, un grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupos arilo, un grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupos arilo el anillo de arilo se cuál está sustituido por un grupo alquilo inferior, un alcóxido inferior, un halógeno o ciano, o un grupo sililo.

60

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o su sal, en qué R¹ es un átomo de hidrógeno, un grupo acetilo, un grupo benzoilo, un grupo benzilo, un grupo p-metoxibenzilo, un grupo dimetoxitritilo, un grupo mono-metoxitritilo o un grupo tert-butildifenilsililo.

65

4. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 3 o su sal, en qué R² es un átomo de hidrógeno, un grupo acilo alifático, un grupo acilo aromático, un grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupos arilo, un grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupos arilo el anillo de arilo del cual está sustituido por un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alcóxido que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo halógeno o

ES 2 234 563 T3

ciano, un grupo sililo, un grupo fosforamidita, un grupo fosfonilo, un grupo ácido fosfórico o un grupo ácido fosfórico protegido.

5 El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 3 o su sal, en qué R² es un átomo de hidrógeno, un grupo acetilo, un grupo benzoilo, un grupo benzilo, un grupo p-metoxi-benzilo, un grupo tert-butildifenilsililo, -P(OC₂H₄CN)(NCH(CH₃)₂),

-P(OCH₃)(NCH(CH₃)₂), un grupo fosfonilo o un grupo ácido fosfórico de 2-clorofenilo o 4-clorofenilo.

10 6. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 5 o su sal, en qué A es un grupo metileno.

15 7. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 6 o su sal, en qué B es un grupo 6-aminopurin-9-ilo (es decir, adeninilo), 6-aminopurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2,6-diaminopurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo (es decir, guaninilo), 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo el grupo amino y el grupo hidroxilo del cual están protegidos, 6-amino-2-metoxipurin-9-ilo, 6-amino-2-cloropurin-9-ilo, 6-amino-2-fluoropurin-9-ilo, 2,6-dimetoxipurin-9-ilo, 2,6-dicloropurin-9-ilo, 6-mercaptopurin-9-ilo, 2-oxo-4-amino-pirimidin-1-ilo (es decir, citosinilo), 2-oxo-4-amino-pirimidin-1-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-pirimidin-1-ilo el grupo amino del cual está protegido, 4-amino-2-oxo-5-cloro-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-metoxi-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-mercapto-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-hidroxi-pirimidin-1-ilo (es decir, uracinilo), 2-oxo-4-hidroxi-5-metilpirimidin-1-ilo (es decir, timinilo), 4-amino-5-metil-2-oxo-pirimidin-1-ilo (es decir, metilcitosinilo) o el grupo 4-amino-5-metil-2-oxo-pirimidin-1-ilo el grupo amino del cual está protegido.

30 8. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones de la 1 a la 6 o su sal, en qué B es un grupo 6-benzoilaminopurin-9-ilo, adeninilo, 2-isobutirilamino-6-hidroxipurin-9-ilo, guaninilo, 2-oxo-4-benzoilamino-pirimidin-1-ilo, citosinilo, 2-oxo-5-metil-4-benzoilamino-pirimidin-1-ilo, 5-metilcitosinilo, uracinilo o timinilo.

9. un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o su sal que se selecciona del siguiente grupo:

35 2'-O,4'-C-etilenguanosina,

2'-O,4'-C-etiladenosina,

3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina,

40 3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina,

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina,

45 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina,

2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina,

2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina,

50 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina-3'-O-(2-cianoetilN,N-diisopropilo)fosforamidita,

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina-3'-O-(2-cianoetilN,N diisopropilo)fosforamidita,

2'-O,4'-C-etilenuridina,

55 2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina,

2'-O,4'-C-etilencitidina,

60 2'-O,4'-C-etilen-5-metilcitidina,

3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilenuridina,

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilenuridina,

65 3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina,

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina,

ES 2 234 563 T3

3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina,

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina,

5 3',5'-di-O-benzil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina,

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina,

10

2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina,

2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina,

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-uridina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita,

15

5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita,

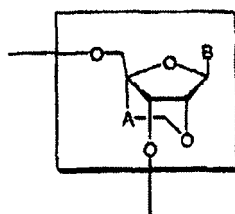
5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita,y

20

5'-O-dimetoxitritil-2'O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropil)fosforamidita.

10. Un análogo de oligonucleótido que tiene una o dos o más estructuras de formula (2):

25



30

(2)

en qué:

35

A representa un grupo alquileo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; y

B representa un grupo purin-9-ilo, un grupo 2-oxo-pirimidin-1-ilo o un grupo purin-9-ilo sustituido o un grupo 2-oxo-pirimidin-1-ilo sustituido que tiene al menos un sustituyente que se selecciona de siguiente grupo α ;

40

o su sal farmacológicamente aceptable;

grupo α

45

un grupo hidroxilo,

un grupo hidroxilo protegido,

un grupo alcóxido que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,

50

un grupo mercapto,

un grupo mercapto protegido,

55

un grupo alquiltio que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,

un grupo amino,

un grupo amino protegido,

60

un grupo amino sustituido por un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,

un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, y

65

un átomo de halógeno.

ES 2 234 563 T3

11. El análogo de oligonucleótido de acuerdo con la reivindicación 10 o su sal farmacéuticamente aceptable, en qué A es un grupo metileno.

12. El análogo de oligonucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 y 11 o su sal farmacéuticamente aceptables, en qué B es un grupo 6-aminopurin-9-ilo (es decir, adeninilo), 6-aminopurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2,6-diamino-purin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo (es decir, guaninilo), 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo el grupo amino y el grupo hidroxilo del cual están protegidos, 6-amino-2-metoxipurin-9-ilo, 6-amino-2-cloropurin-9-ilo, 6-amino-2-fluoropurin-9-ilo, 2,6-dimetoxipurin-9-ilo, 2,6-dicloro-purin-9-ilo, 6-mercaptopurin-9-ilo, 2-oxo-4-amino-pirimidin-1-ilo (es decir, citosinilo), 2-oxo-4-amino-pirimidin-1-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-pirimidin-1-ilo el grupo amino del cual está protegido, 4-amino-2-oxo-5-cloro-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-metoxi-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-mercaptopirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-hidroxi-pirimidin-1-ilo (es decir, uracinilo), 2-oxo-4-hidroxi-5-metilpirimidin-1-ilo (es decir, timinilo), 4-amino-5-metil-2-oxo-pirimidin-1-ilo (es decir, metilcitosinilo) o el grupo 4-amino-5-metil-2-oxo-pirimidin-1-ilo el grupo amino del cual está protegido.

13. El análogo de oligonucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 y 11 o su sal farmacológicamente aceptables, en qué B es un grupo 6-benzoilaminopurin-9-ilo, adeninilo, 2-isobutirilamino-6-hidroxipurin-9-ilo, guaninilo, 2-oxo-4-benzoilamino-pirimidin-1-ilo, citosinilo, 2-oxo-5-metil-4-benzoilamino-pirimidin-1-ilo, 5-metilcitosinilo, uracinilo o timinilo.

14. Una composición farmacológicamente aceptable que comprenda una cantidad efectiva de un compuesto activo farmacológicamente junto con un transportador o diluyente, en qué dicho compuesto activo farmacológicamente es un análogo de oligonucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 10 a la 13 o su sal farmacológicamente aceptable.

15. Una sonda para un gen que comprende un análogo de oligonucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 10 a la 13.

16. Un iniciador para empezar la amplificación que comprenda un análogo de oligonucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 10 a la 13.

17. El uso de un análogo de oligonucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 10 a la 13 o su sal farmacológicamente aceptable en la producción de un medicamento para la prevención o el tratamiento de enfermedades prevenibles o tratables mediante la habilidad de dicho análogo de oligonucleótido para exhibir actividad antisentido útil farmacológicamente en el cuerpo de un paciente después de su administración.

18. El uso de un análogo de oligonucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 10 a la 13 o su sal farmacológicamente aceptable en la producción de un medicamento para la prevención o el tratamiento de enfermedades prevenibles o tratables mediante la habilidad de dicho análogo de oligonucleótido para exhibir actividad antigénica útil farmacológicamente en el cuerpo de un paciente después de su administración.

19. Un análogo de oligonucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de la 10 a la 13 o su sal farmacológicamente aceptable para su uso como medicamento.

50

55

60

65