

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



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

51 Int. Cl.:

C07H 19/067 (2006.01)

C07H 19/10 (2006.01)

C07H 19/167 (2006.01)

C07H 19/20 (2006.01)

C07H 21/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA
TRAS OPOSICIÓN

T5

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.02.2000 PCT/JP2000/00725**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.08.2000 WO00047599**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.02.2000 E 00902887 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **06.09.2017 EP 1152009**

54 Título: **Nuevos análogos de nucleósidos y oligonucleótidos**

30 Prioridad:

12.02.1999 JP 3386399

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente modificada:

17.01.2018

73 Titular/es:

**DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (50.0%)
3-5-1, Nihonbashi Honcho Chuo-ku
Tokyo 103-8426, JP y
MITSUBISHI-KAGAKU FOODS CORPORATION
(50.0%)**

72 Inventor/es:

**KANEKO, MASAKATSU;
MORITA, KOJI y
IMANISHI, TAKESHI**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques
o Bemerkungen) en el folleto original publicado
por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 234 563 T5

DESCRIPCIÓN

Nuevos análogos de nucleósidos y oligonucleótidos

Campo Técnico

5 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 un gen específico o como un iniciador para empezar la amplificación, y a nuevos análogos de nucleósidos que son productos intermedios para su producción.

Antecedentes de la técnica

10 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 capacidad 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 procedimiento de amplificación.

15 Por el contrario, 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, los 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.

20 Para vencer estas limitaciones, se han producido varios análogos de oligonucleótido de origen no natural, y se ha probado desarrollarlos para su uso 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 los 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, aquellos en los que dicho átomo de oxígeno se sustituye por un grupo metileno, aquellos en los que dicho átomo de oxígeno se sustituye por un átomo de boro, y aquellos en los 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 retinitis del citomegalovirus en seres humanos y se ha puesto ISIS2922 en el mercado abierto en los Estados Unidos.

25 El documento WO-A-9839352 desvela los análogos de nucleósido que tienen un grupo $-O-CH_2-$ unido entre sus posiciones 2' y 4' y los oligonucleótidos que contienen dichos nucleósidos que poseen un poco de resistencia a la nucleasa. El documento WO 9914226 desvela nucleósidos que contienen un grupo $-(CH_2)_2-$ 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 de que el uso de esta unión pueda mejorar la estabilidad a las nucleasas.

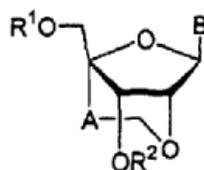
30 Sin embargo, en consideración a la potencia de la actividad antisentido o antigénica en los análogos de oligonucleótido de origen no natural anterior, principalmente la capacidad para formar una cadena complementaria estable con ADN o mRNA, la estabilidad con respecto a diversas nucleasas, y la manifestación 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 capacidad para formar cadenas complementarias.

Divulgación de la Invención

40 Los inventores de la presente invención han realizado 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 productos 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 productos intermedios para su producción, y han realizado 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):



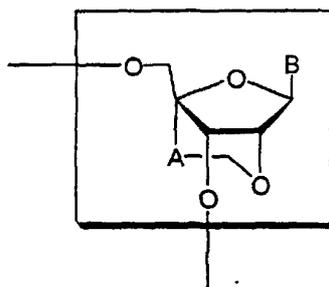
(1)

5 [en la que R¹ y R² 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(R³)R⁴ [en el que 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 alcóxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo alquiltio que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo cianoalcóxi 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 es un grupo metileno; 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 seleccionado entre el siguiente grupo α];
o sales de los mismos.

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



(2)

15 [en la que A es un grupo metileno; 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 seleccionado entre el siguiente grupo α];
o una sal farmacológicamente aceptable de los mismos.

(grupo α)

20 un grupo hidroxilo,
un grupo hidroxilo protegido,
un grupo alcóxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,
un grupo mercapto,
un grupo mercapto protegido,
25 un grupo alquiltio que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,
un grupo amino,
un grupo amino protegido,
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
30 un átomo de halógeno.

El grupo protector de "el grupo protector hidroxilo" de R¹ y R² y "el grupo hidroxilo protegido" de R³ y R⁴ o el grupo α en la fórmula anterior (1) o (2) se refiere a un grupo protector que se puede cortar mediante un procedimiento químico tal como la hidrogenólisis, la descomposición, la hidrólisis, la electrólisis y la fotólisis o mediante un procedimiento biológico como la hidrólisis en el cuerpo humano, y estos grupos protectores pueden incluir "un grupo acilo alifático" tal 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, glutarilo y adipilo, un grupo alquilcarbonilo inferior de halógeno, por ejemplo, cloroacetilo, dicloroacetilo, tricloroacetilo y trifluoroacetilo, un grupo alquilcarbonilo inferior de alcóxi inferior, por ejemplo, metoxiacetilo, y un grupo alquilcarbonilo insaturado, por ejemplo, (E)-2-metil-2-butenilo;
- 5 "un grupo acilo aromático" tal como un grupo arilcarbonilo, por ejemplo, benzoilo, α -naftilo y β -naftilo, un grupo arilcarbonilo de halógeno, por ejemplo, 2-bromobenzoilo y 4-clorobenzoilo, un grupo arilcarbonilo alquilado, por ejemplo, 2,4,6-trimetilbenzoilo y 4-toluoilo, un grupo arilcarbonilo alcoxilado 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 alcóxi inferior, por ejemplo, 2-(metoxicarbonil)benzoilo y un grupo arilcarbonilo arilado, por ejemplo, 4-fenilbenzoilo;
- 10 "un grupo tetrahidropirano o un grupo tetrahidrotiopirano" tal como tetrahidropirano-2-ilo, 3-bromotetrahidropirano-2-ilo, 4-metoxitetrahidropirano-4-ilo, tetrahidrotiopirano-2-ilo y 4-metoxitetrahidrotiopirano-4-ilo;
- "un grupo tetrahidrofuranilo o un grupo tetrahidrotiofuranilo" tal como tetrahidrofuran-2-ilo y tetrahidrotiofuran-2-ilo;
- "un grupo sililo" tal como un grupo tri-alkilsililo inferior, por ejemplo, trimetilsililo, trietilsililo, isopropildimetilsililo, t-butildimetilsililo, metil-di-t-butilsililo y triisopropilsililo y un grupo tri-alkilsililo inferior sustituido por uno o dos grupos arilo, por ejemplo, difenilmetsililo, difenilbutilsililo, difenilisopropilsililo y fenilidisopropilsililo;
- 15 "un grupo alcoximetilo inferior" tal como metoximetilo, 1,1-dimetil-1-metoximetilo, etoximetilo, propoximetilo, isopropoximetilo, butoximetilo y t-butoximetilo;
- "un grupo alcoximetilo inferior de alcóxi inferior" tal como 2-metoxietoximetilo;
- "un grupo alcoximetilo inferior de halógeno" tal como 2,2,2-tricloroetoximetilo y bis(2-cloroetoxi)metilo;
- 20 "un grupo etilo inferior alcoxilado" tal como 1-etoxietilo y 1-(isopropoxi)etilo;
- "un grupo etilo halogenado" tal como 2,2,2-tricloroetilo;
- "un grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupos arilo" tal como bencilo, α -naftilmetilo, β -naftilmetilo, difenilmetilo, trifenilmetilo, α -naftildifenilmetilo y 9-antrilmetilo;
- 25 "un grupo metilo sustituido por de 1 a 3 grupos arilo en el que dicho anillo de arilo se sustituye por un grupo alquilo inferior, un alcóxi inferior, un halógeno o un ciano" tal como 4-metilbencilo, 2,4,6-trimetilbencilo, 3,4,5-trimetilbencilo, 4-metoxibencilo, 4-metoxifenildifenilmetilo, 4,4'-dimetoxitriphenilmetilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, 4-bromobencilo y 4-cianobencilo;
- "un grupo alcoxycarbonilo inferior" tal como metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, t-butoxicarbonilo y isobutoxicarbonilo;
- 30 "un grupo alcoxycarbonilo inferior sustituido por un halógeno o un grupo tri-alkilsililo inferior" tal como 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo y 2-trimetilsililetoxicarbonilo;
- "un grupo alquenoiloxycarbonilo" tal como viniloxycarbonilo y aliloxycarbonilo; y
- "un grupo aralquiloiloxycarbonilo en el que dicho anillo de arilo se puede sustituir por uno o dos grupos alcóxi o nitro inferiores" tal como benciloalcoxycarbonilo, 4-metoxibenciloalcoxycarbonilo, 3,4-dimetoxibenciloalcoxycarbonilo, 2-nitrobenciloalcoxycarbonilo y 4-nitrobenciloalcoxycarbonilo.
- 35 "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 el que dicho anillo de arilo se sustituye por un grupo alquilo inferior, un alcóxi inferior, un halógeno o un ciano" o "el grupo sililo"; más preferentemente un grupo acetilo, un grupo benzoilo, un grupo bencilo, un grupo p-metoxibenzoilo, un grupo dimetoxitritilo, un grupo monometoxitritilo o un grupo terc-butildifenilsililo.
- 40 El grupo protector del "grupo hidroxilo protegido" de R³ y R⁴ o el grupo α pueden incluir preferentemente "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 anterior (1) representa un grupo protector que se puede cortar mediante un procedimiento químico tal como la hidrogenólisis, la hidrólisis, la electrolisis y la fotólisis y un procedimiento biológico tal como la hidrólisis en el cuerpo humano y estos grupos protectores pueden incluir "un grupo alquilo inferior" tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, s-butilo, terc-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;
- 45 "un grupo alquilo inferior cianado" tal como 2-cianoetilo y 2-ciano-1,1-dimetiletilo;
- 50 "un grupo etilo sustituido por un grupo sililo" tal como 2-metildifenilsililetilo, 2-trimetilsililetilo y 2-trifenilsililetilo;
- "un grupo alquilo halogenado inferior" tal como 2,2,2-tricloroetilo, 2,2,2-tribromoetilo, 2,2,2-trifluoroetilo y 2,2,2-tricloro-1,1-dimetiletilo;
- "un grupo alqueno inferior" tal 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" tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, norbornilo y adamantilo;
- 55 "un grupo alqueno cianado inferior" tal como 2-cianobutenilo;
- 60 "un grupo aralquilo" tal como bencilo, α -naftilmetilo, β -naftilmetilo, indenilmetilo, fenanetrenilmetilo, antraceniilmetilo, difenilmetilo, trifenilmetilo, 1-fenetilo, 2-fenetilo, 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;
- 5 "un grupo aralquilo en el que dicho anillo de arilo se sustituye por un grupo nitro o un átomo de halógeno" tal como 4-clorobencilo, 2-(4-nitrofenil)etilo, o-nitrobencilo, 4-nitrobencilo, 2,4-di-nitrobencilo y 4-cloro-2-nitrobencilo;
- "un grupo arilo" tal como fenilo, indenilo, naftilo, fenantrenilo y antraceno; y "un grupo arilo sustituido por un grupo alquilo inferior, un átomo de halógeno o un grupo nitro" tal 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;
- 10 preferentemente "el grupo alquilo inferior", "el grupo alquilo inferior sustituido por un grupo ciano", "el grupo aralquilo" o "el grupo aralquilo en el 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 bencilo.
- "El grupo alcóxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono" de R^3 y R^4 o el grupo α en la fórmula anterior (1) o (2) puede incluir metóxi, etóxi, n-propóxi, isopropóxi, n-butóxi, isobutóxi, s-butóxi o terc-butóxi, preferentemente un grupo metóxi o etóxi.
- 15 El grupo protector de "el grupo mercapto protegido" de R^3 y R^4 o el grupo α en la fórmula anterior (1) o (2) puede incluir, además del grupo protector hidroxilo mencionado anteriormente, "un grupo que forma un disulfuro" tal como un grupo alquiltio, por ejemplo, metiltio, etiltio, terc-butiltio y un grupo ariltio tal como benciltio, preferentemente "el grupo acilo alifático" o "el grupo acilo aromático", más preferentemente un grupo benzoílo.
- "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 anterior (1) o (2)
- 20 puede incluir metiltio, etiltio, propiltio, isopropiltio, butiltio, isobutiltio, s-butiltio y terc-butiltio, preferentemente un grupo metiltio o etiltio.
- El grupo protector de "el grupo amino protegido" del grupo α en la fórmula anterior (1) o (2) puede incluir "un grupo acilo alifático" tal como un grupo alquilcarbonilo, por ejemplo, formilo, acetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, pentanoílo, pivaloílo, valerilo, isovalerilo, octanoílo, nonanoílo, decanoílo, 3-metilnonanoílo, 8-metilnonanoílo, 3-etiloctanoílo, 3,7-dimetiloctanoílo, undecanoílo, dodecanoílo, tridecanoílo, tetradecanoílo, pentadecanoílo, hexadecanoílo, 1-metilpentadecanoílo, 14-metilpentadecanoílo, 13,13-dimetil-tetradecanoílo, heptadecanoílo, 15-metilhexadecanoílo, octadecanoílo, 1-metil-heptadecanoílo, nonadecanoílo, eicosanoílo y heneicosanoílo, un grupo alquilcarbonilo carboxilado, por ejemplo, succinoílo, glutaroílo y adipoílo, un grupo alquilcarbonilo inferior de halógeno, por ejemplo, cloroacetilo, dicloroacetilo, tricloroacetilo y trifluoroacetilo, un grupo alquilcarbonilo inferior de alcóxi inferior, por ejemplo, metoxiacetilo, y un grupo alquilcarbonilo insaturado, por ejemplo, (E)-2-metil-2-butenilo;
- 25 "un grupo acilo aromático" tal como un grupo arilcarbonilo, por ejemplo, benzoílo, α -naftoílo y β -naftoílo, un grupo halogenoarilcarbonilo, por ejemplo, 2-bromobenzoílo y 4-clorobenzoílo, un grupo arilcarbonilo inferior alquilado, por ejemplo, 2,4,6-trimetilbenzoílo y 4-toluoílo, un grupo arilcarbonilo inferior alcoxilado, por ejemplo, 4-anisoílo, un grupo arilcarbonilo carboxilado, por ejemplo, 2-carboxibenzoílo, 3-carboxibenzoílo y 4-carboxibenzoílo, un grupo arilcarbonilo nitrado, por ejemplo, 4-nitrobenzoílo y 2-nitrobenzoílo, un grupo arilcarbonilo inferior de alcóxi carbonilado, por ejemplo, 2-(metoxicarbonil)benzoílo y un grupo arilcarbonilo arilado, por ejemplo, 4-fenilbenzoílo;
- 30 "un grupo alcoxycarbonilo inferior" tal como metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, t-butoxicarbonilo y isobutoxicarbonilo;
- "un grupo alcoxycarbonilo inferior sustituido por un grupo halógeno o un grupo tri-alquilsililo inferior" tal como 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo y 2-trimetilsililetoxicarbonilo;
- 40 "un grupo alqueniloxycarbonilo" tal como viniloxycarbonilo y aliloxycarbonilo; y "un grupo aralquilo oxycarbonilo en el que dicho anillo de arilo se puede sustituir por un grupo alcóxi o nitro inferior" tal como benciloxycarbonilo, 4-metoxibenciloxycarbonilo, 3,4-dimetoxibenciloxycarbonilo, 2-nitrobenciloxycarbonilo, y 4-nitrobenciloxycarbonilo, preferentemente "el grupo acilo alifático o "el grupo acilo aromático", más preferentemente un grupo benzoílo.
- 45 "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 anterior (1) o (2) puede incluir metilamino, etilamino, propilamino, isopropilamino, butilamino, isobutilamino, s-butilamino, terc-butilamino, dimetilamino, dietilamino, dipropiloamino, diisopropiloamino, dibutilamino, diisobutilamino, di(s-butil)amino y di(terc-butil)amino, se prefieren metilamino, etilamino, dimetilamino, dietilamino o diisopropiloamino.
- 50 "El grupo cianoalcóxi que tiene de 1 a 5 átomos de carbono" de R^3 y R^4 en la fórmula anterior (1) representa un grupo en el que "el grupo alcóxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono" descrito anteriormente se sustituye por un grupo ciano, y este grupo ciano puede incluir cianometóxi, 2-cianoetóxi, 3-cianopropóxi, 4-cianobutóxi, 3-ciano-2-metilpropóxi o 1-cianometil-1,1-dimetilmetóxi, preferentemente un grupo 2-cianoetóxi.
- 55 "El grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono" del grupo α en la fórmula anterior (1) o (2) puede incluir metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, s-butil y terc-butilo, preferentemente un grupo metilo o un grupo etilo.
- "El átomo de halógeno" del grupo α en la fórmula anterior (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 anterior (1) o (2)

pueden 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 e 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-mercaptipurin-9-ilo, más preferentemente un grupo 6-benzoilaminopurin-9-ilo, adeninilo, 2-isobutirilamino-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 anterior (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-benzoilamin-5-metil-pirimidin-1-ilo o 5-metilcitosinilo.

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

"El análogo de oligonucleótido" se refiere a un tipo no natural de derivado de "oligonucleótido" 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 pueden incluir preferentemente 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, más preferentemente 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.

"La sal del mismo" 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 tales 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 cinc, sales de cobre, sales de níquel y sales de cobalto; sales de amina tales como sales inorgánicas, por ejemplo, sales de amonio, sales orgánicas, por ejemplo, sales de t-octilamina, sales de dibencilamina, sales de morfolino, sales de glucosamina, sales de éster alquílico de fenilglicina, sales de etilendiamina, sales de N-metilglucamina, sales de guanidina, sales de dietilamina, sales de trietilamina, sales de dicitlohexilamina, sales de N,N'-dibenciletilendiamina, sales de cloroprocaína, sales de procaína, sales de dietanolamina, sales de N-bencil-fenetilamina, sales de piperazina, sales de tetrametilamonio y sales de tris(hidroximetil)aminometano; sales de ácido inorgánico tales 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 tales 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 bencensulfónico 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 tales 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 en una sal, "las sales farmacológicamente aceptables de los mismos" se refieren a una sal de los mismos, y estas sales pueden incluir preferentemente sales inorgánicas, por ejemplo, sales de metales tales 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 cinc, sales de cobre, sales de níquel y sales de cobalto; sales de amina tales como sales inorgánicas, por ejemplo, sales de amonio, sales orgánicas, por ejemplo, sales de t-octilamina, sales de dibencilamina, 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 dicitlohexilamina, sales de N,N'-dibenciletilendiamina, sales de cloroprocaína, sales de procaína, sales de dietanolamina, sales de N-bencil-fenetilamina, sales de piperazina, sales de tetrametilamonio y sales de tris(hidroximetil)aminometano; sales de ácido inorgánico tales 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 tales 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 bencensulfónico 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 tales 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 sales de los mismos de la presente invención, los compuestos 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 cual está sustituido por un grupo alquilo inferior, alcóxi inferior, halógeno o ciano, o un grupo sililo, y sales de los mismos;
- (2) compuestos en los que R¹ es un átomo de hidrógeno, un grupo acetilo, un grupo benzoílo, un grupo bencilo, un grupo p-metoxibencilo, un grupo dimetoxitritilo, un grupo mono-metoxitritilo o un grupo terc-butildifenilsililo, y sales de los mismos;
- (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 4-metil-bencilo, 2,4,6-trimetilbencilo, 3,4,5-trimetilbencilo, 4-metoxibencilo, 4-metoxi-fenildipenilmetilo, 4,4'-dimemoxitriphenilmetilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, 4-bromobencilo, 4-cianobencilo, un grupo sililo, un grupo fosforamidita, un grupo fosfonilo, un grupo ácido fosfórico o un grupo ácido fosfórico protegido, y sales de los mismos;
- (4) compuestos en los que R² es un átomo de hidrógeno, un grupo acetilo, un grupo benzoílo, un grupo bencilo, un grupo p-metoxibencilo, un grupo terc-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 sales de los mismos;
- (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-fluoropurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-fluoropurin-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-metoxipirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-mercapto-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-hidroxi-pirimidin-1-ilo (es decir, uracínilo), 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 sales de los mismos; y
- (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, uracínilo o timinilo, y sales de los mismos.

Los puntos (1) y (2), (3) y (4) o (6) y (7) anteriores indican a mayor número los compuestos más preferidos y en la fórmula (1), se prefiere el compuesto obtenido seleccionando opcionalmente R¹ entre (1) y (2), seleccionando opcionalmente R² entre (3) y (4), y seleccionando opcionalmente B entre (6) y (7) o combinándolos opcionalmente y las sales de los mismos y se prefieren en particular los compuestos y las sales de los mismos seleccionados entre los siguientes grupos.

(Grupo de compuestos)

- 2'-O,4'-C-etilenguanosina,
2'-O,4'-C-etilenadenosina,
3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina,
3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina,
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,
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,
5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina-3'-O-(2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita,
2'-O,4'-C-etilenuridina,
2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina,
2'-O,4'-C-etilencitidina,
2'-O,4'-C-etilen-5-metilcitidina,
3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilenuridina,
5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilenuridina,
3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina,
5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina,
3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina,
5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina,
3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina,
5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina,
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,

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

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

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

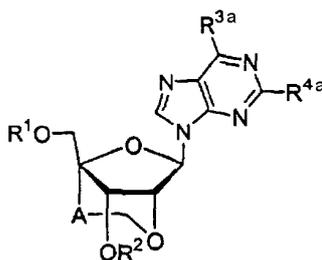
10 (9) análogos de oligonucleótido en los que B es un grupo 6-aminopurin-9-ilo (es decir, adeninilo), 6-aminopurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2,6-diaminopurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo el grupo amino del cual está protegido, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo, 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,
 15 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, uracínilo), 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 sales farmacológicamente aceptables de los mismos; y

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

Los puntos (9) y (10) anteriores indican a mayor número los análogos de oligonucleótido que más se prefieren, y en la fórmula (2), se prefieren los análogos de oligonucleótido obtenidos seleccionando opcionalmente A entre (8) y seleccionando opcionalmente B entre (9) y (10) o combinando opcionalmente éstos y las sales farmacológicamente aceptables de los mismos.

30 Se ilustran los compuestos específicos incluidos en el compuesto anterior 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 Ej. del comp. núm. significa Ejemplificación del compuesto número, Me representa un grupo metilo, Bn representa un grupo bencilo, Bz representa un grupo benzoílo, PMB representa un grupo p-metoxibencilo, Tr representa un grupo trifenilmetilo, MMTr representa un grupo 4-metoxitrifenilmetilo (monometoxitritilo), DMTr
 35 representa un grupo 4,4'-dimetoxitrifenilmetilo (dimetoxitritilo), TMTr representa un grupo 4,4',4''-trimetoxitrifenilmetilo (trimetoxitritilo), TMS representa un grupo trimetilsililo, TBDMS representa un grupo terc-butildimetilsililo, TBDPS representa un grupo terc-butildifenilsililo y TIPS representa un grupo triisopropilosililo.



(1')

[Tabla 1]

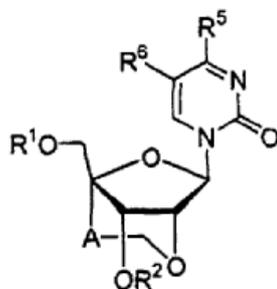
Ej. del comp. núm.	A	R ¹	R ²	R ^{3a}	R ^{4a}
1-1	CH ₂	H	H	H	H
1-2	CH ₂	H	H	H	NH ₂
1-3	CH ₂	H	H	H	OH
1-4	CH ₂	H	H	OH	H
1-5	CH ₂	H	H	OH	NH ₂

(continuación)

Ej. del comp. núm.	A	R ¹	R ²	R ^{3a}	R ^{4a}
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	NHBz	H
1-22	CH ₂	Bn	H	OH	NHCOCH(CH ₃) ₂
1-23	CH ₂	Bn	Bn	NHBz	H
1-24	CH ₂	Bn	Bn	OH	NHCOCH(CH ₃) ₂
1-25	CH ₂	PMB	H	NHBz	H
1-26	CH ₂	PMB	H	OH	NHCOCH(CH ₃) ₂
1-27	CH ₂	PMB	PMB	NHBz	H
1-28	CH ₂	PMB	PMB	OH	NHCOCH(CH ₃) ₂
1-29	CH ₂	Tr	H	NHBz	H
1-30	CH ₂	MMTr	H	NHBz	H
1-31	CH ₂	DMTr	H	NHBz	H
1-32	CH ₂	TMTr	H	NHBz	H
1-33	CH ₂	Tr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) ₂
1-34	CH ₂	MMTr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) ₂
1-35	CH ₂	DMTr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) ₂
1-36	CH ₂	TMTr	H	OH	NHCOCH(CH ₃) ₂
1-37	CH ₂	TMS	H	NHBz	H
1-38	CH ₂	TBDMS	H	NHBz	H
1-39	CH ₂	TBDPS	H	NHBz	H
1-40	CH ₂	TIPS	H	NHBz	H
1-41	CH ₂	TMS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) ₂
1-42	CH ₂	TBDMS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) ₂
1-43	CH ₂	TBDPS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) ₂
1-44	CH ₂	TIPS	H	OH	NHCOCH(CH ₃) ₂
1-177	CH ₂	H	H	OH	NHCOCH(CH ₃) ₂
1-178	CH ₂	H	H	NHBz	H
1-185	CH ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	OH	NHCOCH(CH ₃) ₂
1-186	CH ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OC ₂ H ₄ CN)	NHBz	H

(continuación)

Ej. del comp. núm.	A	R ¹	R ²	R ^{3a}	R ^{4a}
1-201	CH ₂	DMTr	P(O)(OH)H	OH	NHCOCH(CH ₃) ₂
1-202	CH ₂	DMTr	P(O)(OH)H	NHBz	H



(1'')

[Tabla 2]

Ej. del comp. núm.	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
2-12	CH ₂	PMB	PMB	OH	H
2-13	CH ₂	Tr	H	OH	H
2-14	CH ₂	MMTr	H	OH	H
2-15	CH ₂	DMTr	H	OH	H
2-16	CH ₂	TMTr	H	OH	H
2-17	CH ₂	TMS	H	OH	H
2-18	CH ₂	TBDMS	H	OH	H
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
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
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
2-28	CH ₂	TMTr	H	OH	CH ₃
2-29	CH ₂	TMS	H	OH	CH ₃

(continuación)

Ej. del comp. núm.	A	R ¹	R ²	R ⁵	R ⁶
2-30	CH ₂	TBDMS	H	OH	CH ₃
2-31	CH ₂	TBDPS	H	OH	CH ₃
2-32	CH ₂	TIPS	H	OH	CH ₃
2-33	CH ₂	Bn	H	NHBz	H
2-34	CH ₂	Bn	Bn	NHBz	H
2-35	CH ₂	PMB	H	NHBz	H
2-36	CH ₂	PMB	PMB	NHBz	H
2-37	CH ₂	Tr	H	NHBz	H
2-38	CH ₂	MMTr	H	NHBz	H
2-39	CH ₂	DMTr	H	NHBz	H
2-40	CH ₂	TMTr	H	NHBz	H
2-41	CH ₂	TMS	H	NHBz	H
2-42	CH ₂	TBDMS	H	NHBz	H
2-43	CH ₂	TBDPS	H	NHBz	H
2-44	CH ₂	TIPS	H	NHBz	H
2-45	CH ₂	Bn	H	NHBz	CH ₃
2-46	CH ₂	Bn	Bn	NHBz	CH ₃
2-47	CH ₂	PMB	H	NHBz	CH ₃
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
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
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
2-225	CH ₂	H	H	NHBz	H
2-226	CH ₂	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
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
2-249	CH ₂	DMTr	P(N(iPr) ₂)(OCH ₃)	OH	H
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

En la Tabla 1 y Tabla 2 anteriores, los compuestos preferidos incluyen los compuestos (1-5), (1-7), (1-23), (1-24), (1-31), (1-35), (1-39), (1-43), (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), (2-225), (2-226), (2-233), (2-234), (2-235) o (2-236), los compuestos que se prefieren más pueden incluir

5

2'-O,4'-C-etilenguanosina (1-5),

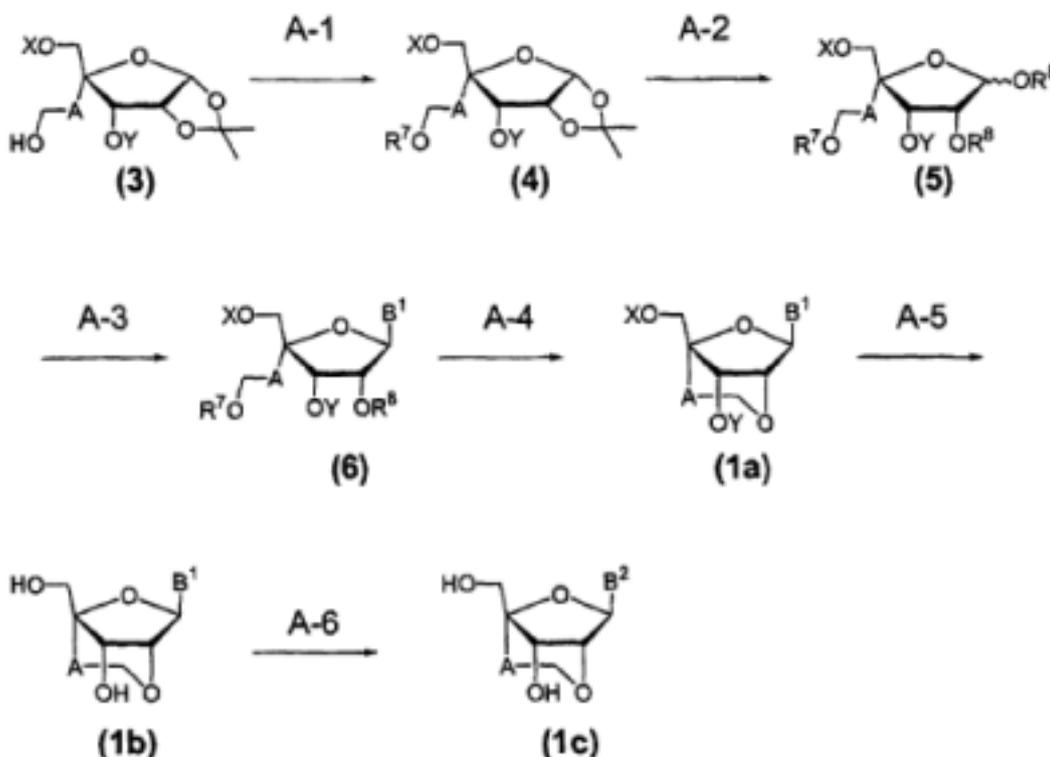
2'-O,4'-C-etilenadenosina (1-7),

3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina (1-23),

3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina (1-24),

- 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina (1-31),
 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina (1-35),
 2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina (1-177),
 2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina (1-178),
 5 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),
 2'-O,4'-C-etilenuridina (2-1),
 2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina (2-2),
 2'-O,4'-C-etilencitidina (2-3),
 10 2'-O,4'-C-etilen-5-metilcitidina (2-4),
 3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilenuridina (2-10),
 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilenuridina (2-15),
 3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina (2-22),
 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina (2-27),
 15 3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina (2-34),
 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina (2-39),
 3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina (2-46),
 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),
 20 2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina (2-226),
 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),
 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).
- 25 El compuesto (1) de la presente invención se puede producir de acuerdo con el Procedimiento A que se describe a continuación.

Procedimiento A



- 30 En el Procedimiento A, X representa un grupo protector; Y representa un grupo protector; A tiene el mismo significado tal y como se ha definido anteriormente; 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 seleccionan entre R³ y R⁴ anteriores 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 anteriores 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 anterior.

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

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

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

A continuación, cada una de las etapas del Procedimiento A se describirá en detalle.

10 (Etapa A-1)

Esta etapa consiste en preparar un compuesto (4) mediante la reacción de un compuesto (3) que se puede preparar mediante los Procedimientos 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.

15 El solvente que se puede utilizar aquí puede incluir hidrocarburos alifáticos tales como hexano, heptano, ligroína y éter de petróleo; hidrocarburos aromáticos tales como benceno, tolueno y xileno; hidrocarburos halogenados tales como cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, dicloroetano, clorobenceno y diclorobenceno; ésteres tales como formato de etilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo y carbonato de dietilo; éteres como dietiléter, éter de diisopropilo, tetrahydrofurano, dioxano, dimetoxietano y éter de dimetilo de dietilenglicol; cetonas tales como acetona, metil etil cetona, metil isobutil cetona, isoforona y ciclohexanona; compuestos nitro tales como
20 nitroetano y nitrobenceno; nitrilos tales como acetonitrilo y isobutironitrilo; amidas tales como formamida, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona, N-metilpirrolidinona y triamida hexametilfosfórica; sulfóxidos tales como sulfolano; y derivados de piridina; preferentemente piridina.

El catalizador base que se puede utilizar en el presente documento preferentemente puede incluir una base tal como trietilamina, piridina y dimetilaminopiridina.

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

30 La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el reactivo para introducir un grupo saliente y el catalizador base, pero por lo general es desde 0 °C hasta 50 °C, preferentemente desde 10 °C hasta 40 °C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el reactivo para introducir un grupo saliente, el catalizador base y el tiempo de reacción, pero por lo general es desde 10 minutos hasta 24 horas, preferentemente 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 tal 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.

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

(Etapa A-2)

La presente etapa consiste en preparar el compuesto (5) mediante la reacción del compuesto (4) preparado en la Etapa A-1 con anhídrido ácido en presencia de un catalizador ácido en un solvente.

45 El solvente que se puede utilizar en el presente documento puede incluir éteres como éter de dietilo, dioxano y tetrahydrofurano; 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 en el presente documento puede incluir ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido nítrico, se prefiere ácido sulfúrico (en particular ácido sulfúrico concentrado).

50 El anhídrido ácido que se puede utilizar en el presente documento puede incluir un anhídrido de un ácido carboxílico

alifático inferior como anhídrido acético y anhídrido del ácido propiónico, se prefiere anhídrido acético.

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.

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

10 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.

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

(Etapa A-3)

15 La presente etapa consiste en preparar el compuesto (6) mediante la reacción del compuesto (5) preparado en la Etapa 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.

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

25 El catalizador ácido que se puede utilizar en el presente documento puede incluir catalizadores ácidos Lewis tales como $AlCl_3$, $SnCl_4$, $TiCl_4$, $ZnCl_2$, BF_3 , trifluorometansulfonato de trimetilsililo; preferentemente trifluorometansulfonato de trimetilsililo.

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el catalizador ácido pero por lo general 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 por lo general es desde 1 hora hasta 24 horas, preferentemente desde 1 hora hasta 8 horas.

30 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 tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

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

(Etapa A-4)

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

40 El solvente que se puede utilizar en el presente documento 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.

45 El catalizador base que se puede utilizar en el presente documento 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 por lo general 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 por lo general es desde 1 minuto hasta 5 horas, preferentemente desde 1 minuto hasta 30 minutos.

50 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 fase orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

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

(Etapa A-5)

La presente etapa consiste en preparar el compuesto (1b) mediante la reacción del compuesto (1a) obtenido mediante la Etapa A-4 con un reactivo que desprotege en un solvente inerte.

10 El procedimiento 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 realizar, por ejemplo, mediante un procedimiento que se describe en "*Protective Groups in Organic Synthesis*" (Theodora W. Greene y Peter G. M. Wuts, 1999, publicado por A Wiley-Interscience Publication).

15 En particular, el procedimiento de desprotección se puede realizar mediante los siguientes procedimientos 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, alcóxi inferior, halógeno o ciano" o (3) "un grupo sililo".

(1) en el caso donde el grupo protector es un grupo acilo alifático o un grupo acilo aromático, la reacción de desprotección normalmente se realiza mediante su tratamiento con una base en un solvente inerte.

20 El solvente que se puede utilizar en el presente documento 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 tales como dimetilformamida y dimetilacetamida; hidrocarburos halogenados tales como cloruro de metileno, cloroformo, 1,2-dicloroetano o tetracloruro de carbono; y éteres tales como tetrahidrofurano, éter de dietilo y dioxano; preferentemente éteres, más preferentemente tetrahidrofurano.

25 La base que se puede utilizar en el presente documento puede incluir hidróxidos de metales alcalinos tales como hidróxido de litio, hidróxido de potasio y hidróxido de sodio; carbonatos de metales alcalinos tales como carbonato de sodio y carbonato de potasio; alcóxidos de metales alcalinos tales como metóxido de sodio y etóxido de sodio; y una solución de amoníaco tal como amoníaco acuso y una solución de amoníaco/metanol.

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

El tiempo de reacción es desde 10 minutos hasta 24 horas, preferentemente 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 tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

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

(2) En el caso donde 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, alcóxi inferior, halógeno o ciano", la reacción se realiza en un solvente inerte utilizando un agente reductor.

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

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

50 La presión no está en particular limitada pero por lo general es desde 1 hasta 10 atm (desde 0,101 hasta 1,013 MPa).

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

El tiempo de reacción es desde 10 minutos hasta 24 horas, preferentemente 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 tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente. El producto deseado obtenido de este modo se puede purificar más, si es necesario, mediante un procedimiento 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 grupos arilo", es decir, un grupo tritilo, la reacción de desprotección también se puede realizar utilizando un ácido.

En este caso, el solvente que se puede utilizar en el presente documento puede incluir hidrocarburos aromáticos

tales como benceno, tolueno y xileno; hidrocarburos halogenados tales como cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, 1,2-dicloroetano, clorobenceno y diclorobenceno; alcoholes tales como metanol, etanol, isopropanol y terc-butanol; nitrilos tales como acetonitrilo y isobutironitrilo; amidas tales como formamida, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona, N-metilpirrolidinona y triamida hexametilfosfórica; y ácidos orgánicos tales como ácido acético; se prefieren ácidos orgánicos (en particular ácido acético) o alcoholes (en particular terc-butanol).

El ácido que se puede utilizar en el presente documento preferentemente puede incluir ácido acético o ácido trifluoroacético.

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

El tiempo de reacción es desde 10 minutos hasta 24 horas, preferentemente 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 tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

El producto deseado obtenido de este modo se puede purificar más, si es necesario, mediante un procedimiento 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 tal como fluoruro de tetrabutilamonio, ácido fluorhídrico, ácido fluorhídrico-piridina y fluoruro de potasio, o ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido metansulfónico, ácido paratoluensulfónico, ácido trifluoroacético y ácido trifluorometansulfónico, o ácidos inorgánicos tales 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 tales como ácido fórmico, ácido acético y ácido propiónico.

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

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, preferentemente 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 tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente. El producto deseado obtenido de este modo se puede purificar más, si es necesario, mediante un procedimiento convencional, por ejemplo, recristalización, y cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

(Etapa A-6)

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

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

En particular, el procedimiento de desprotección se puede realizar mediante el siguiente procedimiento en el caso que el grupo protector sea un grupo acilo alifático o un grupo acilo aromático.

Principalmente, el procedimiento de desprotección normalmente se realiza 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 en el presente documento 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 tales como metanol y etanol; amidas tales como dimetilformamida y dimetilacetamida; hidrocarburos halogenados tales como cloruro de metileno, cloroformo, 1,2-dicloroetano o tetracloruro de carbono; y éteres tales como tetrahidrofurano, éter de dietilo y dioxano; preferentemente los alcoholes; más preferentemente metanol.

La base que se puede utilizar en el presente documento puede incluir hidróxidos de metal alcalino tales como hidróxido de litio, hidróxido de potasio e hidróxido de sodio; carbonatos de metales alcalinos tales como carbonato de sodio y carbonato de potasio; alcóxidos de metal alcalino tales como metóxido de sodio y etóxido de sodio; y amoniaco; preferentemente amoniaco.

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

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 tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhidrido y la eliminación por destilación del solvente.

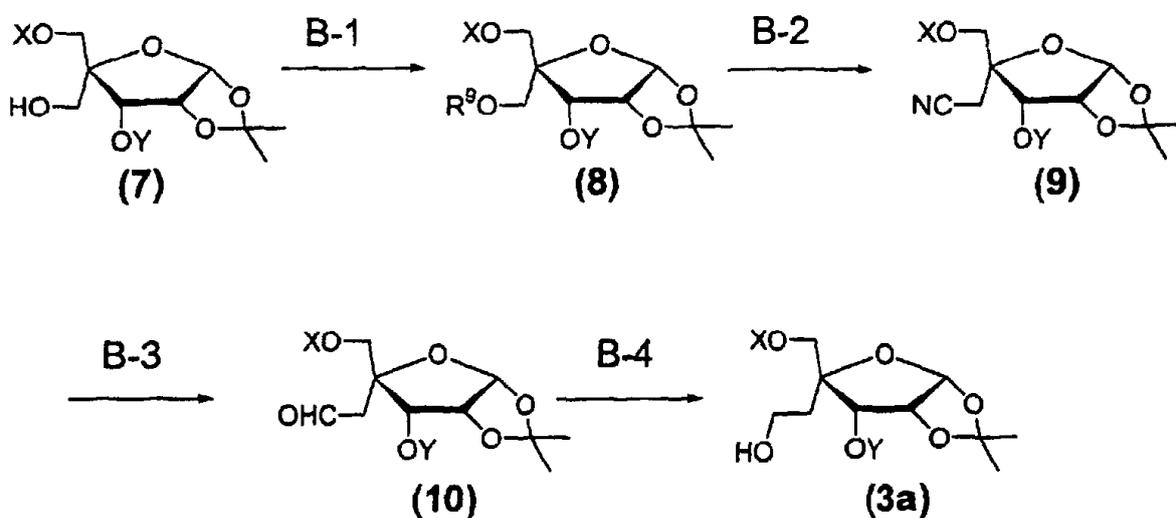
5

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

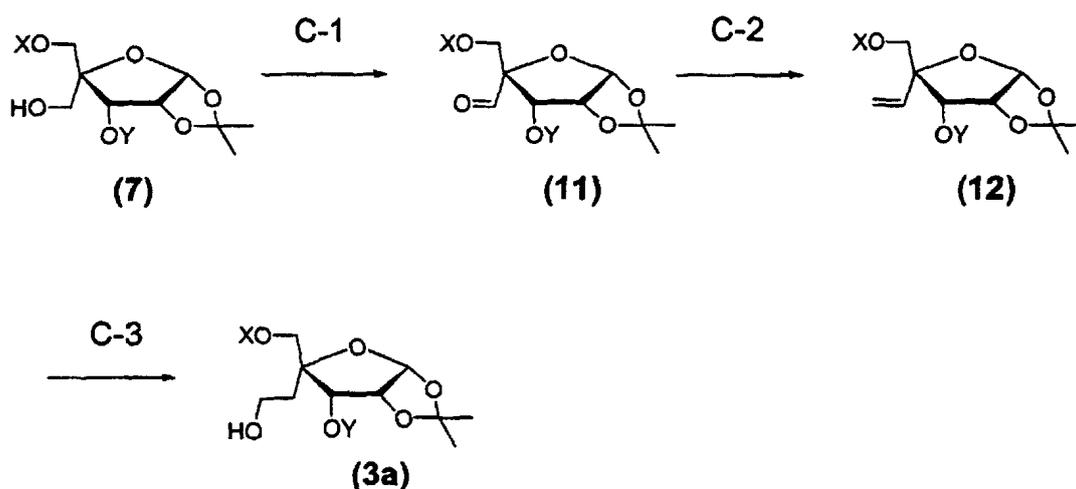
El intermediario (3) descrito anteriormente se puede preparar mediante los Procedimientos del B al D que se describen a continuación.

10

Procedimiento B



Procedimiento C



En los Procedimientos B y C, X e Y tienen el mismo significado tal y como se ha definido anteriormente; R^9 representa un grupo que forma un grupo saliente.

15 El grupo que forma el grupo saliente de R^9 puede incluir el grupo descrito en R^7 anterior, preferentemente un grupo trifluorometansulfonilo.

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

- 5 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 procedimiento de la bibliografía (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 procedimiento de la bibliografía (T. Waga, T. Nishizaki, I. Miyakawa, H. Ohrai, H. Meguro, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 57, 1433-1438 (1993)) (en el caso de que X = Bn).

(Procedimiento B)

(Etapa B-1)

- 10 La presente etapa consiste en preparar el compuesto (8) mediante la reacción del compuesto (7) preparado mediante el procedimiento anterior con un reactivo para introducir un grupo saliente en presencia de un catalizador base en un solvente inerte.

15 El solvente que se puede utilizar en el presente documento 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; preferentemente cloruro de metileno.

El catalizador base que se puede utilizar en el presente documento 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.

- 20 La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el catalizador ácido, pero por lo general es desde -100 °C hasta -50 °C, preferentemente desde -100 °C hasta -70 °C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el catalizador ácido y el tiempo de reacción, pero por lo general es desde 30 minutos hasta 12 horas, preferentemente desde 30 minutos hasta 3 horas.

- 25 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 tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

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

- 30 (Etapa B-2)

La presente etapa consiste en preparar el compuesto (9) mediante la reacción del compuesto (8) preparado mediante la Etapa B-1 con un reactivo cianador reactivo en un solvente inerte.

- 35 El solvente que se puede utilizar en el presente documento puede incluir amidas tales como dimetilformamida y dimetilacetamida; hidrocarburos halogenados tales como cloruro de metileno, cloroformo, 1,2-dicloroetano o tetracloruro de carbono; éteres tales como tetrahidrofurano, éter de dietilo y dioxano; acetonitrilo; dimetilsulfóxi y similares; preferentemente amidas (dimetilformamida).

El reactivo cianador reactivo que se puede utilizar en el presente documento puede incluir KCN, NaCN y cianuro de trimetilsilano, preferentemente NaCN.

- 40 La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el reactivo cianador pero por lo general 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 por lo general es desde 30 minutos hasta 12 horas, se prefiere desde 1 hasta 3 horas.

- 45 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 tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

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

(Etapa B-3)

La presente etapa consiste en preparar el compuesto (10) mediante la reacción del compuesto (9) preparado en la Etapa B-2 con un agente reductor en un solvente inerte.

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

10 El agente reductor que se puede utilizar en el presente documento puede incluir hidruro de diisobutilaluminio e hidruro de trietoxialuminio, preferentemente hidruro de diisobutilaluminio.

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el agente reductor, pero por lo general es desde -100 °C hasta -50 °C, preferentemente desde -90 °C hasta -70 °C.

15 El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el agente reductor y el tiempo de reacción, pero por lo general es desde 30 minutos hasta 12 horas, preferentemente 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 inmisible con agua tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase 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 procedimiento convencional, por ejemplo, recristalización, y cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

(Etapa B-4)

La presente etapa consiste en preparar el compuesto (3a), uno de los materiales de partida del Procedimiento A mediante la reacción del compuesto (10) preparado en la Etapa B-3 con un agente reductor en un solvente inerte.

25 El solvente que se puede utilizar en el presente documento puede incluir alcoholes tales como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol, isobutanol, t-butanol, alcohol isoamílico, dietilenglicol, glicerina, octanol, ciclohexanol y etilglicol de metilo; y ácido acético; preferentemente alcoholes (en particular etanol).

30 El agente reductor que se puede utilizar en el presente documento puede incluir hidrobóruos de metal alcalino tales como hidrobóruo de sodio y hidrobóruo de litio; compuestos de hidruro de aluminio tales como hidruro de aluminio litio e hidruro de trióxido de aluminio litio; y borano; preferentemente hidrobóruo de sodio.

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el agente reductor pero por lo general es desde 0 °C hasta 50 °C, preferentemente 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 por lo general es desde 10 minutos hasta 12 horas, preferentemente desde 30 minutos hasta 5 horas.

35 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 inmisible con agua tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase 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 de este modo se puede purificar más, si es necesario, mediante un procedimiento convencional, por ejemplo, recristalización, y cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

(Procedimiento C)

(Etapa C-1)

La presente etapa consiste en preparar el compuesto (11) mediante la reacción del compuesto (7) preparado en el procedimiento anterior con un agente oxidante en un solvente inerte.

45 El solvente que se puede utilizar en el presente documento puede incluir hidrocarburos alifáticos tales como hexano, heptano, ligroína y éter de petróleo; hidrocarburos aromáticos tales como benceno, tolueno y xileno; hidrocarburos halogenados tales como cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, dicloroetano, clorobenceno y diclorobenceno; ésteres tales como formato de etilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de butilo y carbonato de dietilo; éteres tales como éter de dietilo, éter de diisopropilo, tetrahidrofurano, dioxano, dimetoxietano, dimetiléter de dietilenglicol; y cetonas tales como acetona, metiletilcetona, metilisobutilcetona, isoforona y

50

ciclohexanona; preferentemente hidrocarburos halogenados (en particular el cloruro de metileno).

5 El agente oxidante que se puede utilizar en el presente documento puede incluir el reactivo de Swern para la oxidación, el reactivo de Dess-Martin para la oxidación, un complejo de trióxido de cromo tal como complejo de hidrocioruro de piridina/trióxido de cromo (clorocromato de piridina y dicromato de piridina), preferentemente el reactivo de Swern para la oxidación (principalmente, sulfóxido de dimetilo/cloruro de oxalilo).

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el agente oxidante, pero por lo general es desde -100 °C hasta -50 °C, preferentemente desde -100 °C hasta -70 °C.

El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el agente oxidante y el tiempo de reacción, pero por lo general es desde 30 minutos hasta 12 horas, preferentemente desde 1 hora hasta 5 horas.

10 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 tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase 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 de este modo se puede purificar más, si es necesario, mediante un procedimiento convencional, por ejemplo, la recristalización, y la cromatografía de columna de gel de sílice y similares.

(Etapa C-2)

La presente etapa consiste en preparar el compuesto (12) mediante la reacción del compuesto (11) preparado en la Etapa C-1 con un reactivo aumentador de carbono en un solvente inerte.

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

25 El reactivo que se puede utilizar en el presente documento puede incluir el reactivo de Wittig, el reactivo de Horner-Emmons, el reactivo de la reacción de Peterson, el agente de reacción del sistema $TiCl_4-CH_2Cl_2-Zn$ y el reactivo de Tebbe, preferentemente el reactivo de Wittig, el reactivo de Horner-Emmons y el reactivo de Tebbe.

30 La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el reactivo aumentador de carbono, pero por lo general es desde -20 °C hasta 20 °C, preferentemente 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 por lo general es desde 30 minutos hasta 12 horas, preferentemente desde 1 hora hasta 5 horas.

35 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 tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

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

40 (Etapa C-3)

La presente etapa 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 la Etapa C-2 en un solvente inerte.

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

50 El reactivo de la reacción que se puede utilizar en el presente documento puede incluir borano, disiamilo borano, textil borano, 9-BBN (9-borabiciclo[3.3.1]nonano), preferentemente 9-BBN.

La temperatura de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y el reactivo, pero por lo general es desde 0 °C hasta 50 °C, preferentemente desde 10 °C hasta 40 °C.

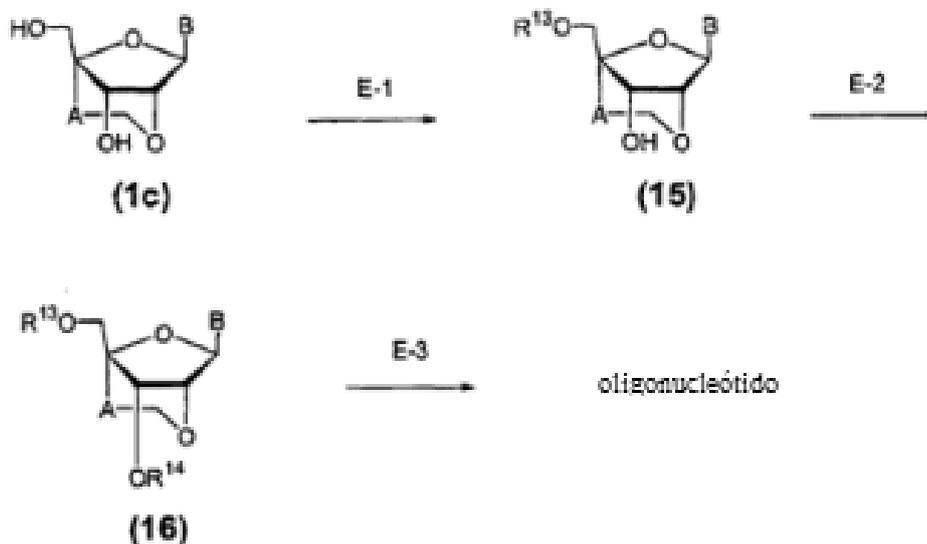
El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente, el reactivo y el tiempo de reacción, pero por lo general es desde 6 horas hasta 48 horas, preferentemente desde 12 horas hasta 24 horas.

- 5 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 tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhidrido y la eliminación por destilación del solvente.

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

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

Procedimiento E



- 15 En el Procedimiento E, A y B tienen el mismo significado tal y como se ha definido anteriormente; 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(alcóxi)fosfinas mono-sustituido o alcóxifosfinas di-sustituidas que se describirán más adelante.

(Procedimiento E)

(Etapa E-1)

- 20 La presente etapa consiste en preparar el compuesto (15) mediante la reacción del compuesto (1) preparado en el Procedimiento A con un reactivo protector en un solvente inerte.

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

- 35 El reactivo protector que se puede utilizar en el presente documento no está en particular limitado mientras solo la posición 5' se pueda proteger selectivamente y se pueda eliminar en condiciones ácidas o neutras pero preferentemente incluye haluros de triarilmetilo tales como cloruro de tritilo, cloruro de monometoxitritilo y cloruro de

dimetoxitritilo.

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 en el presente documento puede incluir aminas heterocíclicas tales como piridina, dimetilaminopiridina y pirrolidinpiridina; y aminas ternarias alifáticas tales como trimetilamina y trietilamina; preferentemente 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 por lo general es desde 0 °C hasta 150 °C, preferentemente desde 20 °C hasta 100 °C. El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el solvente y la temperatura de reacción, pero por lo general es desde 1 hora hasta 100 horas, preferentemente 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 tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente.

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

(Etapa E-2)

20 La presente etapa consiste en preparar el compuesto (16) mediante la reacción del compuesto (15) preparado en la Etapa E-1 con cloro(alcóxi)fosfinas mono-sustituidas o alcofosfinas di-sustituidas normalmente utilizadas para la amidación en un solvente inerte.

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

30 Las cloro(alcóxi)fosfinas mono-sustituidas que se pueden utilizar en el presente documento pueden incluir derivados de fosfina tales como cloro(morfolin)metoxifosfina, cloro(morfolin)cianoetoxifosfina, cloro(dimetilamino)metoxifosfina, cloro(dimetilamino)cianoetoxifosfina, cloro(diisopropilamino)metoxifosfina y cloro(diisopropilamino)cianoetoxifosfina, preferentemente cloro(morfolin)metoxifosfina, cloro(morfolin)cianoetoxifosfina, cloro(diisopropilamino)metoxifosfina y cloro(diisopropilamino)cianoetoxifosfina.

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

35 Las alcofosfinas di-sustituidas que se pueden utilizar en el presente documento pueden incluir derivados de fosfina tales como bis(diisopropilamino)cianoetoxifosfina, bis(dietilamino)metansulfoniletoxifosfina, bis(diisopropilamino)(2,2,2-tricloroetoxi)fosfina y bis(diisopropilamino)(4-clorofenilmetoxi)fosfina, preferentemente la bis(diisopropilamino)cianoetoxifosfina.

40 En el caso en el que se utilizan 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 por lo general es desde 0 °C hasta 80 °C, preferentemente la temperatura ambiente.

45 El tiempo de reacción varía dependiendo del material de partida, el reactivo y el tiempo de reacción, pero por lo general es desde 5 minutos hasta 30 horas, preferentemente desde 30 minutos hasta 10 horas en el caso en el que la reacción se realiza a temperatura ambiente.

50 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 tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente. El producto deseado obtenido de este modo se puede purificar más, si es necesario, mediante un procedimiento convencional, por ejemplo, la recristalización, la reprecipitación o la cromatografía y similares.

Alternativamente, esta etapa consiste en preparar el compuesto (16) mediante la reacción del compuesto (15) preparado en la Etapa E-1 con tris-(1,2,4-triazolil)fosfito en un solvente inerte (preferentemente hidrocarburos halogenados tales como cloruro de metileno), seguido por la adición de agua para efectuar la H-fosfonación.

5 El tiempo de reacción no está en particular limitado, pero por lo general es desde -20 °C hasta 100 °C, preferentemente desde 10 hasta 40 °C.

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, preferentemente 30 minutos en el caso que la reacción se realiza 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 tal como acetato de etilo, el lavado con agua, la separación de una fase orgánica que contiene el compuesto deseado, el secado sobre sulfato de magnesio anhídrido y la eliminación por destilación del solvente. El producto deseado obtenido de este modo se puede purificar más, si es necesario, mediante un procedimiento convencional, por ejemplo, la recristalización, la reprecipitación o la cromatografía y similares.

15 (Etapa E-3)

En esta etapa, se produce el análogo de oligonucleótido objetivo mediante un sintetizador de ADN automático utilizando como mínimo un compuesto (16) preparado en la etapa E-2 y reactivos de fosforamidita disponibles en el mercado que se requieren para producir un análogo de oligonucleótido de una secuencia de nucleótido deseada de acuerdo con procedimientos 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 procedimiento de fosforamidita de acuerdo con el procedimiento descrito en la bibliografía (*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 procedimiento descrito en la bibliografía (*Tetrahedron Letters*, 32, 3005 (1991), *J. Am. Chem. Soc.*, 112, 1253 (1990)) utilizando, aparte 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.).

30 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.

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

Se puede determinar la capacidad de formación de la cadena complementaria y la resistencia enzimática nucleasa del análogo de oligonucleótido resultante de acuerdo con los procedimientos que se describen a continuación.

35 (Procedimiento de ensayo 1)

Se puede determinar la capacidad 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 Tf).

40 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 (hibridación). 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 medición de la absorción ultravioleta a 260 nm.

(Procedimiento de ensayo 2) Medición de la resistencia enzimática nucleasa

50 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 preferentemente es de 0 hasta 100 °C, y más preferentemente 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.

Los ejemplos de los procedimientos utilizados para ensayar la cantidad de oligonucleótido que queda incluyen un procedimiento 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 procedimiento en el que el producto de reacción de corte se ensaya mediante cromatografía líquida de alta resolución de fase reversa (HPLC), y un procedimiento en el que el producto de reacción de corte se tiñe con un tinte (tal 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 procedimientos conocidos utilizando aditivos tales como excipientes (por ejemplo, excipientes orgánicos tales 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; dextrano; y Pululano; y excipientes inorgánicos tales 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 tales como estearato de calcio y estearato de magnesio; talco; sílice coloidal; ceras tales 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 tales como laurilsulfato de sodio y laurilsulfato de magnesio; ácidos silícicos tales como anhídrido silícico e hidrato del ácido silícico; y los derivados del almidón anteriores), aglutinantes (por ejemplo, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, pirrolidona de polivinilo, Macrogol y compuestos similares a los excipientes anteriores), 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 tales como almidón de carboximetilo, almidón de carboximetilo de sodio y pirrolidona de polivinilo con puentes), estabilizadores (paraoxibenzoatos tales como metilparabeno y propilparabeno; alcoholes tales como clorobutanol, alcohol bencílico y alcohol feniletílico; cloruro de benzalconio; derivados de fenol como fenol y cresol; timerosal; ácido deshidroacético; y ácido sórbico), corrigentes (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, procedimientos de administración, etc., por ejemplo, en el caso de la administración oral, es deseable administrar un ingrediente activo en una cantidad de 0,01 mg/kg de peso corporal (preferentemente 0,1 mg/kg de peso corporal) hasta 1000 mg/kg de peso corporal (preferentemente 100 mg/kg de peso corporal) y en el caso de la administración intravenosa, preferentemente administrar un ingrediente activo en una cantidad de desde 0,001 mg/kg de peso corporal (preferentemente 0,01 mg/kg de peso corporal) hasta 100 mg/kg de peso corporal (preferentemente 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-Bencil-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 de Referencia 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 %).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 8,64 (2H, s a), 7,89 (2H, d, 7,6 Hz), 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, 11 Hz), 4,60 (1H, d, 11 Hz), 4,55 (1H, d, 11 Hz), 4,46 (1H, d, 2,9 Hz), 4,42 (1H, d, 11 Hz), 4,10-4,02 (2H,m), 3,89 (1H, d, 2,9 Hz), 3,75 (1H, d, 11 Hz), 3,62 (1H, d, 11 Hz), 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 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 de color blanco.

5 RMN-¹H (500M Hz, DMSO-d₆): 11,23 (1H, s a), 8,70 (1H, d, 7,2 Hz), 8,00 (2H, d, 7,5 Hz), 7,3-6 (4H, m), 5,97 (1H, s), 5,35 (1H, dd, 5 y 10 Hz), 4,10 (1H, dd, 5 y 10 Hz), 4,03 (1H, d, 3,2 Hz), 3,95-3,85 (2H, m), 3,83 (1H, d, 3,2 Hz), 3,65-3,51 (2H, m), 2,06-1,98 (1H, m), 1,26 (1).
 10 FAB-MAS(mNBA):374 (M+H)⁺

Ejemplo 3

15 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 de color blanco.

20 RMN-¹H (500M Hz, DMSO-d₆): 8,18 (1H, d, 7,4 Hz), 7,10 (2H, a), 5,84 (1H, s), 5,69 (1H, d, 7,6 Hz), 5,27-5,24 (2H, m), 3,86 (1H, d, 3,2 Hz), 3,90-3,78 (2H, m), 3,76 (1H, d, 3,2 Hz), 3,56 (1H, dd, 5,5 y 12 Hz), 3,49 (1H, dd, 5,5 y 12 Hz), 2,01-1,93 (1H, dt, 7,5 y 12 Hz), 1,22 (1H, dd, 3,6 y 13 Hz).
 FAB-MAS(mNBA):270 (M+H)⁺

Ejemplo 4

25 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) en 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 fase 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 incoloro.

30 RMN-¹H (270M Hz, DMSO-d₆): 11,27 (1H, s a), 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).
 35 FAB-MAS(mNBA):676 (M+H)⁺

Ejemplo 5

40 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 en 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-diisopropilclorofoforamidita (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:triethylamina = 50:1 – diclorometano:acetato de etilo:triethylamina = 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.

50 RMN-¹H (400 MHz, 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).

Ejemplo 6

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

(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 de Referencia 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 fase 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 incoloro (228 mg, 0,49 mmol, 79 %).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 1,35 (1H, d, 13 Hz), 1,41 (3H, s), 2,28 (1H, dt, 9,4 y 13 Hz), 3,60 (1H, d, 11 Hz), 3,76 (1H, d, 11 Hz), 3,94 (1H, d, 3,0 Hz), 4,10 (1H, d, 7,0 Hz), 4,14 (1H, d, 7,0 Hz), 4,31 (1H, d, 3,0 Hz), 4,51 (1H, d, 12 Hz), 4,54 (1H, d, 12 Hz), 4,58 (1H, d, 12 Hz), 4,75 (1H, d, 12 Hz), 6,06 (1H, s), 7,3 (10H, m), 7,91 (1H, s), 8,42 (1H, s a).

FAB-MAS(mNBA):465 (M+H)⁺

Ejemplo 7

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) en 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 %).

RMN-¹H (400 MHz, CD₃OD): 1,33 (1H, dd, 3,8 y 13 Hz), 1,86 (3H, d, 0,9 Hz), 1,94 (1H, ddd, 7,5, 11,7 y 13 Hz), 3,68 (1H, d, 12 Hz), 3,75 (1H, d, 12 Hz), 3,9-4,0 (2H, m), 4,05 (1H, d, 3,2 Hz), 4,09 (1H, d, 3,2 Hz), 6,00 (1H, s), 8,28 (1H, d, 1,1 Hz).

FAB-MAS(mNBA):285 (M+H)⁺

Ejemplo 8

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

(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 anhídrica para eliminar el agua. Se disolvió el producto en piridina anhídrica (44 ml) en 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 fase 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.

RMN-¹H (270M Hz, 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).

FAB-MAS(mNBA):587 (M+H)⁺

Ejemplo 9

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

(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 en 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, 7,17 mmol, 89 %) en forma de un sólido amorfo incoloro.

RMN-¹H (400 MHz, 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).
FAB-MAS(mNBA):787 (M+H)⁺

Ejemplo 10

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

5 (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 de Referencia 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 fase 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 anhidrico 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 %).

10 (aproximadamente 30 ml). La fase 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 anhidrico 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 %).

15 RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,44 (1H, d, 13 Hz), 2,31 (1H, dd, 13 y 19 Hz), 3,56 (1H, d, 11 Hz), 3,70 (1H, d, 11 Hz), 4,10 (2H, m), 4,24 (1H, s), 4,45 (1H, d, 12 Hz), 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, 7,6 Hz), 8,66 (1H, s), 8,78 (1H, s), 9,00 (1H, s a).
FAB-MAS(mNBA):578 (M+H)⁺

Ejemplo 11

20 2'-O,4'-C-Etilen-6-N-benzoiladenosina

(ejemplificación del compuesto número 1-178)

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 anhidrico (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 de color blanco (49 mg, 0,17 mmol, 84 %).

25 (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 de color blanco (49 mg, 0,17 mmol, 84 %).

30 RMN-¹H (400 MHz, CD₃OD): 1,45 (1H, dd, 4,3 y 13 Hz), 2,12 (1H, m), 3,72 (1H, d, 12 Hz), 3,79 (1H, d, 12 Hz), 4,04 (1H, dd, 7,3 y 12 Hz), 4,15 (1H, dt, 4,3 y 9,4 Hz), 4,36 (1H, d, 3,2 Hz), 4,43 (1H, d, 3,2 Hz), 6,57 (1H, s), 7,57 (2H, m), 7,66 (1H, m), 8,09 (2H, d, 8,0 Hz), 8,72 (1H, s), 8,85 (1H, s).
FAB-MAS(mNBA):398 (M+H)⁺

Ejemplo 12

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

(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 de color blanco (10 mg, 0,034 mmol, 98 %).

40 (10 mg, 0,034 mmol, 98 %).

RMN-¹H (400 MHz, CD₃OD): 1,32 (1H, dd, 4 y 13 Hz), 2,04 (1H, dt, 7,4 y 12 Hz), 3,53 (1H, dd, 5 y 12 Hz), 3,61 (1H, dd, 5,2 y 12 Hz), 3,90 (1H, dd, 7,4 y 12 Hz), 3,97 (1H, dt, 4 y 12 Hz), 4,15 (1H, d, 3,1 Hz), 4,21 (1H, d, 3,1 Hz), 5,27 (1H, t, 5,2 Hz), 5,39 (1H, d, 3,1 Hz), 6,33 (1H, s), 7,29 (2H, s), 7,66 (1H, m), 8,14 (1H, s), 8,42 (1H, s).
FAB-MAS(mNBA):294 (M+H)⁺

45 UV (λ_{max}): 260 (pH7), 260 (pH1), 258 (pH13)

Ejemplo 13

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

(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) en 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 fase 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.

- 5 RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,63 (1H,m), 2,14 (1H,7,5,12,y 13 Hz), 3,37 (1H, d, 11 Hz), 3,41 (1H, d, 11 Hz), 3,79 (6H,s), 4,10 (2H,m), 4,48 (1H, d, 3,3 Hz), 4,59 (1H, d, 3,3 Hz), 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,s a).
FAB-MAS(mNBA): 700 (M+H)⁺

Ejemplo 14

- 10 5'-O-Dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoadenosina-3'-O- (2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita
(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 en 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 de color blanco.

- 15
20 RMN-¹H (400 MHz, 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,s a).
FAB-MAS(mNBA): 900 (M+H)⁺

25 Ejemplo 15

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

(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 de Referencia 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 fase 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 anhídrico 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 %).

- 35 RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,36 (1H,m), 2,29 (1H,m), 3,63 (1H, d, 11 Hz), 3,74 (1H, d, 11 Hz), 3,87 (1H, d, 2,9 Hz), 4,03 (2H,m), 4,29 (1H, d, 2,9 Hz), 4,49 (1H, d, 12 Hz), 4,50 (1H, d, 11 Hz), 4,53 (1H, d, 11 Hz), 4,73 (1H, d, 12 Hz), 5,20 (1H, dd, 2 y 8 Hz), 6,04 (1H,s), 7,2-7,4 (10H,m), 8,13 (1H, d, 8,2 Hz), 8,57 (1H,s a).
FAB-MAS(mNBA): 451 (M+H)⁺

Ejemplo 16

- 40 2'-O,4'-C-Etilenuridina

(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) en 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 %).

- 45 RMN-¹H (400 MHz, CD₃OD): 1,35 (1H, dd, 4 y 13 Hz), 2,13 (1H,ddd, 7,11 y 13 Hz), 3,66 (1H, d, 12 Hz), 3,73 (1H, d, 12 Hz), 3,91-4,08 (2H,m), 4,01 (1H, d, 3,2 Hz), 4,12 (1H, d, 3,2 Hz), 5,66 (1H, d, 8,2 Hz), 6,00 (1H,s), 8,37 (1H, d, 8,2 Hz).
50 FAB-MAS(mNBA): 271 (M+H)⁺

Ejemplo 17

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) en 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 fase 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.

5
10
RMN-¹H (400 MHz, CD₃OD): 1,35 (1H, dd, 3 y 14 Hz), 2,03 (1H,ddd, 8,11 y 14 Hz), 2,46 (1H, d, 8 Hz), 3,36 (1H, d, 11 Hz), 3,41 (1H, d, 11 Hz), 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, 8,2 Hz), 8,43 (1H,s a).
FAB-MAS(mNBA): 573 (M+H)⁺

Ejemplo 18

15 5'-O-Dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilenouridina-3'-O- (2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita
(ejemplificación del compuesto número 2-233)

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 en 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 N,N,N',N'-tetraisopropiloforamidita (aproximadamente 5 µl) 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 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 (8 mg) en forma de un sólido de color blanco.

20
25
RMN-¹H (400 MHz, 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, 8,2 Hz), 6,08 (1H,s), 6,86 (4H,m), 7,2-7,4 (9H,m), 8,31 (1H, d, 8,2 Hz).
FAB-MAS(mNBA): 773 (M+H)⁺

Ejemplo 19

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

30 (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 de Referencia 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 %).

35
40
RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,37 (1H,m), 1,58 (3H,s), 2,30 (1H, dt, 10 y 13 Hz), 3,64 (1H, d, 11 Hz), 3,7 (1H, d, 11 Hz), 3,95 (1H, d, 3,0 Hz), 4,04 (2H, dd, 2,3 y 10 Hz), 4,37 (1H, d, 3,0 Hz), 4,50 (1H, d, 12 Hz), 4,56 (1H, d, 11 Hz), 4,61 (1H, d, 11 Hz), 4,76 (1H, d, 12 Hz), 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)

45 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 acuoso 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 de color blanco.

50
55
RMN-¹H (400 MHz, d-DMSO): 1,24 (1H,m), 2,01 (3H,s), 2,0 (1H,m), 3,54 (1H, dd, 5,4 y 12 Hz), 3,64 (1H, dd, 5,4 y 12 Hz), 3,88 (3H,m), 4,10 (1H,m), 5,36 (1H, d, 5,4 Hz), 5,49 (1H,t,5,0 Hz), 5,95 (1H,s), 7,4-7,6 (3H,m), 8,21 (2H,m), 8,49 (1H,s), 13,17 (1H,s a).
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)

5 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) en 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 fase 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 = 100:4 como eluyente) obteniéndose el compuesto del título (73 mg, 0,106 mmol, 93 %) en forma de un aceite incoloro.

10 RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,46 (1H,m), 1,49 (3H,s), 2,06 (1H,m), 2,59 (1H, d, 8,6 Hz), 3,36 (1H, d, 11 Hz), 3,39 (1H, d, 11 Hz), 3,80 (3H, s), 3,81 (3H, s), 3,99 (2H,m), 4,30 (1H, d, 3,3 Hz), 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).
 15 FAB-MAS(mNBA): 573 (M+H)⁺

Ejemplo 22

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

(ejemplificación del compuesto número 2-236)

20 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 en atmósfera de nitrógeno en diclorometano 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 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 (40 mg, 0,0445 mmol, 89 %) en forma de un sólido de color blanco.

25 RMN-¹H (400 MHz, 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).
 30 FAB-MAS(mNBA): 890 (M+H)⁺

Ejemplo 23

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 de color blanco (8,5 mg, 0,030 mmol).

40 RMN-¹H (400 MHz, d-DMSO): 1,20 (1H, m), 1,82 (3H,s), 1,97 (1H,m), 3,49 (1H, dd, 5 y 12 Hz), 3,58 (1H, dd, 5 y 12 Hz), 3,85 (2H,m), 5,23 (1H, d, 5 Hz), 5,32 (1H,t,5 Hz), 5,84 (1H,s), 6,7 (1H,s a), 7,2 (1H,s a), 8,08 (1H,s).
 FAB-MAS(mNBA): 284 (M+H)⁺
 UV (λ_{max}): 279 (pH7), 289 (pH1), 279 (pH13)

Ejemplo 24

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

(ejemplificación del compuesto número 1-24)

45 Se añadió una solución acuosa de hidróxido de sodio 1N (2 ml) a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo de Referencia 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 fase 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 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 etapas).

50 RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,27 (3H,s), 1,29 (3H,s), 1,43 (1H, dd, 3 y 13 Hz), 2,28 (1H,m), 2,59 (1H,qui,6,9 Hz), 3,54 (1H, d, 11 Hz), 3,68 (1H, d, 11 Hz), 4,03 (2H,m), 4,15 (1H, d, 3,0 Hz), 4,31 (1H, d, 3,0 Hz), 4,45 (1H, d, 12), 4,56 (1H, d, 12 Hz), 4,61 (1H, d, 12 Hz), 4,63 (1H, d, 12 Hz), 6,18 (1H,s), 7,2-7,4 (10H,m), 8,19 (1H,s), 11,93 (1H,s a).
 FAB-MAS(mNBA): 560 (M+H)⁺

Ejemplo 25

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

(ejemplificación del compuesto número 1-177)

5 Se removió una solución del compuesto obtenido en el Ejemplo 24 (10 mg, 0,018 mmol) en metanol (2 ml) en 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 %).

10 RMN-¹H (400 MHz, CD₃OD): 1,21 (3H,s), 1,22 (3H,s), 1,41 (1H, dd, 4 y 13 Hz), 2,18 (1H,m), 2,69 (1H,qui,6,9 Hz), 3,69 (1H, d, 12 Hz), 3,76 (1H, d, 12 Hz), 4,0 (2H,m), 4,26 (1H, d, 3,2 Hz), 4,30 (1H, d, 3,2 Hz), 6,30 (1H,s), 8,40 (1H,s).

FAB-MAS(mNBA): 380 (M+H)⁺**Ejemplo 26**

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

15 (ejemplificación del compuesto número 1-35)

20 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) en 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.

25 RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,26 (3H, d, 1,4 Hz), 1,28 (3H, d, 1,4 Hz), 1,66 (1H,m), 2,15 (1H,m), 2,59 (1H,qui,6,9 Hz), 3,65 (1H,m), 3,78 (1H,m), 4,06 (2H,m), 4,35 (1H,m), 4,38 (1H, d, 3,2 Hz), 6,23 (1H,s), 6,8 (4H,m), 7,2-7,5 (9H,m), 8,01 (1H,s), 8,19 (1H,s a).

FAB-MAS(mNBA): 682 (M+H)⁺**Ejemplo 27**

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

(ejemplificación del compuesto número 1-185)

30 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 en 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 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 (4 mg) en forma de un sólido de color blanco.

35 RMN-¹H (400 MHz, 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

(ejemplificación del compuesto número 1-5)

45 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 de color blanco (0,4 mg).

FAB-MAS(mNBA): 310 (M+H)⁺ UV (λ_{max}): 255 (pH7), 256 (pH1), 258-266 (pH13)**Ejemplo 29**

Síntesis de derivado de oligonucleótido

50 Se realizó 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 μ mol) utilizando ácido tricloroacético y el grupo 3'-hidroxi de la timidina unida al vehículo de CGP. El ciclo sintético se muestra a continuación:

- 1) destitilación 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
- 4) oxidación yodo/agua/piridina/tetrahidrofurano; 15 segundos

En el ciclo anterior 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.

Después de la síntesis de la secuencia del derivado de oligonucleótido deseada, se eliminó el grupo 5'-DMTr y después se trató el vehículo que contenía el producto deseado convencionalmente con una solución de amoníaco acuosa concentrada para desatar el oligómero del vehículo 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 Shimadzu Corp.; columna: Wakopak WS-ADN: un producto de Wako Pure Chemical Industry Ltd.) obteniéndose el oligonucleótido deseado.

De acuerdo con este procedimiento sintético se obtuvo la siguiente oligosecuencia de nucleótido (oligonucleótido que se denomina en el presente documento "oligonucleótido 1") (0,23 μ mol, 23 % de rendimiento).

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

Ejemplo de referencia 1

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

Se añadió piridina anhídrica (0,60 ml, 7,5 mmol) a una solución de 3,5-di-O-bencil-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) en 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 fase 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 de color blanco (2520 mg, 4,73 mmol, 95 %) que se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,34 (3H, s), 1,63 (3H, s), 3,48 (1H, d, 10 Hz), 3,53 (1H, d, 10 Hz), 4,21 (1H, d, 5,0 Hz), 4,5 (4H, m), 4,74 (1H, d, 12 Hz), 4,80 (1H, d, 12 Hz), 5,01 (1H, d, 12 Hz), 5,73 (1H, d, 4,6 Hz), 7,3 (10H, m).

Ejemplo de referencia 2

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

Se disolvió el compuesto obtenido en el ejemplo de Referencia 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 fase 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 %).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,34 (3H, s), 1,62 (3H, s), 2,88 (1H, d, 17 Hz), 3,15 (1H, d, 17 Hz), 3,50 (1H, d, 10 Hz), 3,58 (1H, d, 10 Hz), 4,08 (1H, d, 5,1 Hz), 4,52 (1H, d, 12 Hz), 4,56 (1H, d, 12 Hz), 4,57 (1H, m), 4,58 (1H, d, 12 Hz), 4,76 (1H, d, 12 Hz), 5,73 (1H, d, 3,7 Hz), 7,3 (10H, m).

Ejemplo de referencia 3

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

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 de Referencia 2 (610 mg, 1,49 mmol) en diclorometano (10 ml) en 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 fase orgánica con una solución de

hidrógenocarbonato de sodio acuosa 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 de referencia 4

5 3,5-Di-O-bencil-4-hidroxietyl-1,2-O-isopropiliden- α -D-eritropentofuranosa

Se añadió NaBH₄ (7,6 mg, 0,2 mmol) a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo de Referencia 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 fase 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 %).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,33 (3H, s), 1,66 (3H, s), 1,78 (1H, ddd, 4,0, 8,5, 15 Hz), 2,51 (1H, ddd, 3,4, 6,4, 15 Hz), 3,31 (1H, d, 10 Hz), 3,54 (1H, d, 10 Hz), 3,80 (2H, m), 4,13 (1H, d, 5,3 Hz), 4,43 (1H, d, 12 Hz), 4,52 (1H, d, 12 Hz), 4,55 (1H, d, 12 Hz), 4,65 (1H, dd, 4,0, 5,3 Hz), 4,77 (1H, d, 12 Hz), 5,77 (1H, d, 4,0 Hz), 7,3 (10H, m).

15 FABMS (mNBA): 415 (M+H)⁺, [α]_D +57,4° (0,91, metanol).

Ejemplo de referencia 5

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

20 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-bencil-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 fase 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 %).

25 RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,35 (3H, s), 1,60 (3H, s), 3,61 (1H, d, 11 Hz), 3,68 (1H, d, 11 Hz), 4,37 (1H, d, 4,4 Hz), 4,46 (1H, d, 12 Hz), 4,52 (1H, d, 12 Hz), 4,59 (1H, d, 12 Hz), 4,59 (1H, dd, 3,4, 4,4 Hz), 4,71 (1H, d, 12 Hz), 5,84 (1H, d, 3,4 Hz), 7,3 (10H, m), 9,91 (1H, s). FABMS (mNBA): 397 (M-H)⁺, 421 (M+Na)⁺, [α]_D +27,4° (0,51, metanol).

Ejemplo de referencia 6

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

35 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 de Referencia 5 (8310 mg, 20,88 mmol) en tetrahidrofurano anhidrico (300 ml) en 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 ml). 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 fase 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 %).

40 RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,28 (3H, s), 1,52 (3H, s), 3,31 (1H, d, 11 Hz), 3,34 (1H, d, 11 Hz), 4,25 (1H, d, 4,9 Hz), 4,40 (1H, d, 12 Hz), 4,52 (1H, d, 12 Hz), 4,57 (1H, dd, 3,9, 4,9 Hz), 4,59 (1H, d, 12 Hz), 4,76 (1H, d, 12 Hz), 5,25 (1H, dd, 1,8, 11 Hz), 5,52 (1H, dd, 1,8, 18 Hz), 5,76 (1H, d, 3,9 Hz), 6,20 (1H, dd, 11, 18 Hz), 7,3 (10H, m).

45 FABMS (mNBA): 419 (M+Na)⁺.

Ejemplo de referencia 7

3,5-Di-O-bencil-4-hidroxietyl-1,2-O-isopropiliden- α -D-eritropentofuranosa

50 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 de Referencia 6 (5500 mg, 13,89 mmol) en tetrahidrofurano anhidrico (200 ml) en 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 fase 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 anhidrico y después se concentró al vacío. 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 %).

- 5 RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,33 (3H, s), 1,66 (3H, s), 1,78 (1H, ddd, 4,0, 8,5, 15 Hz), 2,51 (1H, ddd, 3,4, 6,4, 15 Hz), 3,31 (1H, d, 10 Hz), 3,54 (1H, d, 10 Hz), 3,80 (2H, m), 4,13 (1H, d, 5,3 Hz), 4,43 (1H, d, 12 Hz), 4,52 (1H, d, 12 Hz), 4,55 (1H, d, 12 Hz), 4,65 (1H, dd, 4,0, 5,3 Hz), 4,77 (1H, d, 12 Hz), 5,77 (1H, d, 4,0 Hz), 7,3 (10H, m).
FABMS (mNBA): 415 (M+H)⁺, [α]_D +57,4° (0,91, metanol).

Ejemplo de referencia 8

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

- 10 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 de Referencia 4 que se sometió a reflujo azeotrópicamente con tolueno (1035 mg, 2,5 mmol) en diclorometano anhidrico (35 ml) en 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 fase 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 anhidrico 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 %).
- 15 RMN-¹H (400 MHz, DCl₃): 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, 15 Hz), 3,28 (1H, d, 10 Hz), 3,45 (1H, d, 10 Hz), 4,11 (1H, d, 5,3 Hz), 4,32 (2H, m), 4,42 (1H, d, 12 Hz), 4,50 (1H, d, 12 Hz), 4,54 (1H, d, 12 Hz), 4,62 (1H, dd, 4,0, 5,2 Hz), 4,76 (1H, d, 12 Hz), 5,74 (1H, d, 4,0 Hz), 7,3 (12H, m), 7,78 (2H, d, 8,3 Hz).
FAB-MAS(mNBA): 569 (M+H)⁺
- 20

Ejemplo de referencia 9

- 25 1,2-Di-O-acetil-3,5-di-O-bencil-4-(p-toluensulfoniloxietil)-α-D-eritropentofuranosa

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 de Referencia 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 fase 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 anhidrico 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).

- 30 RMN-¹H (400 MHz, 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, 10 Hz), 3,33 (1H, d, 10 Hz), 4,23 (1H, d, 5,1 Hz), 4,24 (2H, m), 4,42 (2H, s), 4,45 (1H, d, 12 Hz), 4,55 (1H, d, 12 Hz), 5,28 (1H, d, 5,1 Hz), 6,01 (1H, s), 7,3 (12H, m), 7,73 (2H, d, 8,3 Hz).
FAB-MAS(mNBA): 613 (M+H)⁺
- 35

Ejemplo de referencia 10

- 40 2'-O-Acetil-3',5'-di-O-bencil-4'-p-toluensulfoniloxietil-5-metiluridina

Se añadió timina trimetilsililatada (500 mg, aproximadamente 2 mmol), que se preparó de acuerdo con un procedimiento de H.Vorbruggen, K. Krolkiewicz y B. Bennua (*Chem.Ber.*, 114, 1234-1255 (1981)), a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo de Referencia 9 (650 mg, 1,06 mmol) en 1,2-dicloroetano anhidrico (15 ml) a temperatura ambiente en 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 fase 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 anhidrico 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 %).

- 45 RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,52 (3H, d, 0,9 Hz), 1,94 (1H, dt, 7,5 y 15 Hz), 2,06 (3H, s), 2,23 (1H, dt, 6,0 y 15 Hz), 2,42 (3H, s), 3,38 (1H, d, 10 Hz), 3,67 (1H, d, 10 Hz), 4,17 (2H, m), 4,36 (1H, d, 6,0 Hz), 4,41 (1H, d, 12 Hz), 4,44 (1H, d, 12 Hz), 4,48 (1H, d, 12 Hz), 4,58 (1H, d, 12 Hz), 5,39 (1H, dd, 5,1 y 6,0 Hz), 6,04 (1H, d, 5,1 Hz), 7,3 (12H, m), 7,73 (2H, dt, 1,8 y 8,3 Hz), 8,18 (1H, s).
FAB-MAS(mNBA): 679 (M+H)⁺
- 50
- 55

Ejemplo de referencia 11

2'-O-Acetil-3',5'-di-O-bencil-4'-p-toluensulfoniloxietil-4-N-benzoilcitosina

Se añadió benzoilcitosina trimetilsililada (300 mg, aproximadamente 1,0 mmol), que se había preparado de acuerdo con un procedimiento de H.Vorbrggen, K. Krolikiewicz y B. Bennua (*Chem. Ber.*, 114, 1234-1255 (1981)), a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo de Referencia 9 (383 mg, 0,626 mmol) en 1,2-dicloroetano anhídrico (4 ml). Se añadió trifluorometansulfonato 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 fase 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 %).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 8,70 (1H, a), 8,18 (1H, d, 7,4 Hz), 7,87 (2H, d, 7,5 Hz), 7,72 (2H, d, 8,3 Hz), 7,61-7,57 (1H, m), 7,51-7,48 (2H, m), 7,43-7,21 (13H,m), 6,02 (1H, d, 2,9 Hz), 5,40 (1H, dd, 5,8, 2,9 Hz), 4,57 (1H, d, 11 Hz), 4,39 (1H, d, 11 Hz), 4,32-4,28 (3H, m), 4,19-4,16 (2H,m), 3,69 (1H, d,11 Hz), 3,31 (1H, d, 11 Hz), 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 de referencia 12

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

Se añadió benzoiladenosina trimetilsililada (500 mg, aproximadamente 2,0 mmol), que se preparó de acuerdo con un procedimiento de H.Vorbrggen, K. Krolikiewicz y B. Bennua (*Chem.Ber.*, 114, 1234-1255 (1981)), a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo de Referencia 9 (600 mg, 0,98 mmol) en 1,2-dicloroetano anhídrico (15 ml) a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. Después de la adición gota a gota de trifluorometansulfonato 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 fase orgánica con una solución de hidrógenocarbonato 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 %).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 2,0 (1H, m), 2,06 (3H, s), 2,32 (1H, dt, 6,0 y 15 Hz), 2,40 (3H, s), 3,36 (1H, d, 10 Hz), 3,58 (1H, d, 10 Hz), 4,22 (2H, m), 4,39 (1H, d, 12 Hz), 4,45 (1H, d, 12 Hz), 4,47 (1H, d, 12 Hz), 4,59 (1H, d, 12 Hz), 4,62 (1H, d, 5,6 Hz), 5,94 (1H, dd, 4,5 y 5,6 Hz), 6,21 (1H, d, 4,5 Hz), 7,2-7,3 (12H, m), 7,54 (2H, m), 7,62 (1H, dt, 1,2 y 6,2 Hz), 7,72 (2H, d, 8,3 Hz), 8,02 (2H, m), 8,21 (1H, s), 8,75 (1H, s), 8,97 (1H, s a).

FAB-MAS(mNBA): 792 (M+H)⁺

Ejemplo de referencia 13

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

Se añadió uracilo trimetilsililado (200 mg, aproximadamente 0,8 mmol), que se preparó de acuerdo con un procedimiento de H.Vorbrggen, K. Krolikiewicz y B. Bennua (*Chem.Ber.*, 114, 1234-1255 (1981)), a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo de Referencia 9 (200 mg, 0,327 mmol) en 1,2-dicloroetano anhídrico (8 ml) a temperatura ambiente en 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 fase 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 %).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,94 (1H, dt, 7,4 y 15 Hz), 2,07 (3H,s), 2,23 (1H, dt, 5,9 y 15 Hz), 2,43 (3H,s), 3,36 (1H, d, 10 Hz), 3,65 (1H, d, 10 Hz), 4,17 (2H, dd, 6 y 7 Hz), 4,31 (1H, d, 5,9 Hz), 4,38 (1H, d, 11 Hz), 4,39 (1H, d, 11 Hz), 4,40 (1H, d, 11 Hz), 4,58 (1H, d, 11 Hz), 5,29 (1H, dd, 2,4 y 8,2 Hz),5,33 (1H, dd, 4,5 y 6 Hz), 6,00 (1H, d, 4,5 Hz), 7,2-7,4 (12H,m),7,61 (1H, d, 8,2 Hz), 7,74 (1H, d, 8,3 Hz), 8,14 (1H,s a).

FAB-MAS(mNBA): 665 (M+H)⁺

Ejemplo de referencia 14

2'-O-Acetil-3',5'-di-O-bencil-4'-p-toluensulfoniloxietil-4-N-benzoil-5-metilcitosina

Se añadió benzoil-5-metilcitosina trimetilsililada (400 mg, aproximadamente 1,2 mmol), que se había preparado de acuerdo con un procedimiento de H.Vorbrggen, K. Krolikiewicz y B. Bennua (*Chem.Ber.*, 114, 1234-1255 (1981)) a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo de Referencia 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 acuosa 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 fase orgánica del filtrado con una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y se secó sobre sulfato de magnesio anhidrico y después se concentró al vacío obteniéndose un sólido amorfo incoloro (320 mg, 0,409 mmol, 63 %).

5 RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,68 (3H,s), 1,95 (1H, dt, 7,3 y 15 Hz), 2,07 (3H,s), 2,25 (1H, dt, 6 y 15 Hz), 2,43 (3H,s), 3,40 (1H, d, 10 Hz), 3,71 (1H, d, 10 Hz), 4,18 (2H,m), 4,37 (1H, d, 5,8 Hz), 4,42 (1H, d, 12 Hz), 4,46 (1H, d, 12 Hz), 4,51 (1H, d, 12 Hz), 4,61 (1H, d, 12 Hz), 5,42 (1H, dd, 4,9 y 5,8 Hz), 6,07 (1H, d, 4,9 Hz), 7,2-7,6 (17H,m), 7,74 (2H, d, 8,3 Hz), 8,28 (2H, d, 7,0 Hz).

10 FAB-MAS(mNBA): 782 (M+H)⁺

Ejemplo de referencia 15

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

Se añadió isobutirilguanosina trimetilsililada (650 mg, aproximadamente 1,5 mmol), que se había preparado de acuerdo con un procedimiento de H.Vorbruggen, K. Krolkiewicz y B. Bennua (*Chem.Ber.*, 114, 1234-1255 (1981)), a una solución del compuesto obtenido en el ejemplo de Referencia 9 (400 mg, 0,65 mmol) en 1,2-dicloroetano anhidrico (10 ml) a temperatura ambiente en 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 acuosa saturado (aproximadamente 5 ml) a la mezcla de reacción y se lavó la fase orgánica con una solución de hidrógenocarbonato de sodio acuosa saturado y una solución acuosa de cloruro de sodio saturada y 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.

15

20

(Ejemplo de ensayo 1)

(Ensayo de medición de Tf)

Se calentó una solución de muestra (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 (denominado en lo sucesivo en el presente documento oligonucleótido (2)), que tiene una secuencia indicada mediante su cadena complementaria (secuencia:5'-agcaaaaaacgc-3' (secuencia N.º 1 de la lista de secuencia) o ARN complementario (denominado en lo sucesivo en el presente documento oligonucleótido (3)) que tiene una secuencia indicada mediante la secuencia 5'-agcaaaaaacgc-3' (Secuencia N.º 1 de la lista de Secuencia), en un baño de agua hirviendo y lentamente se enfrió hasta temperatura ambiente durante 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 (denominado en lo sucesivo en el presente documento oligonucleótido (4)) que tiene la secuencia indicada mediante la secuencia 5'-gcgtttttgc-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 realizó el mismo procedimiento.

25

30

35

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

40

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

45

[Tabla 3]

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

Como se muestra en la anterior tabla, el análogo de oligonucleótido de la presente invención exhibió una Tf notablemente más alta y también una capacidad de formación de la cadena complementaria notablemente más alta comparado con el ADN de origen natural.

(Ejemplo de ensayo 2)

(Medición de la resistencia enzimática a la nucleasa)

5 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.

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

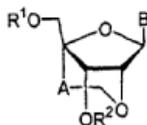
10 **[Aplicabilidad industrial]**

El nuevo análogo de oligonucleótido y análogo de nucleósido de la presente invención son útiles como productos 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 productos intermedios para su producción.

15

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (1):



(1)

en la que:

- 5 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 -P(R³)R⁴ [en la que 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 alcóxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo alquiltio que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo cianoalcóxi 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];
- 10 A es un grupo metileno; 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 seleccionado entre el siguiente grupo α ; o una sal del mismo;
- 15 Grupo α
un grupo hidroxilo,
un grupo hidroxilo protegido,
un grupo alcóxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,
un grupo mercapto,
20 un grupo mercapto protegido,
un grupo alquiltio que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,
un grupo amino,
un grupo amino protegido,
un grupo amino sustituido por un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,
25 un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, y
un átomo de halógeno.
2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo, en el que 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, cuyo anillo de arilo está sustituido por un alquilo inferior, un alcóxi inferior, un grupo halógeno o ciano, o un grupo sililo.
- 30 3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo, en el que R¹ es un átomo de hidrógeno, un grupo acetilo, un grupo benzoílo, un grupo bencilo, un grupo p-metoxibencilo, un grupo dimetoxitritilo, un grupo mono-metoxitritilo o un grupo terc-butildifenilsililo.
- 35 4. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal del mismo, en el que 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 4-metilbencilo, 2,4,6-trimetilbencilo, 3,4,5-trimetilbencilo, 4-metoxi-bencilo, 4-metoxi-fenildifenilmetilo, 4-4'-dimetocitritifenilmetilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, 4-bromobencilo o 4-cianobencilo, un grupo sililo, un grupo fosforamidita, un grupo fosfonilo, un grupo ácido fosfórico o un grupo ácido fosfórico protegido.
- 40 5. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal del mismo, en el que R² es un átomo de hidrógeno, un grupo acetilo, un grupo benzoílo, un grupo bencilo, un grupo p-metoxi-bencilo, un grupo terc-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.
- 45 6. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una sal del mismo, en el que B es un grupo 6-aminopurin-9-ilo (es decir, adeninilo), 6-aminopurin-9-ilo cuyo grupo amino está protegido, 2,6-diaminopurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo cuyo grupo amino está protegido, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo cuyo grupo amino está protegido, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo cuyo grupo amino está protegido, 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo (es decir, guaninilo), 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo cuyo grupo amino está protegido, 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo cuyos grupo amino y grupo hidroxilo 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 cuyo grupo amino está protegido, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-amino-5-
- 50

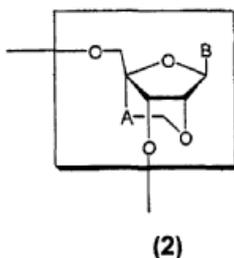
fluoro-pirimidin-1-ilo cuyo grupo amino está protegido, 4-amino-2-oxo-5-cloro-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-metoxi-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-mercapto-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-hidroxi-pirimidin-1-ilo (es decir, uracínilo), 2-oxo-4-hidroxi-S-metilpirimidin-1-ilo (es decir, timínilo), 4-amino-5-metil-2-oxo-pirimidin-1-ilo (es decir, metilcitosínilo) o grupo 4-amino-5-metil-2-oxo-pirimidin-1-ilo cuyo grupo amino está protegido.

5 7. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una sal del mismo, en el que B es un grupo 6-benzoilaminopurin-9-ilo, adenínilo, 2-isobutirilamino-6-hidroxipurin-9-ilo, guanínilo, 2-oxo-4-benzoilamino-pirimidin-1-ilo, citosínilo, 2-oxo-5-metil-4-benzoilamino-pirimidin-1-ilo, 5-metilcitosínilo, uracínilo o timínilo.

8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo seleccionado entre el siguiente grupo:

- 10 2'-O,4'-C-etilenguanosina,
2'-O,4'-C-etilenadenosina,
3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina,
3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilen-2-N-isobutirilguanosina,
5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-6-N-benzoiladenosina,
15 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,
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,
20 2'-O,4'-C-etilenuridina,
2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina,
2'-O,4'-C-etilencitidina,
2'-O,4'-C-etilen-5-metilcitidina,
3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilenuridina,
5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilenuridina,
25 3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina,
5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina,
3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina,
5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina,
3',5'-di-O-bencil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina,
30 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina,
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,
5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-5-metiluridina-3'-O- (2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita,
35 5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoilcitidina-3'-O- (2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita, y
5'-O-dimetoxitritil-2'-O,4'-C-etilen-4-N-benzoil-5-metilcitidina-3'-O- (2-cianoetil N,N-diisopropilo)fosforamidita.

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



en la que:

40 A es un grupo metileno; 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 seleccionado entre el siguiente grupo α ;
o una sal farmacológicamente aceptable del mismo;
grupo α

45 un grupo hidroxilo,
un grupo hidroxilo protegido,
un grupo alcóxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,
un grupo mercapto,
un grupo mercapto protegido,
50 un grupo alquiltio que tiene de 1 a 4 átomos de carbono,

un grupo amino,
 un grupo amino protegido,
 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
 un átomo de halógeno.

- 5
10. El análogo de oligonucleótido de acuerdo con la reivindicación 9 o una sal farmacológicamente aceptable del mismo, en el que B es un grupo 6-aminopurin-9-ilo (es decir, adeninilo), 6-aminopurin-9-ilo cuyo grupo amino está protegido, 2,6-diamino-purin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo cuyo grupo amino está protegido, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo cuyo grupo amino está protegido, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo cuyo grupo amino está protegido, 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo (es decir, guaninilo), 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo cuyo grupo amino está protegido, 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo cuyos grupo amino y grupo hidroxilo 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-mercaptipurin-9-ilo, 2-oxo-4-amino-pirimidin-1-ilo (es decir, citosinilo), 2-oxo-4-amino-pirimidin-1-ilo cuyo grupo amino está protegido, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-pirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-pirimidin-1-ilo cuyo grupo amino 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 cuyo grupo amino está protegido.
- 10
- 15
11. El análogo de oligonucleótido de acuerdo con la reivindicación 9 o una sal farmacológicamente aceptable del mismo, en el 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.
- 20
12. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva de un compuesto activo farmacológicamente junto con un vehículo o diluyente del mismo, en el que dicho compuesto activo farmacológicamente es un análogo de oligonucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11 o una sal farmacológicamente aceptable del mismo.
- 25
13. Una sonda para un gen que comprende un análogo de oligonucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11.
- 30
14. Un iniciador para empezar la amplificación que comprende un análogo de oligonucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11.
15. El uso de un análogo de oligonucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11 o una sal farmacológicamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de enfermedades prevenibles o tratables mediante la capacidad de dicho análogo de oligonucleótido para exhibir actividad antisentido útil farmacológicamente en el cuerpo del paciente después de su administración.
- 35
16. El uso de un análogo de oligonucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11 o una sal farmacológicamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de enfermedades prevenibles o tratables mediante la capacidad de dicho análogo de oligonucleótido para exhibir actividad antigénica útil farmacológicamente en el cuerpo del paciente después de su administración.
- 40
17. Un análogo de oligonucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11 o una sal farmacológicamente aceptable del mismo para su uso como medicamento.