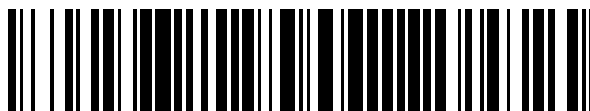


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 382 807**

51 Int. Cl.:
C07H 19/04 (2006.01)
C07H 21/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04772134 .5**
96 Fecha de presentación: **25.08.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1661905**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **31.05.2006**

54 Título: **Nuevos ácidos nucleicos artificiales del tipo de enlace N-O con reticulación**

30 Prioridad:
28.08.2003 JP 2003304847

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
13.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
13.06.2012

73 Titular/es:
IMANISHI, TAKESHI
2-18, CHIYOGAOKA 2-CHOME
NARA-SHI, NARA 631-0045, JP

72 Inventor/es:
IMANISHI, Takeshi;
OBIKA, Satoshi y
MIYASHITA, Kazuyuki

74 Agente/Representante:
de Elizaburu Márquez, Alberto

ES 2 382 807 T3

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

DESCRIPCIÓN

Nuevos ácidos nucleicos artificiales del tipo de enlace N-O con reticulación.

Campo técnico.

5 Esta invención se refiere a análogos de oligonucleótidos, que tienen una actividad antisentido o antigénica estable excelente, o tienen excelentes actividades como reactivos para la detección de genes particulares, o como cebadores para la iniciación de la amplificación (multiplicación), o que son útiles como materiales para diversas sustancias fisiológicas y bioactivas y productos farmacéuticos, materiales funcionales para los oligonucleótidos bicatenarios para el método de interferencia de RNA (RNAi o siRNA) o el método del señuelo, materiales funcionales para los chips de DNA o balizas moleculares que se dirigen a ácidos nucleicos monocatenarios tales como cDNA, materiales
10 funcionales para aplicaciones a diversos métodos antisentido (incluyendo ribozimas y DNAzimas), el método antigénico, y recombinación homóloga genética, y materiales para el análisis de alta sensibilidad de componentes biológicos traza por combinaciones con sustancias fluorescentes o luminiscentes. La invención también se refiere a análogos de nucleósidos que son productos intermedios para la producción de los análogos de oligonucleótidos.

Técnica de base.

15 En 1978 se publicó por primera vez que un oligonucleótido antisentido (molécula antisentido) inhibía la infección por el virus de la influenza. Siguieron publicaciones que indicaban que los oligonucleótidos antisentido también inhibían la expresión de oncogenes y la infección de SIDA. Dado que los oligonucleótidos antisentido controlan específicamente la expresión de genes adversos, estos son uno de los campos que han sido más esperados en los últimos años.

20 El método antisentido se basa en el concepto de que el flujo de información en el llamado dogma central, es decir, DNA → ARNm → proteína, se controla usando un oligonucleótido antisentido.

Sin embargo, si un oligonucleótido de DNA o RNA natural se aplicaba como molécula antisentido a este método, surgía el problema de que era hidrolizado por una enzima in vivo, o de que la permeación de su membrana celular no era elevada. Para resolver tales problemas, se han sintetizado y estudiado detalladamente numerosos derivados
25 de ácidos nucleicos. Por ejemplo, se han sintetizado fosforotioatos que tienen un átomo de oxígeno en el átomo de fósforo sustituido con un átomo de azufre, y fosfonatos de metilo que tienen como sustituyente un grupo metilo. Recientemente, se han sintetizado productos que tienen el átomo de fósforo también sustituido por un átomo de carbono, o moléculas que tienen una ribosa convertida en una forma de esqueleto acíclico (F. Eckstein et al, Biochem, 18, 592 (1979); P. S. Miller et al., Nucleic Acids Res., 11, 5189 (1983); P. Herdewijn et al, J. Chem. Soc. Perkin Trans 1, 1567 (1993); P. E. Nielsen et al, Science, 254, 1497 (1991)); C. A. Stein y A. M. Krieg (ed) "Applied Antisense Oligonucleotide Technology", Willy-Liss (1998), y J. J. Toulme et al, Prog. Nucl. Acid Rev. Mol. Biol., 67, 1 (2001)). Biol., 67, 1 (2001)). EP1152009 (Alkylene Bridged Nucleosides).

30 Sin embargo, ninguno de los oligonucleótidos artificiales han obtenido nucleósidos y análogos de oligonucleótidos totalmente satisfactorios en términos de una capacidad de formación de dúplex o doble hélice con RNA y DNA monocatenarios, una capacidad de formación de triplex o triple hélice con DNA bicatenario, estabilidad in vivo, o facilidad de síntesis de oligonucleótidos.
35

Descripción de la invención.

Problemas que ha de resolver la invención.

40 A la luz de las tecnologías convencionales descritas antes, se desea proporcionar un análogo de nucleótido que atraviese en gran medida la membrana celular in vivo, que experimente una hidrólisis por enzimas mínima, que sea fácil de sintetizar, y que sea útil para el método antisentido, el método antigénico, el método de interferencia de RNA, el método de recombinación genética homóloga, y el método del señuelo.

Medios para resolver los problemas.

45 Los autores de la presente invención diseñaron un análogo de ácido nucleico que tiene modificada la parte de azúcar de un ácido nucleico (es decir, un ácido nucleico artificial), que puede ser útil como material para diversas sustancias fisiológicas y bioactivas y productos farmacéuticos, un material funcional para oligonucleótidos bicatenarios para el método de interferencia de RNA (Nature, vol. 411, 494 - 498, 2001) o el método del señuelo, un material funcional para chips de DNA o balizas moleculares dirigidas a ácidos nucleicos monocatenarios tales como cDNA, un material funcional para aplicaciones a diversos métodos antisentido (incluyendo ribozimas y DNAzimas), el método antigénico, y el método de recombinación genética homóloga, y un material para el análisis de alta sensibilidad de los componentes biológicos traza mediante combinaciones con sustancias fluorescentes o luminiscentes. Los inventores sintetizaron el análogo de ácido nucleico y confirmaron su utilidad.
50

Como se describirá en detalle mediante los Ejemplos y los Ejemplos experimentales que se ofrecerán más adelante, se confirmó que un análogo de oligonucleótido de DNA o RNA (II) que contiene una unidad 2',4'-BNA^{NC} de ácido

nucleico artificial [en la fórmula general (I), R_1 y R_2 son cada uno de ellos hidrógeno, y R_3 es hidrógeno o un grupo metilo], que es un aspecto de la presente invención, tiene las siguientes excelentes características:

(1) Tiene una capacidad muy alta de formación de doble hélice con una cadena de RNA complementaria.

Siempre que una unidad 2',4'-BNA^{NC} se introduce en un oligonucleótido de DNA (por modificación), el valor de Tm aumenta en 3 a 6 °C. No obstante, hay un pequeño aumento (mejora) en la capacidad de formación de doble hélice con una cadena de DNA complementaria. En relación con esta característica, se presenta un aumento drástico del valor de Tm (una mejora acusada en la capacidad de formación de doble hélice) en la afinidad de unión para una cadena de RNA complementaria, como en el caso de un oligonucleótido de DNA modificado con 2',4'-BNA. Por otra parte, el oligonucleótido de DNA modificado con 2',4'-BNA muestra una mejora en la capacidad de formación de doble hélice con una cadena de DNA complementaria (tiene el valor de Tm incrementado en 2 a 4 °C por modificación), en comparación con un oligonucleótido de DNA no modificado. En cambio, el oligonucleótido de DNA modificado con 2',4'-BNA^{NC} anteriormente mencionado muestra poca mejora en la afinidad de unión para una cadena de DNA. Así pues, este oligonucleótido de DNA modificado con 2',4'-BNA^{NC} es muy superior en la afinidad de unión selectiva para una cadena de RNA.

(2) El oligonucleótido de DNA modificado con 2', 4'-BNA^{NC} también sobrepasa en la capacidad de formación de triple hélice con una cadena de DNA bicatenaria.

Cuando se introduce una unidad 2',4'-BNA^{NC} en un oligonucleótido de DNA, el valor de Tm se eleva en 7 a 12 °C en la formación de una triple hélice con una cadena de DNA bicatenario. La formación de triple hélice requiere selectividad de secuencia de forma que las secuencias de bases debe estar distinguida estrictamente, y debe efectuarse la unión solamente a una secuencia diana. La diferencia en el valor de Tm del oligonucleótido de DNA modificado con 2',4'-BNA^{NC} con respecto a una secuencia coincidente y una secuencia no coincidente es de 25 °C o superior. Así pues, este oligonucleótido tiene una excelente selectividad de secuencia que sobrepasa la de un oligonucleótido de DNA natural.

(3) La resistencia a la nucleasa es insuperable.

La resistencia a la nucleasa del oligonucleótido modificado con 2',4'-BNA^{NC} es mayor que la del oligonucleótido de DNA natural, pero es mucho más baja que la del S-oligo (oligonucleótido del tipo fosforotioato). El oligonucleótido modificado con 2',4'-BNA^{NC} de la presente invención es superior en resistencia a la nucleasa no sólo a la del oligonucleótido modificado 2', 4'-BNA, sino también a la del S-oligo que ha sido altamente evaluado por su excelente resistencia a la nucleasa. Así pues, el oligonucleótido modificado con 2',4'-BNA^{NC} de la presente invención tiene la característica de resistir potentemente la degradación in vivo.

(4) El enlace N-O contenido en la molécula del ácido nucleico artificial 2',4'-BNA^{NC} de la presente invención puede ser segmentado selectivamente bajo condiciones suaves con el uso de un agente reductor para liberar un grupo NH y un grupo OH. La unión de una molécula funcional diferente, con el grupo NH o el grupo OH como punto de anclaje, hace que sea fácil obtener diversos conjugados, tanto si es antes como después de la preparación del análogo de oligonucleótido. Como grupo funcional diferente son utilizables moléculas de marcaje tales como moléculas fluorescentes, moléculas quimioluminiscentes, y especies moleculares que contienen átomos de radioisótopos, varias moléculas con actividad de incisión de DNA (RNA) y péptidos señal de transferencia intracelular o nuclear.

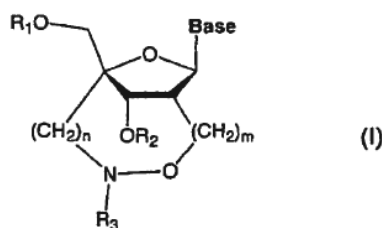
Como se describió anteriormente, los análogos de oligonucleótidos de DNA o RNA de la presente invención que tienen 2', 4'-BNA^{NC} modificado en diversas formas, tienen una utilidad muy alta, no sólo como materiales altamente funcionales para la creación de fármacos genéticos por el método antisentido, el método antigénico, el método del señuelo, el método de recombinación genética homóloga, y el método de interferencia de RNA, sino también como materiales de base para los métodos genéticos de diagnóstico, tales como balizas moleculares y chips de DNA, así como materiales de partida para el desarrollo de reactivos de investigación para el análisis y el esclarecimiento de funciones génicas.

Breve descripción del dibujo.

[Fig. 1] Gráfico que muestra los cambios a lo largo del tiempo en un análogo de oligonucleótido (8) de la presente invención, y análogos de oligonucleótidos naturales y no naturales, cuando son degradados por exonucleasa, como las tasas de supervivencia de los oligonucleótidos no degradados por determinación mediante HPLC.

Realizaciones de la invención.

Los análogos de nucleósidos de la presente invención son un compuesto de la fórmula general (I) que sigue, y una sal del mismo.



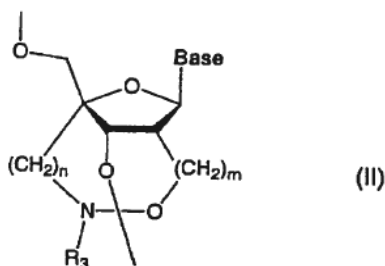
en la que Base representa un grupo heterocíclico aromático o un grupo de anillo de hidrocarburo aromático que tiene opcionalmente un sustituyente,

5 R₁ y R₂ son iguales o diferentes, y representa cada uno de ellos un átomo de hidrógeno, un grupo protector para un grupo hidroxilo para la síntesis de ácido nucleico, un grupo alquilo, un grupo alquenoilo, un grupo cicloalquilo, un grupo arilo, un grupo aralquilo, un grupo acilo, un grupo sulfonilo, un grupo sililo, un grupo fosfato, un grupo fosfato protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, o -P(R₄)R₅ (en donde R₄ y R₅ son iguales o diferentes, y cada uno de ellos representa un grupo hidroxilo, un grupo hidroxilo protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo mercapto, un grupo mercapto protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo amino, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alquiltio que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo cianoalcoxi tiene de 1 a 6 átomos de carbono, o un grupo amino sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono,

R₃ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquenoilo, un grupo cicloalquilo, un grupo arilo, un grupo aralquilo, un grupo acilo, un grupo sulfonilo, o un sustituyente de unidad de molécula funcional, y

15 m indica un número entero de 0 a 2, y n indica un número entero de 1 a 3.

El análogo de oligonucleótido de la presente invención es un análogo de oligonucleótido de DNA o de oligonucleótido de RNA que contiene una o dos o más de uno cualquiera o más tipos de estructuras unidad de los análogos de nucleósido representados por la fórmula general (II) que sigue, o una sal farmacológicamente aceptable del análogo de oligonucleótido, siempre y cuando si están contenidos dos o más de uno o más tipos de estas estructuras, los grupos Base pueden ser idénticos o diferentes entre estas estructuras, y de que el enlace entre los correspondientes nucleósidos en el análogo de oligonucleótido puede contener uno o dos o más enlaces fosforiato [-OP(O)(S)O-] aparte de un enlace fosfodiéster [-OP(O₂)O-] idéntico al de un ácido nucleico natural,



en donde Base, R₁, R₂, R₃, m, y n son como se definieron anteriormente.

25 En las fórmulas generales (I) y (II), el grupo heterocíclico aromático como Base se refiere a cualquier grupo de anillo de 5 miembros a 20 miembros que posee una estructura que tiene el átomo de carbono, como átomo constituyente de un anillo de hidrocarburo, sustituido con uno o más heteroátomos tales como átomos de nitrógeno, átomos de azufre o átomos de oxígeno, y que muestra aromaticidad, e incluye un anillo único o un anillo condensado. Sus ejemplos concretos son bases de ácido nucleico de pirimidina o purina, y bases de ácido nucleico de pirimidina o purina que tienen opcionalmente uno o más sustituyentes elegidos entre un grupo α que se describirá más adelante. Las bases de ácidos nucleicos de pirimidina o purina incluyen bases conocidas generalmente como elementos constituyentes de los ácidos nucleicos (por ejemplo, guanina, adenina, citosina, timina, uracilo), y todas las demás estructuras químicas que son similares a ellos, y que puede actuar como las bases que constituyen los ácidos nucleicos, o puede utilizarse en lugar de ellas. También están incluidos otros compuestos tales como tiofeno, tiantreno, furano, pirano, isobenzofurano, cromeno, xanteno, fenoxatina, pirrol, imidazol, pirazol, isotiazol, isoxazol, piridazina, indolizina, indol, isoindol, isoquinoleína, quinoleína, naftiridina, quinoxalina, quinazolina, pteridina, carbazol, fenantridina, acridina, perimidina, fenazina, fenarsazina, fenotiazina, furazano, fenoxazina, pirrolidina, pirrolina, imidazolidina, imidazolina, y pirazolidina. Son ejemplos preferidos las bases de ácido nucleico de pirimidina (pirimidínicas) o de purina (purínicas), y bases de ácido nucleico de pirimidina o purina que tienen opcionalmente uno o más sustituyentes elegidos entre el grupo α que se describirá a continuación. Concretamente, se prefiere un grupo purin-9-ilo, un grupo 2-oxopirimidin-1-ilo, o un grupo purin-9-ilo o un grupo 2-oxopirimidin-1-ilo tiene un sustituyente elegido entre el grupo α que sigue.

Grupo α : un grupo hidroxilo, un grupo hidroxilo protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo mercapto, un grupo mercapto protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo alquiltio que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo amino sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, y un átomo de halógeno. Un grupo preferido como "la base de ácido nucleico de purina que tiene opcionalmente el sustituyente" es un grupo 6-aminopurin-9-ilo (es decir adeninilo), un grupo 6-aminopurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 2,6-diaminopurin-9-ilo, un grupo 2-amino-6-cloropurin-9-ilo, un grupo 2-amino-6-cloropurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis del ácido nucleico, un grupo 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo, un grupo 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis del ácido nucleico, un grupo 2-amino-6-bromopurin-9-ilo, un grupo 2-amino-6-bromopurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis del ácido nucleico, un grupo 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo (es decir, guaninilo), un grupo 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis del ácido nucleico, un grupo 6-amino-2-metoxipurin-9-ilo, un grupo 6-amino-2-cloropurin-9-ilo, un grupo 6-amino-2-fluoropurin-9-ilo, un grupo 2,6-dimetoxipurin-9-ilo, un grupo 2,6-dicloroprolin-2-ilo, o un grupo 6-mercaptipurin-9-ilo. Es más preferido un grupo 6-benzoilaminopurin-9-ilo, un grupo adeninilo, un grupo 2-isobutirilamino-6-hidroxipurin-9-ilo, o un grupo guaninilo.

Un grupo preferido como "la base de ácido nucleico de pirimidina que tiene opcionalmente el sustituyente" es un grupo 2-oxo-4-amino-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, citosinilo), un grupo 2-oxo-4-amino-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 2-oxo-4-amino-5-fluoro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, un grupo 2-oxo-4-amino-5-fluoro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 4-amino-2-oxo-5-cloro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, un grupo 2-oxo-4-metoxi-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, un grupo 2-oxo-4-mercapto-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, un grupo 2-oxo-4-hidroxi-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, uracililo), un grupo 2-oxo-4-hidroxi-5-metil-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, timinilo), o un grupo 4-amino-5-metil-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, 5-metilcitosinilo). Más preferido es un grupo 2-oxo-4-benzoilamino-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, un grupo citosinilo, un grupo timinilo, un grupo uracililo, un grupo 2-oxo-4-benzoilamino-5-metil-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, o un grupo 5-metilcitosinilo.

Son más preferidas entre "las bases de ácido nucleico de purina o pirimidina que tienen opcionalmente el sustituyente" el grupo el 6-aminopurin-9-ilo (es decir adeninilo), 6-aminopurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, el grupo 2,6-diaminopurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo (es decir, guaninilo), 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 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-2-ilo, 6-mercaptipurin-9-ilo, 2-oxo-4-amino-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, citosinilo), 2-oxo-4-amino-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 4-amino-2-oxo-5-cloro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-metoxi-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-mercapto-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-hidroxi-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, uracililo), 2-oxo-4-hidroxi-5-metil-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, timinilo), 4-amino-5-metil-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, 5-metilcitosinilo), o 4-amino-5-metil-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico.

En las fórmulas generales (I) y (II), el grupo de anillo hidrocarburo aromático como Base se refiere a un sustituyente monovalente formado eliminando un átomo de hidrógeno de un anillo de hidrocarburo que tiene de 6 a 20 átomos de carbono y que muestra aromaticidad, e incluye un anillo simple o un anillo condensado. Son ejemplos concretos el fenilo, indenilo, naftilo, pentalenilo, azulenilo, heptalenilo, bifenilenilo, indacenilo, fluorenilo, fenantrilo, y antrilo. Cualquiera otra estructura que pueda ser utilizada alternativamente como la porción de base del componente de ácido nucleico para los fines de la presente invención, está también incluida en los ejemplos. Además, el anillo de hidrocarburo aromático puede estar sustituido con uno o más grupos, tales como un grupo hidroxilo, un grupo hidroxilo protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo amino, un grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior, un grupo alcoxi, un grupo carboxilo, un grupo ariloxi, un grupo nitro, un grupo trifluorometilo, y un grupo fenilo. Son ejemplos de tal grupo hidrocarburo aromático opcionalmente sustituido el 4-hidroxifenilo, 2-hidroxifenilo, 4 aminofenilo, 2 aminofenilo, 2-metilfenilo, 2,6-dimetilfenilo, 2-clorofenilo, 4-clorofenilo, 2,4 diclorofenilo, 2,5-diclorofenilo, 2-bromofenilo, 4-metoxifenilo, 4-cloro-2-nitrofenilo, 4 nitrofenilo, 2,4-dinitrofenilo y bifenilo. Ejemplos preferidos del grupo de anillo de hidrocarburo aromático opcionalmente sustituido son un grupo fenilo, y un grupo fenilo sustituido con un grupo hidroxilo, un grupo hidroxilo protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo amino, un grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo alcoxi inferior, o un grupo nitro.

En la fórmula general (I) o (II), el "grupo protector para un grupo hidroxilo para la síntesis de ácido nucleico" como R₁ y R₂, y el grupo protector en el grupo "hidroxilo protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico" como R₄ y R₅ y en el grupo α, no están limitados siempre y cuando puedan proteger el grupo hidroxilo de manera estable durante la síntesis de ácido nucleico. Concretamente, se refieren a grupos protectores que son estables bajo condiciones ácidas o neutras, y que pueden ser segmentados por un método químico tal como hidrogenólisis, hidrólisis, electrolisis o fotólisis.

Ejemplos de tales grupos protectores son los "grupos acilo alifáticos", por ejemplo, grupos alquilcarbonilo, tales como 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, eicosanoil, y heneicosanoil, grupos alquilcarbonilo carboxilados tales como succinoilo, glutaroilo y adipilo, grupos halogenados alquilcarbonilo inferior tales como cloroacetilo, dicloroacetilo, tricloroacetilo y trifluoroacetilo, grupos alcoxi inferior alquilcarbonilo inferior tales como metoxiacetilo, y grupos alquilcarbonilo insaturado tales como (E)-2-metil-2-butenilo; "grupos alquilo inferior", tales 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; "grupos alqueno inferior" tales como etenilo, 1-propenilo, 2-propenilo, 1-metil-2-propenilo, 1-metil-1-propenilo, 2-metil-1-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; "grupos acilo aromáticos", por ejemplo, grupos arilcarbonilo tales como benzoilo, α-naftoilo, y β-naftoilo, grupos halogenoarilcarbonilo tales como 2-bromobenzoilo y 4 clorobenzoilo, grupos arilcarbonilo alquilados con alquilo inferior tales como 2,4,6-trimetilbenzoilo y 4 toluoilo, grupos arilcarbonilo alcoxilados con alcoxi inferior tales como 4-anisoilo, grupos arilcarbonilo carboxilados tales como 2-carboxibenzoilo, 3-carboxibenzoilo, y 4-carboxibenzoilo, grupos arilcarbonilo nitrado tales como 4-nitrobenzoilo y 2 nitrobenzoilo, grupos arilcarbonilo alcoxi inferior carbonilados tales como 2-(metoxicarbonil) benzoilo, y grupos arilcarbonilo arilados tales como 4-fenilbenzoilo; "grupos tetrahidropirano o tetrahidrotiopirano" tales como tetrahidropiran-2-ilo, 3-bromotetrahidropiran-2-ilo, 4-metoxitetrahidropiran-4-ilo, tetrahidrotiopiran-4-ilo, y 4-metoxitetrahidrotiopiran-4-ilo; "grupos tetrahidrofuranilo o tetrahidrotiofuranilo" tales como tetrahidrofuran-2-ilo y tetrahidrotiofuran-2-ilo; "grupos sililo", por ejemplo, grupos alquilo inferior sililo tales como trimetilsililo, trietilsililo, isopropildimetilsililo, t-butildimetilsililo, metildiisopropilsililo, metildi-t-butilsililo, y triisopropilsililo, grupos alquilo inferior sililo sustituido con uno o dos grupos arilo, tales como difenilmetsililo, difenilbutilsililo, difenilisopropilsililo, y fenildiisopropilsililo; "grupos alcoxi inferior metilo" tales como metoximetilo, 1,1-dimetil-1-metoximetilo, etoximetilo, propoximetilo, isopropoximetilo, butoximetilo, y terc-butoximetilo; "grupos alcoxi inferior metilo alcoxilados con alcoxi inferior" tales como 2-metoxietoximetilo; "grupos halógeno alcoxi inferior metilo" tales como 2,2,2-tricloroetoximetilo y bis (2-cloroetoxi) metilo; "grupos etilo alcoxilado con alcoxi inferior" tales como 1-etoxietilo y 1-(isopropoxi) etilo; "grupos etilo halogenado", tales como 2,2,2-tricloroetilo; "grupos metilo sustituido con uno a tres grupos arilo" tales como bencilo, α-naftilmetilo, β-naftilmetilo, difenilmetilo, trifenilmetilo, α-naftildifenilmetilo y 9-antrilmetilo; "grupos metilo sustituido con uno a tres grupos arilo que tienen un anillo arilo sustituido con un alquilo inferior, alcoxi inferior, halógeno, o grupo ciano", tales 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; "grupos alcoxi inferior carbonilo", tales como metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, t-butoxicarbonilo, isobutoxicarbonilo; "grupos arilo sustituidos con un átomo de halógeno, un grupo alcoxi inferior, o un grupo nitro", tales como 4-clorofenilo, 2-fluorofenilo, 4-metoxifenilo, 4-nitrofenilo y 2,4-dinitrofenilo; "grupos alcoxi inferior carbonilo sustituido con halógeno o un grupo alquilo inferior sililo", tal como 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo y 2-trimetilsililetoxicarbonilo; "grupos alquenoiloxycarbonilo" tales como viniloxycarbonilo y ariloxycarbonilo, y "grupos aralquiloiloxycarbonilo que tienen un anillo arilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos alcoxi inferior o nitro", tales como benciloxycarbonilo, 4-metoxibenciloxycarbonilo, 3,4-dimetoxibenciloxycarbonilo, 2-nitrobenciloxycarbonilo, y 4-nitrobenciloxycarbonilo.

El "grupo protector para un grupo hidroxilo para la síntesis de ácido nucleico", como R₁ y R₂, es preferentemente el "grupo acilo alifático", el "grupo acilo aromático", el "grupo metilo sustituido con uno a tres grupos arilo", el "grupo metilo sustituido con uno a tres grupos arilo que tiene un anillo arilo sustituido con un grupo alquilo inferior, alcoxi inferior, halógeno, o 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. El grupo protector en el "grupo hidroxilo protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico", como R₄, R₅, R₆ y R₇ y en el grupo α, es preferentemente el "grupo acilo alifático", el "grupo acilo aromático", el "grupo metilo sustituido con uno a tres grupos arilo", el "grupo arilo sustituido con un átomo de halógeno, un grupo alcoxi inferior o un grupo nitro", el "grupo alquilo inferior", o el "grupo alqueno inferior", más preferentemente un grupo benzoilo, un grupo bencilo, un grupo 2-clorofenilo, un grupo 4-clorofenilo, o un grupo 2-propenilo.

En la fórmula general (I) o (II), el "grupo alquilo", como R₁, R₂ y R₃, se refiere a un grupo alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada que tiene de 1 a 20 átomos de carbono, e incluye un grupo alquilo de cadena lineal o de cade-

na ramificada que tiene de 1 a 6 átomos de carbono (un grupo alquilo así puede referirse en el presente texto a 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, o 2-etilbutilo. El grupo alquilo incluye también un grupo alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada que tiene de 7 a 20 átomos de carbono, tal como heptilo, octilo, nonilo o decilo. Se prefiere el mencionado grupo alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada que tiene de 1 a 6 átomos de carbono.

En la fórmula general (I) o (II), el "grupo alqueno", como R_1 , R_2 y R_3 , se refiere a un grupo alqueno de cadena lineal o de cadena ramificada que tiene de 2 a 20 átomos de carbono, e incluye un grupo alqueno de cadena lineal o de cadena ramificada que tiene de 2 a 6 átomos de carbono (tal grupo alqueno puede referirse en el presente texto a 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. El grupo alqueno incluye también geranilo y farnesilo, y es preferentemente el anteriormente mencionado grupo alqueno o de cadena lineal o de cadena ramificada que tiene de 2 a 6 átomos de carbono.

En la fórmula general (I) o (II), el "grupo cicloalquilo", como R_1 , R_2 y R_3 , se refiere a un grupo cicloalquilo que tiene de 3 a 10 átomos de carbono, e incluye, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, norbornilo, y adamantilo. Se prefiere un grupo cicloalquilo que tiene de 3 a 8 átomos de carbono, tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, o ciclooctilo. El "grupo cicloalquilo" incluye también un grupo heterocíclico en el que uno o más grupos metileno en el anillo del grupo cicloalquilo han sido sustituidos con átomos de oxígeno o átomos de azufre, o átomos de nitrógeno sustituido con un grupo alquilo. Un ejemplo de grupo heterocíclico es un grupo tetrahidropirano.

En la fórmula general (I) o (II), el "grupo arilo", como R_1 , R_2 y R_3 , se refiere a un sustituyente monovalente que tiene de 6 a 14 átomos de carbono que permanece después de eliminar un átomo de hidrógeno de un grupo hidrocarburo aromático, e incluye, por ejemplo, fenilo, indenilo, naftilo, fenantrenilo, y antraceno. El grupo arilo puede estar sustituido con uno o más grupos, tales como un átomo de halógeno, un grupo alquilo inferior, un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi, un grupo arilo, un grupo amino, un grupo nitrilo, trifluorometilo, y un grupo fenilo. Ejemplos del grupo arilo opcionalmente sustituido son 2-metilfenilo, 2,6-dimetilfenilo, 2-clorofenilo, 4-clorofenilo, 2,4-diclorofenilo, 2,5-diclorofenilo, 2-bromofenilo, 4-metoxifenilo, 4-cloro-2-nitrofenilo, 4-nitrofenilo, 2,4-dinitrofenilo y bifenilo. Los ejemplos preferidos son un grupo fenilo, y un grupo fenilo sustituido con un átomo de halógeno, un grupo alcoxi inferior, o un grupo nitro.

En la fórmula general (I) o (II), el "grupo aralquilo", como R_1 , R_2 y R_3 , se refiere a un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono que ha sido sustituido con un grupo arilo. Ejemplos del grupo aralquilo son "grupos metilo sustituidos con uno a tres grupos arilo", tal como bencilo, α -naftilmetilo, β -naftilmetilo, indenilmetilo, fenantrenilmetilo, antracencilmetilo, difenilmetilo, trifenilmetilo, α -naftildifenilmetilo, y 9-antrilmetilo, y "grupos metilo sustituidos con uno a tres grupos arilo que tienen un anillo arilo sustituido con un grupo alquilo inferior, alcoxi inferior, halógeno, o ciano", tal como 4-metilbencilo, 2,4,6-trimetilbencilo, 3,4,5-trimetilbencilo, 4-metoxibencilo, 4-metoxifenildifenilmetilo, 4,4'-dimetoxitriphenil metilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, 4-bromobencilo, y 4-cianobencilo. Otros ejemplos incluyen "grupos alquilo que tienen de 3 a 6 átomos de carbono sustituidos con un grupo arilo", tales como 1-fenilo, 2-fenilo, 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-naftilpentilo, 2-naftilpentilo, 3-naftilpentilo, 4-naftilpentilo, 5-naftilpentilo y 6-naftilpentilo. Son ejemplos preferidos los "grupos metilo sustituidos con uno a tres grupos arilo", y los "grupos metilo sustituido con uno a tres grupos arilo que tienen un anillo de arilo sustituido con un grupo alquilo inferior, alcoxi inferior, halógeno, o ciano". Son ejemplos más preferidos el 4-metoxifenildifenilmetilo, y el 4,4'-dimetoxitriphenilmetilo.

Ejemplos del "grupo acril", como R_1 , R_2 y R_3 en la fórmula general (I) o (II), son "grupos acilo alifáticos", por ejemplo, grupos alquilcarbonilo, tales como 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, grupos alquilcarbonilo carboxilados tales como succinoilo, glutarilo, y adipilo, grupos halo alquilo inferior carbonilo tales como cloroacetilo, dicloroacetilo, tricloroacetilo, y trifluoroacetilo, grupos alcoxi inferior alquilo inferior carbonilo, tales como metoxiacetilo, grupos arilo inferior alquilo inferior carbonilo tales como un grupo fenoxiacetilo, y grupos alquilo insaturado carbonilo tales como (E)-2-metil-2-butenilo; y "grupos acilo aromáticos", por ejemplo, grupos arilcarbonilo tales como benzoilo, α -naftoilo y β -naftoilo, y grupos haloarilcarbonilo tales como 2-bromobenzoilo y 4-clorobenzoilo, grupos arilcarbonilo alquilados con alquilo inferior tales como 2,4,6-trimetilbenzoilo y 4-toluóilo, grupos arilcarbonilo alcoxilados con alcoxi inferior tales como 4-anisoilo, grupos arilcarbonilo carboxilado tales como 2-carboxibenzoilo, 3-carboxibenzoilo, y 4-

carboxibenzoílo, grupos arilcarbonilo nitrado tales como 4-nitrobenzoílo y 2 nitrobenzoílo, grupos arilcarbonilo alcoxi inferior carbonilado tales como 2-(metoxicarbonil) benzoílo, y grupos arilcarbonilo arilados tales como 4-fenilbenzoílo. Son ejemplos preferidos los grupos formilo, acetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, pentanoílo, pivaloílo, benzoílo, y fenoxiacetilo.

- 5 Como "grupo sulfonilo", como R_1 , R_2 y R_3 , en la fórmula general (I) o (II), pueden mencionarse los "grupos sulfonilo alifáticos", por ejemplo, grupos sulfonilo sustituidos con un grupo alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada que tienen de 1 a 6 átomos de carbono, tales como metanosulfonilo y etanosulfonilo, y los "grupos sulfonilo aromáticos", por ejemplo, grupos sulfonilo sustituidos con diversos grupos arilo, tales como bencenosulfonilo y p-toluenosulfonilo. Los ejemplos preferidos son metanosulfonilo y p-toluenosulfonilo.
- 10 Como "grupo sililo", como R_1 , R_2 y R_3 , en la fórmula general (I) o (II), pueden mencionarse "grupos trialquilo inferior sililo" tales como trimetilsililo, trietilsililo, isopropildimetilsililo, terc-butildimetilsililo, metildiisopropilsililo, metildi-terc-butilsililo, y triisopropilsililo, "grupos alquilo inferior sililo sustituido con uno o dos grupos arilo", tales como difenilmethylsililo, terc-butildifenilbutilsililo, difenilisopropilsililo, y fenildiisopropilsililo. Son ejemplos preferidos el trimetilsililo, trietilsililo, triisopropilsililo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo. Un ejemplo más preferido es trimetilsililo.
- 15 En la fórmula general (I) o (II), el "grupo protector" en el "grupo fosfato protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico" como R_1 y R_2 no está limitado, siempre y cuando pueda proteger establemente el grupo fosfato durante la síntesis del ácido nucleico. Concretamente, se refiere a un grupo protector que es estable en condiciones ácidas o neutras, y que puede ser segmentado por un método químico tal como hidrogenolisis, hidrólisis, electrólisis, o fotólisis. Son ejemplos de tal grupo protector "grupos 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; "grupos alquilo inferior cianados", tal es como 2-cianoetilo, y 2-ciano-1,1-dimetiletilo; "grupos etilo sustituidos con un grupo sililo", tales como 2-metildifenilsililetilo, 2-trimetilsililetilo, y 2-trifenilsililetilo; "grupos alquilo inferior halogenado", tales como 2,2,2-tricloroetilo, 2,2,2 tribromoetilo, 2,2,2-trifluoroetilo, y 2,2,2-tricloro-1,1-dimetiletilo; "grupos alqueno inferior", tales como etenilo, 1-propenilo, 2-propenilo, 1-metil-2-propenilo, 1-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; "grupos cicloalquilo", tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclohexenilo, ciclohexilo, cicloheptilo, norbornilo, y adamantilo; "grupos alqueno inferior cianados", tales como 2-cianobutenilo; "grupos aralquilo", tales como bencilo, α -naftilmetilo, β -naftilmetilo, indenilmetilo, fenantrenilmetilo, 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-naftilpentilo, 2-naftilpentilo, 3-naftilpentilo, 4-naftilpentilo, 5-naftilpentilo, y 6-naftilpentilo; "grupos aralquilo que tienen un anillo de arilo sustituido con un grupo nitro o un átomo de halógeno", tales como 4-clorobencilo, 2-(4-nitrofenil) etilo, o-nitrobencilo, 4-nitrobencilo, 2,4 dinitrobencilo, y 4-cloro-2-nitrobencilo; "grupos arilo", tales como fenilo, indenilo, naftilo, fenantrenilo, y antraceniilo; y "grupos arilo sustituidos con un grupo alquilo inferior, un átomo de halógeno, o un grupo nitro", tales 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. Son ejemplos preferidos los "grupos alquilo inferior", "grupos alquilo inferior sustituido con un grupo ciano", "grupos aralquilo", "grupos aralquilo que tienen un anillo de arilo sustituido con un grupo nitro o un átomo de halógeno", o "grupos arilo sustituidos con un grupo alquilo inferior, un átomo de halógeno, o un grupo nitro". Un ejemplo más preferido es un grupo 2-cianoetilo, un grupo 2,2,2-tricloroetilo, un grupo bencilo, un grupo 2-clorofenilo, o un grupo 4-clorofenilo.
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45

En la fórmula general (I) o (II), el "sustituyente de unidad de molécula funcional" como R_3 incluye moléculas de marcaje (por ejemplo, moléculas fluorescentes, moléculas quimioluminiscentes, y especies moleculares que contienen átomos de radioisótopos), moléculas con actividad de incisión de DNA o RNA, y péptidos señal de transferencia intracelular o nuclear.

- 50 En la fórmula general (I) o (II), el grupo protector en "el grupo mercapto protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico" como R_4 y R_5 y en el grupo α , no está limitado, siempre y cuando pueda proteger establemente el grupo mercapto durante la síntesis del ácido nucleico. Concretamente, se refiere a un grupo protector que es estable bajo condiciones ácidas o neutras, y que puede ser segmentado por un método químico tal como hidrogenolisis, hidrólisis, electrólisis o fotólisis. Los ejemplos de tal grupo protector son los mencionados anteriormente como grupo protector para el grupo hidroxilo, así como "grupos formadores de disulfuro", por ejemplo, grupos alquiltio tales como metiltio, etiltio, y terc-butiltio y grupos ariltio, tales como benciltio. Los ejemplos preferidos son "grupos acilo alifáticos" o "grupos acilo aromáticos". Son ejemplos más preferidos un grupo benzoílo y un grupo bencilo.
- 55

Ejemplos de "grupo alcoxi que tiene de 1 a 5 átomos de carbono" como R₄ y R₅ y en el grupo α en la fórmula general (I) o (II), son metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, isobutoxi, s-butoxi, terc-butoxi, y n-pentoxi. Un ejemplo preferido es un grupo metoxi o etoxi.

5 Ejemplos de "grupo alquiltio que tiene de 1 a 5 átomos de carbono" como R₄ y R₅ y en el grupo α en la fórmula general (I) o (II) son metiltio, etiltio, propiltio, isopropiltio, butiltio, isobutiltio, s-butiltio, terc-butiltio, pentiltio y n-pentiltio. Un ejemplo preferido es el grupo metiltio o etiltio.

10 Ejemplos de "grupo cianoalcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono" como R₄ y R₅ en la fórmula general (I) o (II) son los anteriores "grupos alcoxi que tienen de 1 a 5 átomos de carbono" que han sido sustituidos con un grupo ciano. Tales grupos son, por ejemplo, cianometoxi, 2-cianoetoxi, 3-cianopropoxi, 4-cianobutoxi, 3-ciano-2-metilpropoxi, y 1-cianometil-1,1-dimetilmetoxi. Un ejemplo preferido es el grupo 2-cianoetoxi.

15 Ejemplos de "grupo amino sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono", como R₄ y R₅ y en el grupo α en la fórmula general (I) o (II), son los grupos metilamino, etilamino, propilamino, isopropilamino, butilamino, isobutilamino, s-butilamino, terc-butilamino, dimetilamino, dietilamino, dipropilamino, diisopropilamino, dibutilamino, diisobutilamino, di (s-butil) amino, y di (terc-butil) amino. Un ejemplo preferido es el grupo metilamino, etilamino, dimetilamino, dietilamino, o diisopropilamino.

Como "grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono" en el grupo α, se puede mencionar, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, s-butilo, terc-butilo, y n-pentilo. Un ejemplo preferido es un grupo metilo o etilo.

20 Como "átomo de halógeno" en el grupo α, se puede mencionar, por ejemplo, un átomo de flúor, un átomo de cloro, un átomo de bromo y un átomo de yodo. Un ejemplo preferido es un átomo de flúor o un átomo de cloro.

El "grupo fosforoamidita" se refiere a un grupo de fórmula -P (OR_{1a}) (NR_{1b}) (en la que R_{1a} representa un grupo alquilo que tiene 1 o más átomos de carbono o un grupo cianoalquilo que tiene de 1 a 7 átomos de carbono, y R_{1b} representa un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono). Un ejemplo preferido es un grupo de fórmula -P (OC₂H₄CN) (N (i-Pr)₂) o un grupo de la fórmula -P (OCH₃) (N (i-Pr)₂).

25 El grupo protector en el "grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico" en el grupo α no está limitado, siempre y cuando pueda proteger establemente el grupo amino durante la síntesis del ácido nucleico. Concretamente, se refiere a un grupo protector que es estable bajo condiciones ácidas o neutras, y que puede ser segmentado por un método químico tal como hidrogenólisis, hidrólisis, electrólisis o fotólisis. Son ejemplos de tal grupo protector los "grupos acilo alifáticos", por ejemplo, grupos alquilcarbonilo, tales como 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, heneicosanoilo, y grupos alquilcarbonilo carboxilados tales como succinoilo, glutarilo, y adipilo, grupos halo alquilo inferior carbonilo tales como cloroacetilo, dicloroacetilo, tricloroacetilo, y trifluoroacetilo, grupos alcoxi inferior alquilo inferior carbonilo tales como metoxiacetilo, y grupos insaturados tales alquilcarbonilo (E)-2-metil-2-butenoilo; "grupos acilo aromáticos", por ejemplo, grupos arilcarbonilo tales como benzoilo, α-naftoilo, y β-naftoilo, grupos halogenoarilcarbonilo tales como 2-bromobenzoilo y 4 clorobenzoilo, grupos arilcarbonilo alquilados con alquilo inferior tales como 2,4,6-trimetilbenzoilo y 4 toluoilo, grupos arilcarbonilo alcoxilados con alcoxi inferior tales como 4-anisoilo, grupos arilcarbonilo carboxilados tales como 2-carboxibenzoilo, 3-carboxibenzoilo, y 4-carboxibenzoilo, grupos arilcarbonilo nitrados tales como 4-nitrobenzoilo y 2-nitrobenzoilo, grupos arilcarbonilo (alcoxi inferior)carbonilados tales como 2-(metoxicarbonil) benzoilo, y grupos arilcarbonilo arilados tales como 4-fenilbenzoilo; "grupos alcoxi inferior carbonilo" tales como metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, t-butoxicarbonilo, isobutoxicarbonilo y "grupos alcoxi inferior carbonilo sustituidos con halógeno o un grupo alquilo inferior", tal como 2,2,2-tricloro y 2 trimetilsililetoxicarbonilo; "grupos alquinoxilcarbonilo" tales como viniloxicarbonilo y ariloxicarbonilo; y "grupos aralquinoxilcarbonilo que tienen un anillo arilo opcionalmente sustituido con uno o dos grupos alcoxi inferior o nitro", tales como benciloxicarbonilo, 4-metoxibenciloxicarbonilo, 2-nitrobenciloxicarbonilo, y 4-nitrobenciloxicarbonilo. Un ejemplo preferido es el "grupo acilo alifático" o el "grupo acilo aromático", y un ejemplo más preferido es el grupo benzoilo.

50 El "análogo de nucleósido" se refiere a un tipo no natural de "nucleósido" que consiste en una base de purina o pirimidina y un azúcar unidos entre sí, o un producto que consiste en un anillo heterocíclico aromático o un anillo de hidrocarburo aromático, que es distinto de la purina y la pirimidina y que se puede usar en vez de la base de purina o pirimidina, y un azúcar unidos entre sí.

55 El "análogo de oligonucleótido" se refiere a un derivado de tipo no natural de "oligonucleótido" que comprende de 2 a 50 "nucleósidos" o "análogos de nucleósidos" idénticos o diferentes unidos por enlaces fosfodiéster. Los ejemplos preferidos de tales análogos son derivados de azúcar con la porción de azúcar modificada; derivados tioato formados en la tioación de la porción de fosfodiéster; ésteres formados en la esterificación de la porción de ácido fosfórico

terminal, y amidas formadas en la amidación del grupo amino en la base de purina. Son ejemplos más preferidos los derivados de azúcar con la porción de azúcar modificada.

La "sal del mismo" se refiere a una sal del compuesto (1) de la presente invención, porque el compuesto (1) puede ser convertido en la sal. Los ejemplos de sal preferidos son las sales de metales, por ejemplo, sales de metales alcalinos tales como sal de sodio, sal de potasio, y sal de litio, sales de metales alcalinotérreos tales como sal de calcio y sal de magnesio, sal de aluminio, sal de hierro, sal de zinc, sal de cobre, sal de níquel y sal de cobalto; sales de amina, por ejemplo sales inorgánicas tales como sal de amonio, y sales orgánicas tales como sal de t-octilamina, sal de dibencilamina, sal de morfolina, sal de glucosamina, sal de alquil éster de fenilglicina, sal de etilendiamina, sal de N-metilglucamina, sal de guanidina, sal de dietilamina, sal de trietilamina, sal de dicitclohexilamina, sal de N, N'-dibenciletildiamina, sal de cloroprocaina, sal de procaina, sal de dietanolamina, sal de N-bencil-fenetilamina, sal de piperazina, sal de tetrametilamonio, y sal de tris (hidroximetil) aminometano; sales de ácidos inorgánicos, por ejemplo sales de ácido halogenado como hidrofuro, hidrocloreto, hidrobromuro, e hidroyoduro, nitrato, perclorato, sulfato y fosfato, sales de ácidos orgánicos, por ejemplo, alcanosulfonatos inferiores tales como metanosulfonato, trifluorometanosulfonato, y etanosulfonato, arilsulfonatos, tales como bencenosulfonato y p-toluenosulfonato, acetato, malato, fumarato, succinato, citrato, tartrato, oxalato y maleato; y sales de aminoácidos tales como sal de glicina, sal de lisina, sal de arginina, sal de ornitina, glutamato y aspartato.

La "sal aceptable farmacológicamente del mismo" se refiere a una sal del análogo de oligonucleótido de la presente invención, porque el oligonucleótido puede ser convertido en la sal. Los ejemplos de sal preferidos son sales de metales, por ejemplo sales de metales alcalinos tales como sal de sodio, sal de potasio, y sal de litio, sales de metales alcalinotérreos tales como sal de calcio y sal de magnesio, sal de aluminio, sal de hierro, sal de zinc, sal de cobre, sal de níquel y sal de cobalto; sales de amina, por ejemplo, sales inorgánicas tales como sal de amonio, y sales orgánicas tales como sal de t-octilamina, sal de dibencilamina, sal de morfolina, sal de glucosamina, sal alquil éster de fenilglicina, sal de etilendiamina, N-metilglucamina, sal de guanidina, sal de dietilamina, sal de trietilamina, sal de dicitclohexilamina, sal de N, N'-dibenciletildiamina, sal de cloroprocaina, sal de procaina, sal de dietanolamina, sal de N-bencil-fenetilamina, sal de piperazina, sal de tetrametilamonio, y sal de tris (hidroximetil) aminometano; sales de ácidos inorgánicos, por ejemplo, sales de ácido halogenado como hidrofuro, hidrocloreto, hidrobromuro, e hidroyoduro, nitrato, perclorato, sulfato y fosfato, sales de ácidos orgánicos, por ejemplo, alcanosulfonatos inferiores tales como metanosulfonato, trifluorometanosulfonato, y etanosulfonato, arilsulfonatos, tales como bencenosulfonato y p-toluenosulfonato, acetato, malato, fumarato, succinato, citrato, tartrato, oxalato, y maleato; y sales de aminoácidos tales como sal de glicina, sal de lisina, sal de arginina, sal de ornitina, glutamato y aspartato.

De los compuestos (I) de la presente invención y sus sales, los compuestos preferidos son los siguientes:

(1) Los compuestos y las sales de los mismos, siendo R_1 un átomo de hidrógeno, un grupo acilo alifático, un grupo acilo aromático, un grupo sulfonilo aromático o alifático, un grupo metilo sustituido con uno a tres grupos arilo, un grupo metilo sustituido con uno a tres grupos arilo que tienen un anillo de arilo sustituido con un grupo alquilo inferior, alcoxi inferior, halógeno, o ciano, o un grupo sililo.

(2) Los compuestos y las sales de los mismos, siendo R_1 un átomo de hidrógeno, un grupo acetilo, un grupo benzoilo, un grupo metanosulfonilo, un grupo p-toluenosulfonilo, un grupo bencilo, un grupo p-metoxibencilo, un grupo tritilo, un dimetoxitritilo, un grupo monometoxitritilo, o un grupo terc-butildifenilsililo.

(3) Los compuestos y las sales de los mismos, siendo R_2 un átomo de hidrógeno, un grupo acilo alifático, un grupo acilo aromático, un grupo sulfonilo alifático o aromático, un grupo metilo sustituido con uno a tres grupos arilo, un grupo metilo sustituido con uno a tres grupos arilo que tiene un anillo de arilo sustituido con un grupo alquilo inferior, alcoxi inferior, halógeno o ciano, un grupo sililo, un grupo fósforoamidita, un grupo fosfonilo, un grupo fosfato, o un grupo fosfato protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico.

(4) Los compuestos y sales de los mismos, siendo R_2 un átomo de hidrógeno, un grupo acetilo, un grupo benzoilo, un grupo metanosulfonilo, un grupo p-toluenosulfonilo, un grupo bencilo, un grupo p-metoxibencilo, un grupo terc-butildifenilsililo, $-P(OC_2H_4CN)(N(i-Pr)_2)$, $-P(OCH_3)(N(i-Pr)_2)$, un grupo fosfonilo, o un grupo 2-clorofenil- o 4-clorofenilfosfato.

(5) Los compuestos y sus sales, siendo R_3 un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alqueno que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo arilo que tiene de 6 a 14 átomos de carbono, un grupo metilo sustituido con uno a tres grupos arilo, un grupo sulfonilo alifático inferior o aromático tal como un grupo metanosulfonilo o un grupo p-toluenosulfonilo, un grupo acilo alifático que tiene de 1 a 5 átomos de carbono tal como un grupo acetilo, o un grupo acilo aromático tal como un grupo fenoxiacetilo o un grupo benzoilo, o los compuestos y sales de los mismos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1^a a 6^a, siendo el sustituyente de unidad de molécula funcional como R_3 una molécula de marcaja fluorescente o quimioluminiscente, un grupo funcional con actividad de incisión de ácido nucleico, o un péptido señal de transferencia intracelular o nuclear.

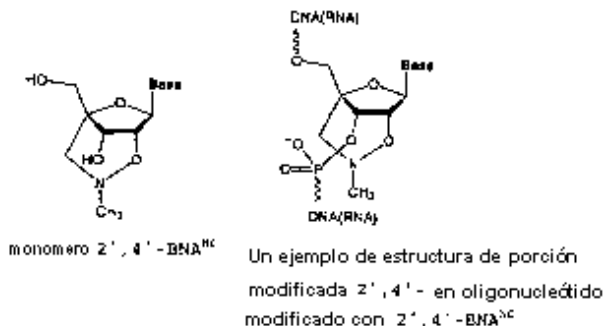
(6) Los compuestos y sales de los mismos, siendo Base un grupo 6-aminopurin-9-ilo (es decir adeninilo), un grupo 6-aminopurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico.

co, un grupo 2,6-diaminopurin-9-ilo, un grupo 2-amino-6-cloropurin-9-ilo, un grupo 2-amino-6-cloropurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo, un grupo 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 2-amino-6-bromopurin-9-ilo, un grupo 2-amino-6-bromopurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo (es decir, guaninilo) grupo, un grupo 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 6-amino-2-metoxipurin-9-ilo, un grupo 6-amino-2-cloropurin-9-ilo, un grupo 6-amino-2-fluoropurin-9-ilo, un grupo 2,6-dimetoxipurin-9-ilo, un grupo 2,6-dicloropurin-9-ilo, un grupo 6-mercaptapurin-9-ilo, un grupo 2-oxo-4-amino-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, citosinilo), un grupo 2-oxo-4-amino-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 2-oxo-4-amino-5-fluoro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, un grupo 2-oxo-4-amino-5-fluoro 1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 4-amino-2-oxo-5-cloro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, un grupo 2-oxo-4-metoxi-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, un grupo 2-oxo-4-mercapto-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, un grupo 2-oxo-4-hidroxi-1,2 dihidropirimidin-1-ilo (es decir, uracililo), un grupo 2-oxo-4-hidroxi-5-metil-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, timinilo), un grupo 4-amino-5-metil-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, 5-metilcitosinilo), o 4-amino-5-metil-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico.

(7) También cabe mencionar los compuestos y las sales de los mismos, siendo Base un grupo benzoilaminopurin-9-ilo, adenilo, 2-isobutirilamino-6-hidroxipurin-9-ilo, guaninilo, 2-oxo-4-benzoilamino-1,2 dihidropirimidin-1-ilo, citosinilo, 2-oxo-5-metil-4-benzoilamino-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, 5-metilcitosinilo, uracililo, o timinilo.

Los anteriores apartados (1) a (2), (3) a (4), o (6) a (7) representan compuestos más preferidos, a medida que aumentan sus números. También son preferidos los compuestos y sales de los mismos en los que, en la fórmula general (1), R₁ se elige arbitrariamente entre los apartados (1) a (2), R₂ se elige arbitrariamente entre los apartados de (3) a (4), R₃ se elige arbitrariamente entre el apartado (5), y Base se elige de forma arbitraria entre los apartados de (6) a (7); o compuestos y sales de los mismos obtenidos por combinaciones arbitrarias de estos números. Son particularmente preferidas las combinaciones (2) - (3) - (5) - (6), (2) - (3) - (5) - (7), (2) - (4) - (5) - (6), y (2) - (4) - (5) - (7).

Se mencionan compuestos de la fórmula general (I) y sales de los mismos, preferentemente de forma particular, compuestos de la siguiente fórmula y sales de los mismos.



En la fórmula estructural del grupo anterior, Base tiene los mismos significados que se han dado anteriormente.

De los análogos de oligonucleótidos que contienen uno o dos, o más estructuras unitarias del análogo de nucleósido representado por la fórmula general (II) de la presente invención, y sales farmacológicamente aceptables de los mismos, los ejemplos preferidos son los siguientes:

(8) Análogos de oligonucleótidos, y sales de los mismos aceptables farmacológicamente, siendo R₃ un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo aralquilo tal como un grupo bencilo, un grupo acilo alifático o aromático tal como un grupo acetilo o un grupo benzoilo, o un grupo sulfonilo alifático o aromático tal como un grupo metanosulfonilo o un grupo p-toluenosulfonilo.

(9) Análogos de oligonucleótidos, y sales de los mismos aceptables farmacológicamente, siendo Base un grupo 6-aminopurin-9-ilo (es decir adeninilo), un grupo 6-aminopurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 2,6-diaminopurin-9-ilo, un grupo 2-amino-cloropurin-9-ilo, un grupo 2-amino-6-cloropurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo, un grupo 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 2-amino-6-bromopurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo (es decir, guaninil), un grupo 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 6-amino-2-metoxipurin-9-ilo, un grupo 6-amino-2-cloropurin-9-ilo, un grupo 6-amino-2-fluoropurin-9-ilo, un grupo 2,6-dimetoxipurin-9-ilo, un grupo 2,6-

dicloropurin-9-ilo, un grupo 6-mercaptopurina-9-ilo, un grupo 2-oxo-4-amino-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, citosinilo), un grupo 2-oxo-4-amino-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 2-oxo-4-amino-5-fluoro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, un grupo 2-oxo-4-amino-5-fluoro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo 4-amino-2-oxo-5-cloro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, un grupo 2-oxo-4-metoxi-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, un grupo 2-oxo-4-mercapto-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, un grupo 2-oxo-4-hidroxi -1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, uracililo), un grupo 2-oxo-4-hidroxi-5-metil-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, timinilo), un grupo 4-amino-5-metil-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, 5-metilcitosinilo), o 4-amino-5-metil-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico.

(10) También cabe mencionar los análogos de oligonucleótidos, y las sales farmacológicamente aceptables de los mismos, siendo Base un grupo benzoilaminopurin-9-ilo, adenilo, 2-isobutirilamino-6-hidroxipurin-9-ilo, guaninilo, 2-oxo-4-benzoilamino-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, citosinilo, 2-oxo-5-metil-4-benzoilamino-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, 5-metilcitosinilo, uracililo, o timinilo.

Los anteriores apartados (9) a (10) representan análogos de oligonucleótidos más preferidos, a medida que crecen sus números. También son preferidos los análogos de oligonucleótidos y las sales farmacológicamente aceptables de los mismos en los que R_3 se elige arbitrariamente entre (8), Base se elige arbitrariamente entre los apartados (9) a (10), y el R_3 elegido y Base están combinados de forma arbitraria. Son combinaciones particularmente preferidas en la fórmula general (I) (8) - (9) y (8) - (10).

Los análogos de nucleósidos y análogos de oligonucleótidos de la presente invención pueden ser sintetizados basándose en los métodos descritos en los ejemplos que se han presentado en el presente texto, y en las tecnologías convencionales en este campo de la técnica.

(1) Síntesis de análogos de nucleósidos.

Los compuestos representados por la fórmula general (I) pueden sintetizarse basándose en los métodos descritos en los Ejemplos y en las tecnologías convencionales en este campo de la técnica. Las condiciones de reacción, los reactivos para la introducción de un grupo protector, y los reactivos de la reacción, pueden ser determinados con referencia a los métodos descritos en los Ejemplos. Sin embargo, estos métodos no son limitantes, y se pueden emplear como apropiadas condiciones de reacción y reactivos utilizables basándose en el conocimiento común en este campo de la técnica. Por ejemplo, se pueden citar los métodos descritos en la Solicitud de Patente Japonesa abierta a inspección pública N° 2000-297097 y en la Solicitud de Patente Japonesa abierta a inspección pública N° 1998-304889. Además, si los compuestos de la fórmula general (I) o (II) tienen varias bases de ácido nucleico naturales o no naturales, u otros anillos aromáticos heterocíclicos o anillos aromáticos hidrocarbonados como Base, los materiales de partida para los compuestos de la presente invención pueden ser sintetizados haciendo referencia a los métodos descritos en la Solicitud de Patente Japonesa abierta a inspección pública N° 1998-304889.

(2) Síntesis de análogos de oligonucleótidos.

El análogo de oligonucleótido que contiene el análogo de nucleósido de la presente invención puede ser sintetizado de varias formas mediante un sintetizador de DNA públicamente conocido. Después, el análogo de oligonucleótido resultante se purifica mediante el empleo de una columna de fase inversa, y la pureza del producto se analiza mediante HPLC en fase inversa o MALDI-TOF-MS, con lo que puede confirmarse la formación de un análogo de oligonucleótido purificado.

Uno o más de los análogos de nucleósidos de la presente invención pueden hacerse presentes en el análogo de oligonucleótido. Además, los análogos de nucleósidos pueden hacerse presentes en dos o más posiciones del análogo de oligonucleótido en estado espaciado a través de uno o dos o más nucleótidos naturales. De acuerdo con la presente invención, es posible sintetizar un análogo de oligonucleótido en el que los análogos de nucleósidos de la presente invención se han introducido en números necesarios (longitud) en las posiciones necesarias. La longitud del análogo de oligonucleótido completo es de 2 a 50, preferentemente de 8 a 30 unidades de nucleótidos.

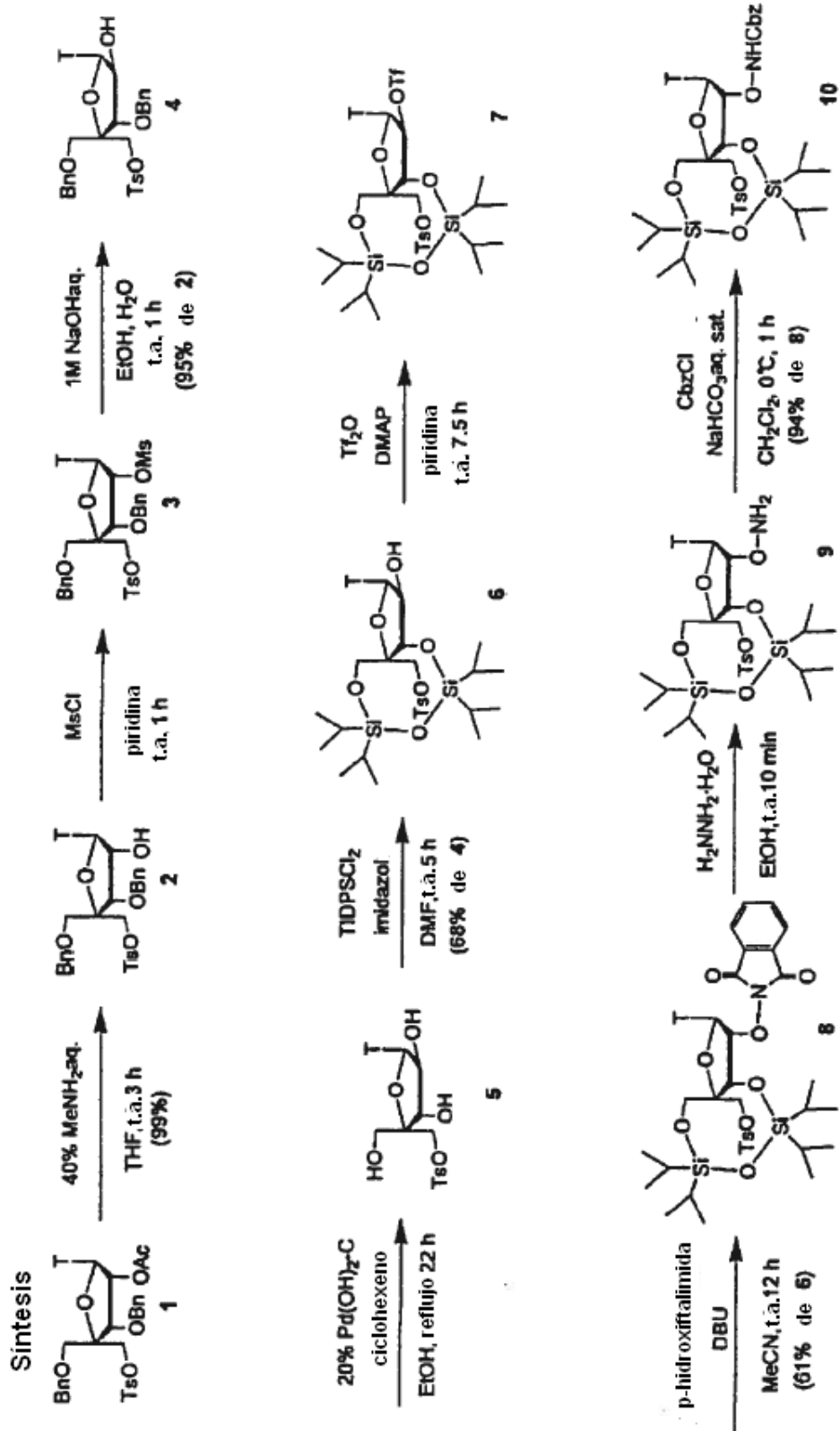
El análogo de oligonucleótido de la presente invención es mínimamente degradable por la nucleasa y, después de la administración in vivo, puede existir in vivo durante un período prolongado. El análogo de oligonucleótido forma una doble hélice con RNA sentido, por ejemplo, para inhibir la transcripción de un componente etiológico in vivo (proteína) a mRNA. Se considera también que el análogo de oligonucleótido inhibe la multiplicación de un virus infeccioso.

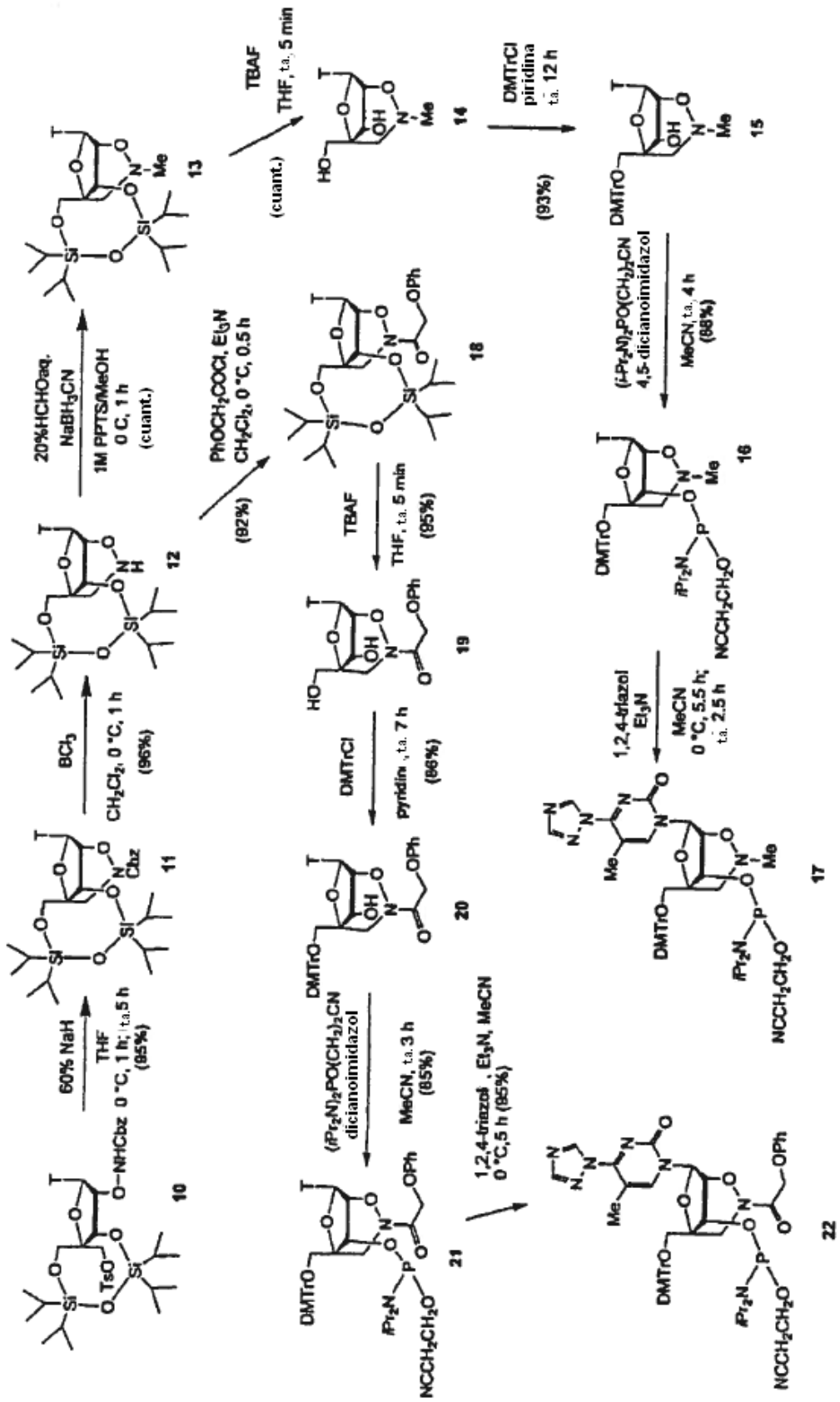
Teniendo en cuenta estos hechos, cabe esperar que los análogos de oligonucleótidos de la presente invención sean útiles como medicamentos, incluyendo agentes antitumorales y agentes antivirales, para inhibir la acción de los genes para tratar enfermedades. Esto es, de acuerdo con la presente invención, se proporcionan análogos de oligonucleótidos que tienen una estable y excelente actividad antisentido o antigénica, o tienen excelentes actividades como reactivos para la detección de genes particulares, o como cebadores para la iniciación de la amplificación (multiplicación), o análogos de nucleósidos que son productos intermedios para la producción de los análogos de oligonucleótidos.

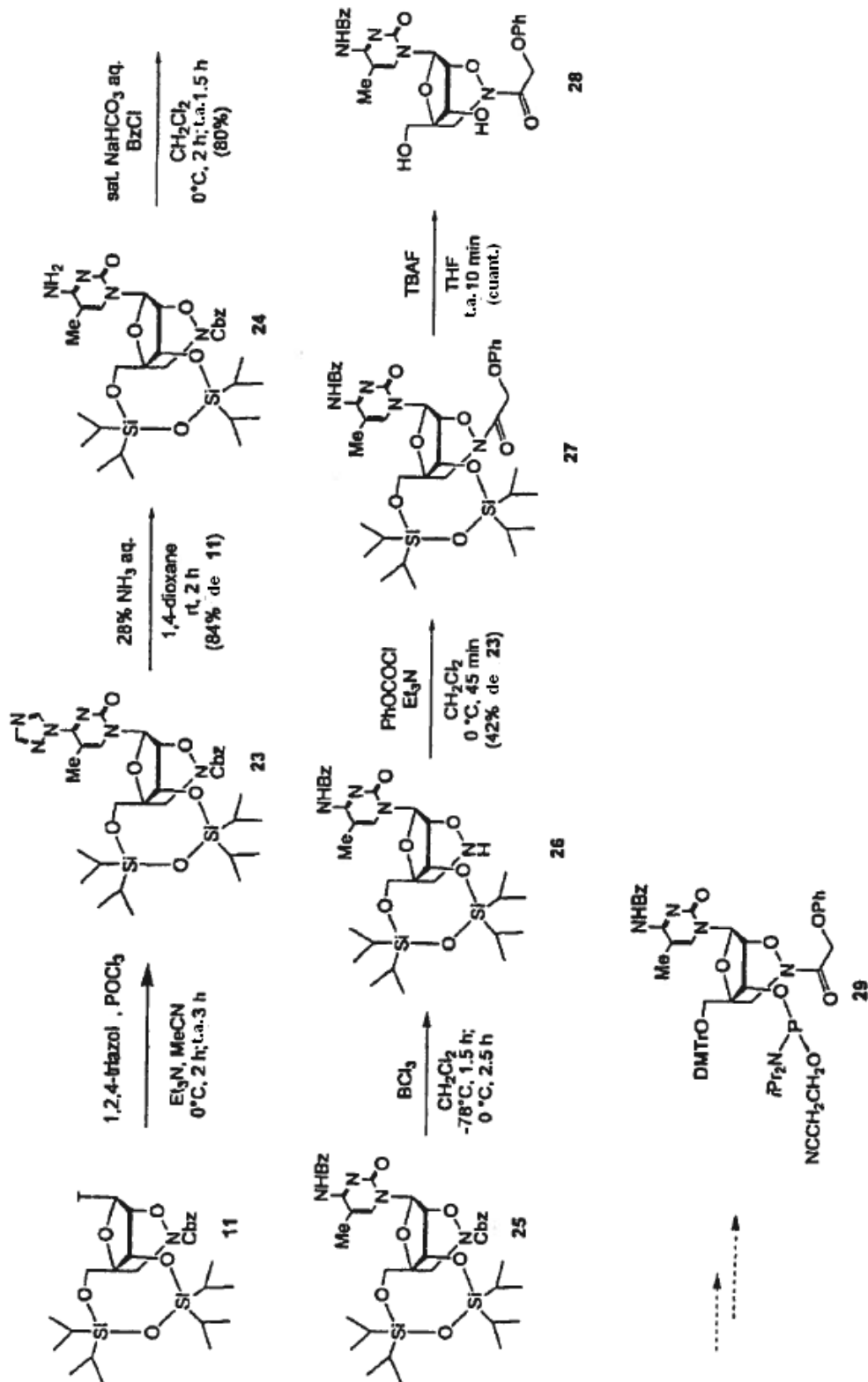
- 5 Los análogos de oligonucleótidos de DNA o RNA (análogos de oligonucleótidos), que tienen el monómero 2',4'-BNA^{NC}, como uno de los análogos de nucleósidos de la presente invención, modificados en diversas formas, son útiles como materiales para diversas sustancias fisiológicas y bioactivas y productos farmacéuticos, materiales funcionales para los oligonucleótidos bicatenarios para el método de interferencia de RNA o el método del señuelo, materiales funcionales para los chips de DNA o balizas moleculares que se dirigen a ácidos nucleicos monocatenarios, tales como cDNA, materiales funcionales para aplicaciones a varios métodos antisentido (incluyendo ribozimas y DNazimas), el método de antígeno, y recombinación genética homóloga, materiales para análisis de alta sensibilidad de componentes biológicos traza por combinaciones con sustancias fluorescentes o luminiscentes, y materiales de partida para el desarrollo de reactivos de investigación para el análisis y el esclarecimiento de funciones génicas.
- 10 Los análogos de nucleósidos o análogos de oligonucleótidos de la presente invención pueden ser conformados en preparados para administración parenteral incorporando en el mismo coadyuvantes de uso común, tales como tampones y/o estabilizantes. Para su uso como preparados para administración tópica, se incorporan vehículos farmacéuticos habituales, por lo que los análogos de nucleósidos o análogos de oligonucleótidos se pueden conformar como pomadas, cremas, líquidos y la solución, o emplastos.
- 15 Los análogos de nucleósidos y análogos de oligonucleótidos de la presente invención fueron sintetizados de acuerdo con el esquema de síntesis que se muestra más adelante. Esta síntesis se describirá con más detalle en los Ejemplos. Los compuestos 16, 21, 17 y 22 son amiditas para introducir 2',4'-BNA^{NC} (NMe) y 2', 4'-BNA^{NC} (NH), en las que las porciones de base de ácido nucleico son timina y metilcitosina, respectivamente, en los oligonucleótidos. También a partir del compuesto 28 se puede sintetizar amidita 29 de la manera usual (trilitación, amiditación) para la
- 20 introducción de un derivado BNA^{NC} (NH) de metilcitosina. También se conocen derivados del compuesto 1, en los que las porciones de base de ácido nucleico son adenina y guanina en lugar de timina. Así pues, se considera también que los derivados 2',4'-BNA^{NC} de adenosina y guanosina son sintetizables por esta ruta de síntesis.

Ejemplos.

- 25 Los análogos de nucleósidos y análogos de oligonucleótidos de la presente invención fueron sintetizados de acuerdo con el esquema de síntesis que se expone a continuación. Estas síntesis se describirán con más detalle en los Ejemplos. Las características de los análogos de oligonucleótidos sintetizados se midieron mediante los Ejemplos Experimentales.







Ejemplo 1. Síntesis de análogos de nucleósidos (2',4'-BNA^{NC} amiditas).

(1) Síntesis del Compuesto 2.

5 Se añadió una solución acuosa al 40% de metilamina (0,11 ml, 1,50 mmoles) a una solución en tetrahidrofurano (3,5 ml) del Compuesto 1 (49 mg, 0,073 mmoles) que se muestra en el esquema de síntesis anteriormente expuesto, bajo condiciones de enfriamiento con hielo, y la mezcla fue agitada durante 3 horas a temperatura ambiente. Después de que el disolvente de la solución de reacción se hubo separado mediante destilación, el residuo se extrajo con acetato de etilo, y la capa orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro y el disolvente se separó mediante destilación. Después se purificó el residuo mediante cromatografía en columna de gel de sílice (n-hexano: acetato de etilo = 1:1) para obtener el Compuesto 2 (45 mg, 99%) en forma de un sólido blanco.

10 [Ecuación 1]

P. de f. 64 - 66° C. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1,62 (3H, s); 2,43 (3H, s); 3,10 (1H, br); 3,63, 3,71 (2H, AB, J = 10 Hz); 4,18 (2H, s); 4,24 (1H, d, J = 6 Hz); 4,33 (1H, dd, J = 5, 6 Hz); 4,52 (1H, s); 4,60, 4,67 (2H, AB, J = 12 Hz); 5,68 (1H, d, J = 5 Hz); 7,23 a 7,37 (13H, m); 7,71 (2H, d, J = 8 Hz); 8,52 (1H, br).

15 (2) Síntesis del Compuesto 3

En una corriente de nitrógeno, se añadió cloruro de metilsulfonilo (45 ml, 0,59 mmoles) a una solución en piridina (1,5 ml) del Compuesto 2 (146 mg, 0,23 mmoles), bajo condiciones de enfriamiento con hielo, y la mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Se añadió agua a la solución de reacción, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, y una solución acuosa saturada de cloruro sódico. Entonces, la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó por destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante 3 (170 mg) se usó para una siguiente reacción sin purificar.

20 [Ecuación 2]

25 ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1,65 (3H, s); 2,43 (3H, s); 3,07 (3H, s); 3,55, 3,81 (2H, AB, J = 10 Hz); 4,13, 4,22 (2H, AB, J = 11 Hz); 4,41 (1H, d, J = 6 Hz); 4,48 (2H, s); 4,48, 4,78 (2H, AB, J = 12 Hz); 5,32 (1H, dd, J = 4, 6 Hz); 5,91 (1H, d, J = 4 Hz); 7,20 a 7,38 (13H, m); 7,72 (2H, d, J = 6 Hz).

(3) Síntesis del Compuesto 4.

30 Una solución acuosa de hidróxido sódico 1M (0,70 ml, 0,70 mmoles) se añadió, a temperatura ambiente, a una solución en agua-etanol (1:2, 6 ml) del producto crudo 3 (170 mg) obtenido en la reacción anterior, y la mezcla se agitó durante 1 hora. Después de neutralizar con una solución acuosa al 10% de ácido clorhídrico, la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y con una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y después se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó por destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo: metanol = 15:1) para obtener el Compuesto 4 (139 mg, 95% a partir de 2 en 2 etapas) en forma de un sólido blanco.

35 [Ecuación 3]

P. de f. 73 - 76° C. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1,65 (3H, s); 2,38 (3H, B); 3,64, 3,70 (2H, AB, J = 9 Hz); 4,12 (1H, d, J = 2 Hz); 4,15, 4,21 (2H, AB, J = 10 Hz); 4,43, 4,64 (2H, AB, J = 11 Hz); 4,49 (2H, s); 4,55 (1H, dd, J = 2, 4 Hz); 5,97 (1H, d, J = 4 Hz); 7,19-7,36 (13H, m); 7,73 (2H, d, J = 8 Hz); 9,72 (1H, br).

(4) Síntesis del Compuesto 5.

40 En una corriente de nitrógeno, se añadieron hidróxido de paladio al 20% en carbono en polvo (0,60 g) y ciclohexeno (5,2 ml, 51 mmoles) a una solución en etanol (10 ml) del Compuesto 4 (0,80 g, 1,28 mmoles), y la mezcla se sometió a reflujo con calentamiento durante 5 horas. Después se añadió hidróxido de paladio-carbono en polvo (0,20 g), y la mezcla se sometió a reflujo con calentamiento durante 17 horas. Una vez filtrada la solución de reacción, el disolvente se separó por destilación bajo presión reducida. El producto crudo resultante 5 (0,46 g) fue utilizado para una siguiente reacción sin purificar.

45 [Ecuación 4]

P. de f. 103 - 106 °C. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1,85 (3H, d, J = 1 Hz); 2,41 (3H, s); 3,67 (2H, s); 4,14, 4,25 (2H, AB, J = 11 Hz); 4,16 (1H, dd, J = 4, 5 Hz); 4,21 (1H, d, J = 4 Hz); 5,87 (1H, d, J = 5 Hz); 7,38 (2H, d, J = 8 Hz); 7,48 (1H, d, J = 1 Hz); 7,79 (2H, d, J = 8 Hz).

50 (5) Síntesis del Compuesto 6.

En una corriente de nitrógeno, se añadieron 1,3-dicloro-1,1,3,3-tetraisopropildisiloxano (0,45 ml, 1,41 mmoles) e imidazol (0,38 g, 5,63 mmoles) a una solución en N, N-dimetilformamida (10 ml) del Compuesto 5 (0,46 g), y la mezcla se agitó durante 5 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrajo con éter, y la capa orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro de sodio, y a continuación se secó la capa orgánica sobre sulfato de magnesio. El disolvente se separó por destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (n-hexano: acetato de etilo = 2:1 → 1:1) para obtener el Compuesto 6 (0,60 g, 68% a partir de 4 en 2 etapas) como un sólido blanco.

[Ecuación 5]

P. de f. 97 - 99 °C. IR ν_{\max} (KBr): 3186, 3058, 2947, 2869, 1697, 1467, 1366, 1277, 1182, 1036, 1081, 1036 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0,82 - 1,29 (28H, m); 1,86 (3H, s); 2,45 (3H, s); 3,73, 4,01 (2H, AB, J = 12 Hz); 4,06, 4,29 (2H, AB, J = 11 Hz); 4,47 (1H, d, J = 7 Hz); 4,52 (1H, dd, J = 6, 7 Hz); 5,98 (1H, d, J = 6 Hz); 7,28 (1H, s); 7,43 (2H, d, J = 8 Hz); 7,81 (2H, d, J = 8 Hz).

(6) Síntesis del Compuesto 7.

En una corriente de nitrógeno, se añadieron anhídrido trifluorometanosulfónico (0,15 ml, 0,88 mmoles) y 4- (dimetilamino) piridina (7 mg, 0,06 mmoles) a una solución en piridina (3 ml) del Compuesto 6 (200 mg, 0,29 mmoles) bajo condiciones de enfriamiento con hielo, y la mezcla se agitó durante 7,5 horas a temperatura ambiente. Se añadió agua a la solución de reacción, y se extrajo la mezcla con diclorometano. La capa orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, y una solución acuosa saturada de cloruro sódico. Después se secó la capa orgánica sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó por destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante 7 (0,29 g) fue utilizado para una siguiente reacción sin purificar.

[Ecuación 6]

IR ν_{\max} (KBr): 3178, 3069, 2948, 2874, 1695, 1465, 1424, 1365, 1281, 1214, 1143, 1088, 1038 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0,81 - 1,26 (28H, m); 1,92 (3H, s); 2,46 (3H, s); 3,77, 4,16 (2H, AB, J = 12 Hz); 4,15, 4,42 (2H, AB, J = 10 Hz); 5,42 (1H, d, J = 7 Hz); 5,45 (1H, d, J = 7 Hz); 6,89 (1H, s); 7,37 (2H, d, J = 8 Hz); 7,82 (2H, d, J = 8 Hz); 7,92 (1H, s).

(7) Síntesis del Compuesto 8.

En una corriente de nitrógeno se añadieron, a temperatura ambiente, N-hidroxiftalimida (67 mg, 0,41 mmoles) y 1,8-diazabicyclo [5.4.0]-7-undeceno (61 ml, 0,41 mmoles) a una solución en acetonitrilo (3 ml) de producto crudo 7 (0,29 g) obtenido en la reacción anterior, y la mezcla se agitó durante 12 horas a temperatura ambiente. La solución de reacción se extrajo con diclorometano, y la capa orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y a continuación se secó la capa orgánica sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó por destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo) para obtener el Compuesto 8 (0,15 g, 61% a partir de 6 en 2 etapas) en forma de un sólido amarillo.

[Ecuación 7]

P. de f. 109 - 111 °C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0,99 - 1,31 (28H, m), 1,87 (3H, s), 1,42 (3H, s), 3,88, 4,19 (2H, AB, J = 13 Hz), 4,41, 4,91 (2H, AB, J = 12 Hz), 4,77 (1H, d, J = 6 Hz), 4,80 (1H, d, J = 6 Hz), 6,00 (1H, s), 7,32 -7,37 (3H, m), 7,74 - 7,90 (6H, m).

(8) Síntesis del Compuesto 9

Se añadió hidrato de hidrazina (0,12 ml, 2,38 mmoles) a una solución en etanol (35 ml) del Compuesto 8 (1,16 g, 1,40 mmoles), y la mezcla se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente. Una vez separado el disolvente de la solución de reacción por destilación, el residuo se filtró y el filtrado se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico. Después, la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó por destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante 9 (0,93 g) fue utilizado para una reacción siguiente sin purificar.

[Ecuación 8]

P. de f. 117 - 119 °C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0,87 - 1,09 (28H, m); 1,92 (3H, d, J = 1 Hz); 2,45 (3H, s); 3,83, 3,91 (2H, AB, J = 12 Hz); 4,22, 4,57 (2H, AB, J = 16 Hz); 4,41 (1H, dd, J = 1, 7 Hz); 4,80 (1H, d, J = 7 Hz); 5,35 (1H, d, J = 1 Hz); 5,81 (1H, br); 7,12 (1H, d, J = 1 Hz); 7,33 (2H, d, J = 8 Hz); 7,81 (2H, d, J = 8 Hz); 8,75 (1H, s).

(9) Síntesis del Compuesto 10.

En una corriente de nitrógeno se añadieron una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (4,0 ml, 4,2 mmoles) y cloroformato de bencilo (0,30 ml, 2,1 mmoles), bajo condiciones de enfriamiento con hielo, a una solución en cloruro de metileno (15 ml) de producto crudo 9 (0,93 g) obtenido en la reacción anterior, y la mezcla se agitó duran-

te 1 hora. Se añadió a la solución de reacción una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y a continuación se secó la capa orgánica sobre sulfato de magnesio. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (n-hexano: acetato de etilo = 4:1) para obtener el compuesto 10 (0,92 g, 94% a partir de 8 en 2 etapas) como un sólido blanco.

[Ecuación 9]

P. de f. 82 - 84 °C. IR ν_{\max} (KBr): 3319, 3059, 2948, 2874, 1691, 1464, 1365, 1245, 1180, 1098, 1034 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0,86 (28H, m); 1,87 (3H, s); 2,43 (3H, s); 3,80, 3,88 (2H, AB, J = 11 Hz); 4,25, 4,53 (2H, AB, J = 11 Hz); 4,72 (1H, d, J = 6 Hz); 5,02 (1H, d, J = 6 Hz); 5,15, 5,20 (2H, AB, J = 12 Hz); 6,37 (1H, s); 7,31 (2H, d, J = 8 Hz); 7,34 (5H, s); 7,80 (2H, d, J = 8 Hz); 7,95 (1H, s); 8,48 (1H, s).

(10) Síntesis del Compuesto 11.

En una corriente de nitrógeno, se añadió gota a gota una solución en tetrahidrofurano (15 ml) de Compuesto 10 (3,81 g, 4,57 mmoles), bajo condiciones de enfriamiento con hielo, a una suspensión en tetrahidrofurano (25 ml) de hidruro sódico (60% en aceite, 0,55 g, 13,7 mmoles), y la mezcla se agitó durante 1 hora, seguido por la agitación de la mezcla durante 5 horas a temperatura ambiente. Después de neutralizar en una solución acuosa saturada de ácido oxálico, la mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y acto seguido la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo \rightarrow cloroformo \rightarrow metanol = 100:1) para obtener el compuesto 11 (2,87 g, 95%) en forma de un sólido blanco.

[Ecuación 10]

P. de f. 61 - 64 °C. IR ν_{\max} (KBr): 3178, 3026, 2941, 2864, 1697, 1463, 1271, 1221, 1164, 1073 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0,80 - 1,12 (28H, m); 1,92 (3H, s); 3,62, 3,85 (2H, AB, J = 12 Hz); 3,68, 4,11 (2H, AB, J = 13 Hz); 4,11 (1H, d, J = 4 Hz); 4,55 (1H, d, J = 4 Hz); 6,21, 5,28 (2H, AB, J = 12 Hz); 5,98 (1H, s); 7,30-7,44 (5H, m); 7,61 (1H, s); 8,80 (1H, br).

(11) Síntesis del Compuesto 12.

En una corriente de nitrógeno, se añadió una solución 1M en hexano de tricloruro de boro (5,29 ml, 5,29 mmoles), bajo condiciones de enfriamiento con hielo, a una solución en cloruro de metileno (10 ml) de producto crudo 11 (0,35 mg, 0,53 mmoles) obtenido en la reacción anterior, y la mezcla se agitó durante 1 hora. Se añadió una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico a la solución de reacción, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y acto seguido la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo: metanol = 50:1) para obtener el compuesto 12 (0,27 g, 96%) en forma de un sólido blanco.

[Ecuación 11]

P. de f. 102 - 104 °C. IR ν_{\max} (KBr): 4326, 3178, 3059, 2947, 2864, 1698, 1564, 1464, 1270, 1043 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0,99 - 1,25 (28H, m); 1,93 (3H, s); 2,54, 3,68 (2H, AB, J = 13 Hz); 3,67, 4,06 (2H, AB, J = 13 Hz); 4,10 (1H, d, J = 2 Hz); 4,36 (1H, d, J = 2 Hz); 6,17 (1H, s); 7,73 (1H, s); 8,71 (1H, br).

(12) Síntesis del Compuesto 13.

Se añadió una solución acuosa al 20% de formaldehído (0,06 ml, 0,40 mmoles) a una solución 1M en p-toluenosulfonato de piridinio-metanol (3,6 ml) del Compuesto 12 (0,19 g, 0,36 mmoles) a temperatura ambiente, y la mezcla se agitó durante 10 minutos. Además se añadió cianoborohidruro sódico (45 mg, 0,72 mmoles) bajo condiciones de enfriamiento con hielo, y la mezcla se agitó durante 1 hora. La solución de reacción se extrajo con acetato de etilo, el extracto se lavó con agua, una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (n-hexano: acetato de etilo = 2:1) para obtener el Compuesto 13 (0,19 g, 100%) en forma de un sólido blanco.

[Ecuación 12]

IR ν_{\max} (KBr): 2947, 2868, 1695, 1464, 1267, 1163, 1038 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0,94 - 1,12 (28H, m); 1,92 (3H, d, J = 1 Hz); 2,60, 2,91 (2H, AB, J = 11 Hz); 2,76 (3H, s); 3,67, 4,08 (2H, AB, J = 13 Hz); 3,95 (1H, d, J = 3 Hz); 4,33 (1H, d, J = 3 Hz); 6,24 (1H, s); 7,73 (1H, d, J = 1 Hz); 8,56 (1H, br).

(13) Síntesis del Compuesto 14.

Se añadió fluoruro de tetra-n-butilamonio (1M en tetrahidrofurano, 0,17 ml, 0,17 mmoles) a una solución en tetrahidrofurano (2 ml) del Compuesto 13 (46 mg, 0,085 mmoles), y la mezcla se agitó durante 5 minutos a temperatura ambiente. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo: metanol = 15:1) para obtener el Compuesto 14 (25 mg, 100%) en forma de un sólido blanco.

[Ecuación 13]

P. de f. 101 - 103 °C. ¹H-NMCR (CD₃OD) δ: 1,85 (3H, d, J = 1 Hz); 2,71 (3H, s); 2,71, 2,88 (2H, AB, J = 11 Hz); 3,69, 3,76 (2H, AB, J = 12 Hz); 3,94 (1H, d, J = 3 Hz); 4,23 (1H, d, J = 3 Hz); 6,21 (1H, s); 7,99 (1H, d, J = 1 Hz).

10 (14) Síntesis del Compuesto 15.

A una solución en piridina (10 ml) del Compuesto 14 (0,16 g, 0,54 mmoles), se añadió cloruro de 4,4'-dimetoxitritilo (0,22 g, 0,64 mmoles), y la mezcla se agitó durante 12 horas a temperatura ambiente. Se añadió una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico a la mezcla de reacción, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y a continuación la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (n-hexano que contiene 1% de trietilamina: acetato de etilo = 1:2 → acetato de etilo: metanol = 30:1) para obtener el Compuesto 15 (0,30 g, 93%) en forma de un sólido blanco.

[Ecuación 14]

20 P. de f. 133 - 134 °C. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1,45 (3H, d, J = 1 Hz); 2,62 (1H, d, J = 9 Hz); 2,72 (3H, s); 2,77 (2H, s); 3,32, 3,37 (2H, AB, J = 11 Hz); 3,79 (6H, s); 4,23 (1H, dd, J = 3, 9 Hz); 4,35 (1H, d, J = 3 Hz); 6,35 (1H, s); 6,84 (4H, d, J = 8 Hz); 7,22 - 7,46 (9H, m); 7,75 (1H, d, J = 1 Hz); 8,25 (1H, br).

(15) Síntesis del Compuesto 16.

25 A una solución en acetonitrilo (6 ml) del Compuesto 15 (0,17 g, 0,28 mmoles) y 4,5-dicianoimidazol (40 mg, 0,34 mmoles), se añadió 2-cianoetil-N, N, N', N'-tetraisopropilfosforoamidita (0,13 ml, 0,42 mmoles), y la mezcla se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente. Se añadió a la mezcla de reacción una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y a continuación la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (n-hexano que contiene 1% de trietilamina: acetato de etilo = 1:1), seguido por la reprecipitación (acetato de etilo-hexano) para obtener el Compuesto 16 (0,20 g, 88%) en forma de un sólido blanco.

[Ecuación 15]

30 P. de f. 65 - 65 °C. ³¹P-MNR (acetona-d₆) δ: 148,69, 149,82.

35 (16) Síntesis del Compuesto 17

40 En una corriente de nitrógeno, se añadió cloruro de fosforilo (86 ml, 0,92 mmoles), bajo condiciones de enfriamiento con hielo, a una suspensión en acetonitrilo (9 ml) de 1,2,4-triazol (278 mg, 4,03 mmoles), y la mezcla se agitó vigorosamente durante 10 minutos. Después se añadió trietilamina (0,64 ml, 4,62 mmoles) y la mezcla se agitó durante 35 minutos. Bajo condiciones de enfriamiento con hielo, se añadió una solución de acetonitrilo (3 ml) del Compuesto 16 (95 mg, 0,12 mmoles), y la mezcla se agitó durante 5,5 horas. A continuación la mezcla se siguió agitando durante 2,5 horas a temperatura ambiente. Se añadió a la mezcla de reacción una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y a continuación dicha capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (n-hexano: acetato de etilo = 1:2) y después reprecipitación (acetato de etilo-hexano), para obtener el Compuesto 17 (83 mg, 83%) en forma de un sólido blanco.

[Ecuación 16]

45 P. de f. 107-109 °C. ³¹P- NMR (acetona-d₆) δ: 148,24, 149,91.

(17) Síntesis del Compuesto 18.

50 Se añadió cloruro de fenoxiacetilo (29 ml, 0,21 mmoles), bajo condiciones de enfriamiento con hielo, a una solución en cloruro de metileno (3 ml) del Compuesto 12 (100 mg, 0,19 mmoles) y trietilamina (32 ml, 0,12 mmoles), y la mezcla se agitó durante 30 minutos. Se añadió a la mezcla de reacción una solución acuosa saturada de bicarbonato

sódico ión, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y a continuación se secó la capa orgánica sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (n-hexano: acetato de etilo = 2:1) para obtener el Compuesto 18 (115 mg, 92%) en forma de un sólido blanco.

[Ecuación 17]

P. de f. 124 - 126 °C. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1,2 - 1,13 (28H, m); 1,92 (3H, s); 3,49 (1H, AB, J = 13 Hz); 3,73 (1H, AB, J = 14 Hz); 4,16 (1H, d, J = 3 Hz); 4,18 (1H, AB, J = 13 Hz); 4,23 (1H, AB, J = 14 Hz); 4,57 (1H, d, J = 3 Hz); 4,91 (1H, AB, J = 16 Hz); 5,00 (1H, AB, J = 16 Hz); 5,97 (1H, s); 6,92 - 7,00 (3H, m); 7,24 - 7,30 (2H, m); 7,60 (1H, s); 9,69 (1H, s ancho).

(18) Síntesis del Compuesto 19.

En una corriente de nitrógeno, se añadió fluoruro de tetra-n-butilamonio (solución 1M en tetrahidrofurano, 1,0 ml, 1,0 mmoles) a una solución en tetrahidrofurano (10 ml) del Compuesto 18 (0,34 g, 0,51 mmoles) a temperatura ambiente, y la mezcla se agitó durante 5 minutos. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo: metanol = 15:1) para obtener el compuesto 19 (0,20 g, 95%) en forma de un sólido blanco.

[Ecuación 18]

P. de f. 144 - 146 °C. ¹H-NMR (CD₃OD) δ: 1,85 (3H, s); 3,53 (1H, AB, J = 13 Hz); 3,77 (1H, AB, J = 13 Hz); 3,85 (1H, AB, J = 13 Hz); 4,18 (1H, AB, J = 13 Hz); 4,20 (1H, d, J = 2 Hz); 4,60 (1H, d, J = 2 Hz); 4,93 (1H, AB, J = 16 Hz); 5,04 (1H, AB, J = 16 Hz); 6,05 (1H, s); 6,91 - 6,97 (3H, m); 7,23 - 7,28 (2H, m); 7,90 (1H, s).

(19) Síntesis del Compuesto 20.

En una corriente de nitrógeno, se añadió cloruro de 4,4'-dimetoxitritilo (0,25 g, 0,73 mmoles) a una solución en piridina (8 ml) del Compuesto 19 (0,17 g, 0,41 mmoles) a temperatura ambiente, y la mezcla se agitó durante 7 horas. Se añadió a la mezcla de reacción una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y a continuación la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (n-hexano que contiene 1% de trietilamina: acetato de etilo = 1:1 → acetato de etilo: metanol = 50:1) para obtener el Compuesto 20 (0,25 g, 86%) en forma de un sólido blanco.

[Ecuación 19]

P. de f. 144 - 145 °C. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1,44 (3H, s); 2,65 (1H, br); 3,40 (1H, AB, J = 11 Hz); 3,44 (1H, AB, J = 13 Hz); 3,62 (1H, AB, J = 11 Hz); 3,80 (6H, s); 4,23 (1H, AB, J = 13 Hz); 4,44 (1H, d, J = 3 Hz); 4,63 (1H, d, J = 3 Hz); 4,86 (1H, AB, J = 16 Hz); 4,99 (1H, AB, J = 16 Hz); 6,04 (1H, s); 6,83 - 6,98 (7H, m); 7,25 - 7,43 (11H, m); 7,65 (1H, s); 8,38 (1H, br).

(20) Síntesis del Compuesto 21.

A una solución en acetonitrilo (7 ml) del Compuesto 20 (0,25 g, 0,35 mmoles) y 4,5-dicianoimidazol (41 mg, 0,35 mmoles), se añadió 2-cianoetil-N, N, N', N'-tetraisopropilfosforoamidita (0,13 ml, 0,42 mmoles), y la mezcla se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. Se añadió una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico a la mezcla de reacción, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y a continuación la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (n-hexano que contiene 1% de trietilamina: acetato de etilo = 1:1), seguido por reprecipitación (acetato de etilo-hexano) para obtener el Compuesto 21 (0,27 g, 85%) en forma de un sólido blanco.

[Ecuación 20]

P. de f. 107 - 109 °C. ³¹P-NMR (acetona-d₆) δ: 149,79; 151,04.

(21) Síntesis del Compuesto 22.

En una corriente de nitrógeno, se añadió cloruro de fosforilo (71 ml, 0,76 mmoles), bajo condiciones de enfriamiento con hielo, a una suspensión en acetonitrilo (10 ml) de 1,2,4-triazol (229 mg, 3,32 mmoles), y la mezcla se agitó vigorosamente durante 10 minutos. Después se añadió trietilamina (0,53 ml, 3,81 mmoles), y la mezcla se agitó durante 35 minutos. Bajo condiciones de enfriamiento con hielo, se añadió una solución en acetonitrilo (2 ml) del Compuesto 21 (90 mg, 0,10 mmoles), y la mezcla se agitó durante 5 horas. Se añadió una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico a la mezcla de reacción, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y

una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y a continuación la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante reprecipitación (acetato de etilo-hexano) para obtener el Compuesto 22 (90 mg, 95%) en forma de un sólido blanco.

5 [Ecuación 21]

P. de f. 104 - 106° C. ³¹P-NMR (acetona-d₆) δ: 149,58; 151,29.

(22) Síntesis del Compuesto 23.

10 En una corriente de nitrógeno, se añadió cloruro de fosforilo (0,44 ml, 4,67 mmoles), bajo condiciones de enfriamiento con hielo, a una suspensión en acetonitrilo (61 ml) de 1,2,4-triazol (1,41 g, 20,4 mmoles), y la mezcla se agitó vigorosamente durante 10 minutos. Después se añadió trietilamina (3,27 ml, 23,4 mmoles), y la mezcla se agitó durante 35 minutos. Bajo condiciones de enfriamiento con hielo, se añadió una solución en acetonitrilo (3 ml) del Compuesto 11 (409 mg, 0,62 mmoles), y la mezcla se agitó durante 2 horas, y se siguió agitando durante 3 horas a temperatura ambiente. Se añadió una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico a la mezcla de reacción, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y a continuación la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante 23 (497 mg) se utilizó para una siguiente reacción sin purificar.

[Ecuación 22]

20 ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 0,92 - 1,12 (28H, m); 2,47 (3H, s); 3,66 (1H, AB, J = 12 Hz); 3,72 (1H, AB, J = 13 Hz); 3,90 (1H, AB, J = 12 Hz); 4,06 (1H, d, J = 3 Hz); 4,16 (1H, AB, J = 13 Hz); 4,73 (1H, d, J = 3 Hz); 6,11 (1H, s); 7,25 - 7,48 (5H, m); 8,12 (1H, s); 8,24 (1H, s); 9,32 (1H, s).

(23) Síntesis del Compuesto 24.

25 A una solución en 1,4-dioxano (10,6 ml) del Compuesto 23 (497 mg), se añadió una solución acuosa al 28% de amoníaco (1,76 ml), y la mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo: metanol = 30:1) para obtener el Compuesto 24 (343 mg, 84% a partir de 11 en 2 etapas) en forma de un sólido blanco.

[Ecuación 23]

30 P. de f. 137-139 ° C. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 0,93 - 1,11 (28H, m); 2,03 (3H, s); 3,62 (1H, AB, J = 12 Hz); 3,69 (1H, AB, J = 13 Hz); 3,85 (1H, AB, J = 12 Hz); 4,03 (1H, d, J = 3 Hz); 4,11 (1H, AB, J = 13 Hz); 4,59 (1H, d, J = 3 Hz); 5,24 (2H, s); 6,03 (1H, s); 7,26 - 7,45 (5H, m); 7,74 (1H, s).

(24) Síntesis del Compuesto 25

35 Se añadieron una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (0,8 ml, 0,79 mmoles) y cloruro de benzoílo (92 ml, 0,79 mmoles) a una solución en cloruro de metileno (2,6 ml) del Compuesto 24 (175 mg, 0,26 mmoles) bajo condiciones de enfriamiento con hielo, y la mezcla se agitó durante 2 horas, y se siguió agitando durante 1,5 horas a temperatura ambiente. Se añadió una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico a la mezcla de reacción, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y a continuación la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo) para obtener el Compuesto 25 (161 mg, 80%) en forma de un sólido blanco.

[Ecuación 24]

40 P. de f. 216 - 218 ° C. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 0,99 - 1,12 (28H, m); 2,12 (3H, s); 3,63 (1H, AB, J = 12 Hz); 3,70 (1H, AB, J = 13 Hz); 3,87 (1H, AB, J = 12 Hz); 4,11 (1H, d, J = 3 Hz); 4,13 (1H, AB, J = 13 Hz); 4,59 (1H, d, J = 3 Hz); 5,22 (1H, AB, J = 12 Hz); 5,29 (1H, AB, J = 12 Hz); 6,02 (1H, s); 7,31 - 7,53 (8H, m); 7,88 (1H, s); 8,30 - 8,33 (2H, m).

45 (25) Síntesis del Compuesto 26.

50 En una corriente de nitrógeno, se añadió una solución 1M en hexano de tricloruro de boro (1,35 ml, 1,35 mmoles), enfriando al mismo tiempo a -78 °C, a una solución en cloruro de metileno (7,5 ml) del Compuesto 25 (115 mg, 0,15 milimoles), y la mezcla se agitó durante 1,5 horas, y se siguió agitando durante 2,5 horas bajo condiciones de enfriamiento con hielo. Se añadió a la mezcla de reacción una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y a continuación la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante 26 (90 mg) se utilizó para una siguiente reacción sin purificar.

[Ecuación 25]

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0,99 - 1,13 (28H, m); 2,14 (3H, s); 2,57 (1H, AB, J = 13 Hz); 3,69 (1H, AB, J = 14 Hz); 3,70 (1H, AB, J = 13 Hz); 4,09 (1H, AB, J = 14 Hz); 4,11 (1H, d, J = 3 Hz); 4,42 (1H, d, J = 3 Hz); 6,22 (1H, s); 7,42 - 7,56 (3H, m); 7,91 (1H, s); 8,30 - 8,33 (2H, m).

5 (26) Síntesis del Compuesto 27.

10 En una corriente de nitrógeno se añadió cloruro de fenoxiacetilo (23 ml, 0,17 mmoles), bajo condiciones de enfriamiento con hielo, a una solución en cloruro de metileno (1,5 ml) del Compuesto 26 (90 mg) y trietilamina (25 ml, 0,18 mmoles), y la mezcla se agitó durante 45 minutos. Se añadió a la mezcla de reacción una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y después la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (n-hexano: acetato de etilo = 2:1) para obtener el Compuesto 27 (49 mg, 42% a partir de 23 en 2 etapas) en forma de un sólido blanco.

[Ecuación 26]

15 P. de f. 224 - 226 °C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0,99 - 1,14 (28H, m); 2,13 (3H, s); 3,52 (1H, AB, J = 13 Hz); 3,75 (1H, AB, J = 13 Hz); 4,17 (1H, AB, J = 13 Hz); 4,18 (1H, d, J = 3 Hz); 4,23 (1H, AB, J = 13 Hz); 4,61 (1H, d, J = 3 Hz); 4,92 (1H, AB, J = 16 Hz); 5,05 (1H, AB, J = 16 Hz); 6,01 (1H, s); 6,95 - 7,02 (3H, m); 7,29 (2H, m); 7,42 - 7,57 (4H, m); 7,79 (1H, s); 8,30 - 8,33 (2H, m).

(27) Síntesis del Compuesto 28.

20 En una corriente de nitrógeno se añadió fluoruro de tetra-n-butilamonio (solución 1M en tetrahidrofurano, 0,12 ml, 0,12 mmoles) a temperatura ambiente a una solución en tetrahidrofurano (1,2 ml) del Compuesto 27 (45 mg, 0,06 mmoles), y la mezcla se agitó durante 10 minutos. El disolvente se separó mediante destilación bajo presión reducida, y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (n-hexano: acetato de etilo = 1:1) para obtener el Compuesto 28 (31 mg, 100%) en forma de un sólido blanco.

25 [Ecuación 27]

P. de f. 148 - 150 °C. $^1\text{H-NMR}$ (piridina- d_5) δ : 1,94 (3H, s); 4,08 (1H, AB, J = 13 Hz); 4,23 (1H, AB, J = 12 Hz); 4,30 (1H, AB, J = 12 Hz); 4,73 (1H, AB, J = 13 Hz); 5,21 (1H, AB, J = 16 Hz); 6,28 (1H, d, J = 3 Hz); 5,42 (1H, AB, J = 16 Hz); 5,42 (1H, d, J = 3 Hz); 6,61 (1H, s); 6,95 - 7,00 (1H, m); 7,27 - 7,36 (4H, m); 7,45 - 7,54 (3H, m); 7,73 (1H, s); 8,54 - 8,56 (2H, m).

30 [Ejemplo 2] Síntesis y purificación de análogos de oligonucleótidos.

(1) Síntesis de oligonucleótidos modificados con 2',4'-BNA^{NC}.

35 Análogos de oligonucleótidos (1) a (22) que contienen unidades de monómero 2',4'-BNA^{NC} se sintetizaron mediante un sintetizador automático de ácidos nucleicos Expedite™ 8909 (ABI) en una escala de 0,2 mmoles de acuerdo con un protocolo de fósforoamidita estándar. El tiempo de acoplamiento para la amidita y el grupo hidroxilo 5'-terminal se ajustó en 94 segundos para la amidita de nucleósido natural y en 300 segundos para las amiditas 2',4'-BNA^{NC} (16, 17 y 21).

40 Para los oligonucleótidos modificados con 2',4'-BNA^{NC} que tienen el terminal 5' protegido con un grupo DMTr y soportados en una fase sólida, se llevó a cabo la eliminación (1,5 h) desde una columna usando amoníaco acuoso al 28%. Los análogos de oligonucleótidos separados se hicieron reaccionar durante 16 horas a 60 °C en amoníaco acuoso al 28% para la desprotección de todos los grupos protectores.

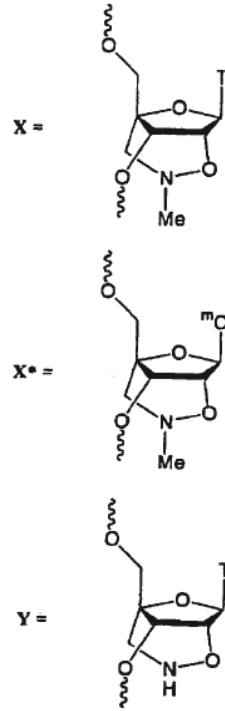
Se llevó a cabo la purificación simple mediante una columna NAP-10, y las correspondientes fracciones obtenidas se sometieron a análisis de UV.

45 Basándose en los resultados de las medidas con UV, las fracciones que contienen oligo se liofilizaron, y los materiales liofilizados se purificaron adicionalmente mediante HPLC en fase inversa (columna WakoPak® WS-DNA, 10,0 mm x 250 mm) (condiciones: elución en gradiente con 8 a 16% de acetonitrilo durante 30 minutos a una velocidad de 3 ml/min en tampón de acetato de trietilamonio 0,1 M (pH 7,0)). La pureza de los análogos de oligonucleótidos sintéticos se confirmó mediante HPLC en fase inversa (columna WakoPak® WS-DNA, 4,6 mm x 250 mm) (condiciones: elución en gradiente con 8 a 16% de acetonitrilo durante 30 minutos a una velocidad de 1 ml/min en tampón de acetato de trietilamonio 0,1 M (pH 7,0)). Los pesos moleculares se determinaron mediante la medida de MALDI-TOF-MASS.

50 Los análogos de oligonucleótidos sintéticos (1) a (22) se indican a continuación.

[Fórmula química 7]

- ① 5'-GCGTTXTTTGCT-3'
- ② 5'-GCGTTXTXTGCT-3'
- ③ 5'-GCGXTXTXTGCT-3'
- ④ 5'-GCGTTXXXGCT-3'
- ⑤ 5'-GCGXXXXXXGCT-3'
- ⑥ 5'-TTTT^mCTXT^mCT^mCT^mCT-3'
- ⑦ 5'-TTTTX^mCTXT^mCX^mCT^mCT-3'
- ⑧ 5'-TTTT^mCXXX^mCT^mCT^mCT-3'
- ⑨ 5'-XTXTX^mCXTX^mCX^mCX^mCT-3'
- ⑩ 5'-TXTTX^mCTXT^mCX^mCTX^mT-3'
- ⑪ 5'-XTTTX^mCTTX^mCT^mCX^mCT-3'
- ⑫ 5'-TTTTTTTTXT-3'
- ⑬ 5'-GCGTTYTTTGCT-3'
- ⑭ 5'-GCGTTYTYTGCT-3'
- ⑮ 5'-GCGYTYTYTGCT-3'
- ⑯ 5'-GCGTTYYYTGCT-3'
- ⑰ 5'-GCGYYYYYTGCT-3'
- ⑱ 5'-TTTT^mCTYT^mCT^mCT^mCT-3'
- ⑲ 5'-TTTTY^mCTYT^mCY^mCT^mCT-3'
- ⑳ 5'-TTTT^mCYYY^mCT^mCT^mCT-3'
- (21) 5'-YTYTY^mCYYY^mCY^mCY^mCT-3'
- (22) 5'-TTTTTTTTYT-3'



Las cantidades y rendimientos de los oligonucleótidos modificados con 2',4'- BNA^{NC} obtenidos se muestran a continuación.

[Tabla 1]

Oligonucleótido	Cantidad obtenida (nmoles)	Rendimiento (%)
① 5'-GCGTTXTTTGCT-3'	94.91	47.5
② 5'-GCGTTXTXTGCT-3'	118.67	59.3
③ 5'-GCGXTXTXTGCT-3'	126.12	63.1
④ 5'-GCGTTXXXGCT-3'	66.94	33.5
⑤ 5'-GCGXXXXXXGCT-3'	99.40	49.7
⑥ 5'-TTTT ^m CTXT ^m CT ^m CT ^m CT-3'	72.44	36.2
⑦ 5'-TTTTX ^m CTXT ^m CX ^m CT ^m CT-3'	61.07	30.6
⑧ 5'-TTTT ^m CXXX ^m CT ^m CT ^m CT-3'	60.40	30.2
⑨ 5'-XTXTX ^m CXTX ^m CX ^m CX ^m CT-3'	41.60	20.8
⑩ 5'-TXTTX ^m CTXT ^m CX ^m CTX ^m T-3'	25.40	12.7
⑪ 5'-XTTTX ^m CTTX ^m CT ^m CX ^m CT-3'	81.80	40.9
⑫ 5'-TTTTTTTTXT-3'	100.13	50.1

5

Además, los resultados de la medida por MALDI-TOF MS de los oligonucleótidos sintéticos modificados con 2',4'- BNA^{NC} se tabulan a continuación.

[Tabla 2]

Oligonucleótidos	Calculado para (M-H) ⁻	(M-H) ⁻ encontrado
① 5'-GCGTTXTTGGCT-3'	3689.47	3688.52
② 5'-GCGTTXTXGCT-3'	3746.52	3746.89
③ 5'-GCGXTXTXGCT-3'	3803.57	3804.93
④ 5'-GCGTXXXGCT-3'	3803.57	3803.18
⑤ 5'-GCGXXXXGCT-3'	3974.73	3975.31
⑥ 5'-TTTT ^m CTXT ^m CT ^m CT ^m CT-3'	4553.11	4552.67
⑦ 5'-TTTTX ^m CTXT ^m CX ^m CT ^m CT-3'	4667.21	4667.36
⑧ 5'-TTTT ^m CXXX ^m CT ^m CT ^m CT-3'	4667.21	4666.86
⑨ 5'-XTXTX ^m CXTX ^m CX ^m CX ^m CT-3'	4895.42	4896.42
⑩ 5'-TXTTX ^m CTXT ^m CX ^m CTX ^m T-3'	4781.32	4781.18
⑪ 5'-XTTTX ^m CTTX ^m CT ^m CX ^m CT-3'	4724.26	4723.73
⑫ 5'-TTTTTTTTXT-3'	3036.06	3036.36
⑬ 5'-GCGTTYTTGGCT-3'	3675.44	3675.80
⑭ 5'-GCGTTYTYGGCT-3'	3718.47	3717.15
⑮ 5'-GCGYTYTYGGCT-3'	3761.49	3762.64
⑯ 5'-GCGTTYYYGGCT-3'	3761.49	3761.24
⑰ 5'-GCGYYYYYGGCT-3'	3890.57	3890.62
⑱ 5'-TTTT ^m CTYT ^m CT ^m CT ^m CT-3'	4539.08	4540.11
⑲ 5'-TTTTY ^m CTYT ^m CY ^m CT ^m CT-3'	4625.13	4625.74
⑳ 5'-TTTT ^m CYYY ^m CT ^m CT ^m CT-3'	4625.13	4625.71
(21) 5'-YTYTY ^m CYYY ^m CY ^m CY ^m CT-3'	4797.23	4797.80
(22) 5'-TTTTTTTTYT-3'	3022.03	3021.93

[Ejemplo Experimental 1]. Medida de los puntos de fusión (T_m) de los oligonucleótidos modificados con 2',4'- BNA^{NC} (evaluación de la capacidad formadora de dobles hélices).

5 Los análogos de oligonucleótidos (1) a (5) y (13) a (17) sintetizados en los Ejemplos (es decir, cadenas antisentido), y una cadena sentido de un oligonucleótido de DNA o RNA natural fueron reasociados. Se midieron los puntos de fusión (T_m) de los productos de la reasociación para investigar la capacidad de formación de dobles hélices de las cadenas antisentido.

10 Soluciones de muestra (500 µL) con concentraciones finales de NaCl de 100 mM, tampón fosfato sódico (pH 7,2) 10 mM, cadena antisentido 4 µM, y cadena sentido 4 µM, se sumergieron en agua hirviendo, y se enfriaron a temperatura ambiente en el curso de 10 horas. Se pasó una corriente de nitrógeno a través de una cámara celular de un espectrofotómetro (Beckman, DU-650) para evitar la formación de condensación, y las soluciones de muestra se enfriaron gradualmente hasta 5 °C. Además, las soluciones de muestra se mantuvieron a 10 °C durante 20 minutos y después se comenzaron las medidas. La temperatura se elevó hasta 90 °C a razón de 0,5 °C/min, y se midió la absorción ultravioleta a 260 nm.

15 Los resultados se muestran en las Tablas 3 y 4.

[Tabla 3]

Capacidad de formación de dobles hélices con la cadena de DNA (5'-AGCAAAAACGC-3') (evaluación del valor de T_m): °C

Cadena antisentido	Tm	$\Delta Tm/mod.$
5'-GCGTTTTTTGCT-3'	50	Natural
① 5'-GCGTTXTTTGCT-3'	49	-1
② 5'-GCGTTXTXTGCT-3'	49	-0.5
③ 5'-GCGXTXTXTGCT-3'	51	-0.3
④ 5'-GCGTXXXGCT-3'	50	0
⑤ 5'-GCGXXXXXGCT-3'	61	+1.8
⑬ 5'-GCGTYTTTGCT-3'	51	+1
⑭ 5'-GCGTYTYTGCT-3'	52	+1
⑮ 5'-GCGYTYTYTGCT-3'	55	+1.7
⑯ 5'-GCGTYYYTGCT-3'	57	+2.3
⑰ 5'-GCGYYYYYGCT-3'	73	+3.8

Condiciones: NaCl 100 mM, tampón de Na₂HPO₄ 10 mM (pH 7,2), [cadena] = 4 μ M. Tm era el valor medio de 3 experimentos o más.

[Tabla 4]

- 5 Capacidad de formación de dobles hélices con la cadena de RA (5'-AGCAAAAACGC-3') (evaluación del valor de Tm): °C

Cadena antisentido	Tm	$\Delta Tm/mod.$
5'-GCGTTTTTTGCT-3'	45	Natural
① 5'-GCGTTXTTTGCT-3'	50	+5
② 5'-GCGTTXTXTGCT-3'	56	+5.5
③ 5'-GCGXTXTXTGCT-3'	63	+6
④ 5'-GCGTXXXGCT-3'	59	+4.7
⑤ 5'-GCGXXXXXGCT-3'	80	+5.8
⑬ 5'-GCGTYTTTGCT-3'	51	+6
⑭ 5'-GCGTYTYTGCT-3'	56	+5.5
⑮ 5'-GCGYTYTYTGCT-3'	64	+6.3
⑯ 5'-GCGTYYYTGCT-3'	61	+5.3
⑰ 5'-GCGYYYYYGCT-3'	83	+6.3

Condiciones: NaCl 100 mM, tampón de Na₂HPO₄ 10 mM (pH 7,2), [cadena] = 4 μ M. Tm era el valor medio de 3 experimentos o más.

- 10 Basándose en los hallazgos anteriores, los análogos de nucleótidos de la presente invención tienen una capacidad de formación de doble hélice con un RNA monocatenario (cadena sentido) mucho mayor que su capacidad de formación de dobles hélices con DNA monocatenario (cadena sentido), y se considera que son adecuados para el método antisentido.

[Ejemplo Experimental 2]

- 15 Medida de Tm de oligonucleótidos modificados con 2',4'-BNA^{NC} (evaluación de la capacidad de formación de triples hélices).

- 20 En relación con los análogos de oligonucleótidos (6) a (11) y (18) a (21) sintetizados en los Ejemplos, fue investigada la capacidad de formación de triples hélices los DNAs bicatenarios diana que se indica a continuación, por el mismo método que en el Ejemplo Experimental 1. Las concentraciones de sal y el pH durante la medida cumplían con las condiciones que se describen a continuación de las correspondientes tablas.

Los resultados y las condiciones experimentales se muestran en la Tabla 5.

[Tabla 5-1]

Tabla 5-1. Valores de Tm de oligonucleótidos 2',4'-BNA^{NC} con DNA ds

diana : 5' - d (GCTAAAAAGAAAAGAGAGATCG) - 3'
 3' - d (CGATTTTCTTTCTCTCTAGC) - 5'

Oligonucleótidos	T_m (ΔT_m /modificación) (°C)
5'-TTTT ^m CTTT ^m CT ^m CT ^m CT-3'	33
⑥ 5'-TTTT ^m CTXT ^m CT ^m CT ^m CT-3'	38 (+5.0)
⑦ 5'-TTTT ^m CTXT ^m CX ^m CT ^m CT-3'	47 (+4.6)
⑧ 5'-TTTT ^m CXXX ^m CT ^m CT ^m CT-3'	42 (+3.0)
⑨ 5'-XTXTX ^m CXTX ^m CX ^m CX ^m CT-3'	59 (+3.7)
⑩ 5'-TXTX ^m CTXT ^m CX ^m CTX ^m T-3'	50 (+3.4)
⑪ 5'-XTTX ^m CTTX ^m CT ^m CX ^m CT-3'	45 (+3.0)
⑫ 5'-TTTT ^m CTYT ^m CT ^m CT ^m CT-3'	44 (+11.0)
⑬ 5'-TTTT ^m CTYT ^m CY ^m CT ^m CT-3'	60 (+9.0)
⑭ 5'-TTTT ^m CYYY ^m CT ^m CT ^m CT-3'	59 (+8.7)
(21) 5'-YTYT ^m CYTY ^m CY ^m CY ^m CT-3'	78 (+6.4)

Condiciones: KCl 140 mM, tampón de Na₂HPO₄ 7 mM (pH 7,0), cada cadena 1,5 μM, 5 °C a 90 °C (0,5 °C /min). X[†]: 2', 4'-BNA^{NC} (N-Me).^mC.

[Tabla 5-2]

5 Tabla 5-2. Valores de Tm de oligonucleótidos 2',4'-BNA^{NC} con DNA ds

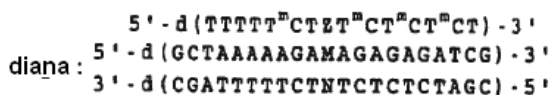
diana : 5' - d (GCTGCTAAAAAGAAAAGAGAGATCGTCTG) - 3'
 3' - d (CGACGATTTTCTTTCTCTCTAGCAGC) - 5'

oligonucleótidos	T_m (ΔT_m /modificación) (°C)
5'-TTTT ^m CTTT ^m CT ^m CT ^m CT-3'	43
⑥ 5'-TTTT ^m CTXT ^m CT ^m CT ^m CT-3'	49 (+6.0)
⑦ 5'-TTTT ^m CTXT ^m CX ^m CT ^m CT-3'	61 (+6.0)
⑧ 5'-TTTT ^m CXXX ^m CT ^m CT ^m CT-3'	54 (+3.6)
⑨ 5'-XTXTX ^m CXTX ^m CX ^m CX ^m CT-3'	>80 (>+5)
⑩ 5'-TXTX ^m CTXT ^m CX ^m CTX ^m T-3'	63 (+4.0)
⑪ 5'-XTTX ^m CTTX ^m CT ^m CX ^m CT-3'	59 (+4.0)
⑫ 5'-TTTT ^m CTYT ^m CT ^m CT ^m CT-3'	55 (+12.0)
⑬ 5'-TTTT ^m CTYT ^m CY ^m CT ^m CT-3'	73 (+10.0)
⑭ 5'-TTTT ^m CYYY ^m CT ^m CT ^m CT-3'	71 (+9.3)
(21) 5'-YTYT ^m CYTY ^m CY ^m CY ^m CT-3'	>80 (>+5)

Condiciones: KCl 140 mM, MgCl₂ 10 mM, tampón de Na₂HPO₄ 7 mM (pH 7,0), cada cadena 1,5 μM, 5 °C a 90 °C (0,5 °C /min). X[†]: 2', 4'-BNA^{NC} (N-Me).^mC.

[Tabla 5-3]

10 Tabla 5-3. Formación de triples hélices selectiva de secuencia de oligonucleótidos 2',4'-BNA^{NC}.



Z	M·N-	$T_m (\Delta T_m = T_{m(\text{mismatch})} - T_{m(\text{match})}) (^{\circ}\text{C})$			
		A·T	G·C	C·G	T·A
natural-T		43	21 (-22)	25 (-18)	18 (-25)
Ⓔ X [2',4'-BNA ^{NC} (N-Me)]		50	24 (-26)	22 (-28)	14 (-36)
Ⓕ Y [2',4'-BNA ^{NC} (N-H)]		55	30 (-25)	28 (-27)	25 (-30)

Condiciones: KCl 140 mM, tampón de fosfato sódico 7 mM (pH 7,0), cada cadena 1,5 μM, 5 °C a 90 °C (0,5 °C /min).
C: 2'-desoxi-5-metilcitosina.

5 Como se muestra en la Tabla 5, se encontró que los análogos de oligonucleótidos (6) a (11) y (18) a (21) de la presente invención tenían una excelente capacidad de formación de triples hélices. Su selectividad de secuencia fue también superior a la de la cadena antisentido natural. Así pues, se cree que son también muy útiles para el método del antígeno.

Ejemplo Experimental 3: Medida de la resistencia a enzimas.

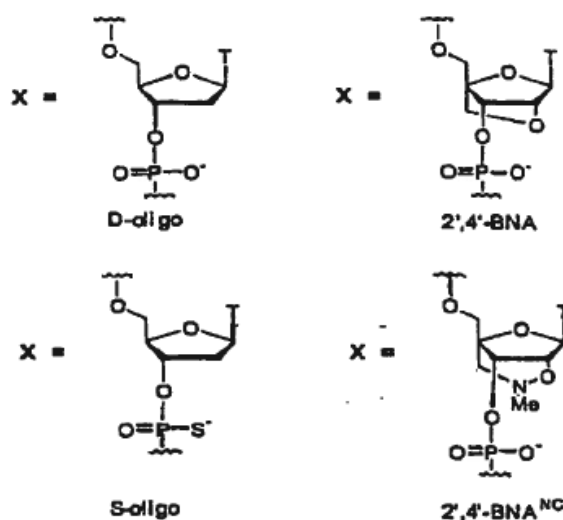
10 Los oligonucleótidos naturales (oligonucleótido de DNA) y no naturales indicados a continuación fueron examinados en relación con la resistencia a la exonucleasa que degrada el oligonucleótido desde el lado 3'.

1) Se añadió cada oligonucleótido y fosfodiesterasa de veneno de serpiente (Boehringer Mannheim) como 3'-exonucleasa, a concentraciones de 25 mg/mL y 0,5 mg/mL, en 400 mL de tampón Tris-HCl 50 mM (pH 8,0) que contenía MgCl₂ 10 mM, y la mezcla se mantuvo a 37 °C.

15 2) Después de un período de tiempo constante, se midió la tasa de supervivencia de cada oligonucleótido, mediante HPLC.

Las secuencias de los oligonucleótidos usados en la medida se indican a continuación.

5'-TTTTTTTTTX-3'



20 en donde, cuando X es un monómero de DNA, el oligonucleótido es un oligonucleótido de DNA completamente natural, y el oligonucleótido que contiene otro análogo de nucleótido es un oligonucleótido parcialmente no natural; además, el análogo de oligonucleótido en el que X es 2',4'-BNA^{NC} (N-Me) es el análogo de oligonucleótido de la presente invención.

Los cambios a lo largo del tiempo en las tasas de supervivencia de los oligonucleótidos respectivos, medidos mediante HPLC, se muestran en la Tabla 6 y la Fig. 1.

En la Tabla 6 y la Fig. 1, "% de oligonucleótido intacto" se refiere a la tasa de supervivencia (%) (determinación mediante HPLC) del oligonucleótido no degradado a los valores del tiempo de medida, respecto de la del oligonucleótido no degradado a un valor del tiempo 0.

[Tabla 6]

5 Evaluación de la resistencia a la enzima.

oligonucleótido	% de oligonucleótido intacto					
	0min	5min	10min	20min	40min	90min
D-oligo	100	0	0	0	0	0
Z',4'-BNA	100	37	24	5	1	0
S-oligo	100	94	92	91	83	70
2',4'-BNA ^{MC}	100	100	99	98	94	80

Los resultados de la Tabla 6 y la Fig. 1 indican que el análogo de oligonucleótido de la presente invención tenía una excelente resistencia a la enzima en comparación con los oligonucleótidos naturales y otros no naturales.

Lista de secuencias.

<110> Imanishi Takeshi
 <120> Novel Artificial Nucleic Acids of N-O Bond Crosslinkage Type
 <130> I-352-17
 <160> 22

<210> 1
 <211> 12
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> base modificada
 <222>
 <223> Antisentido
 <400> 1

gcgtnnttgct

<210> 2
 <211> 12
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> base modificada
 <222>
 <223> Antisentido
 <400> 2

gcgtnnttgct

<210> 3
 <211> 12
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> base modificada
 <222>
 <223> Antisentido
 <400> 3

gcgntnttgct

<210> 4
 <211> 12
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> base modificada
 <222>

<223> Antisentido

<400> 4

gcglinnntgct

<210> 5

<211> 10

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> base modificada

<222>

<223> Antisentido

<400> 5

gcgannnnngct

<210> 6

<211> 15

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> base modificada

<222>

<223> Antisentido

<400> 6

ttttntntntnt

<210> 7

<211> 15

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> base modificada

<222>

<223> Antisentido

<400> 7

tttntntntnnnt

<210> 8

<211> 15

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> base modificada

<222>

<223> Antisentido

<400> 8

ttttnnnnntnt

<210> 9
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> base modificada
 <222>
 <223> Antisentido
 <400> 9
 ntntnntntnnnnnt

<210> 10
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> base modificada
 <222>
 <223> Antisentido
 <400> 10
 tntntntntnnnt

<210> 11
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> base modificada
 <222>
 <223> Antisentido
 <400> 11
 ntntntntntnnt

<210> 12
 <211> 10
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> base modificada
 <222>
 <223> Antisentido
 <400> 12
 ttntntnt

<210> 13
 <211> 12

<212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> base modificada
 <222>
 <223> Antisentido
 <400> 13
 gcgtntttgct

<210> 14
 <211> 12
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> base modificada
 <222>
 <223> Antisentido
 <400> 14
 gcgtntntgct

<210> 15
 <211> 12
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> base modificada
 <222>
 <223> Antisentido
 <400> 15
 gcgntntntgct

<210> 16
 <211> 12
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial:
 <220>
 <221> base modificada
 <222>
 <223> Antisentido
 <400> 16
 gcgltnnntgct

<210> 17
 <211> 12
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<221> base modificada

<222>

<223> Antisentido

<400> 17

gcgnnnnngct

<210> 18

<211> 15

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> base modificada

<222>

<223> Antisentido

<400> 18

ttttntntntnt

<210> 19

<211> 15

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> base modificada

<222>

<223> Antisentido

<400> 19

tttntntnnnt

<210> 20

<211> 15

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> base modificada

<222>

<223> Antisentido

<400> 20

ttttnnnnntnt

<210> 21

<211> 15

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> base modificada

<222>

<223> Antisentido

<400> 21
ntntnnntnnnnnt

<210> 22

<211> 10

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> base modificada

<222>

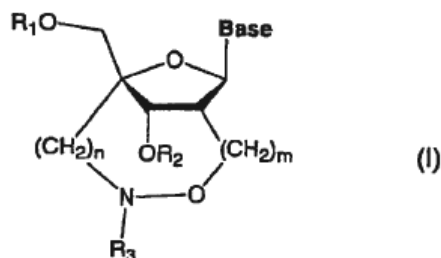
<223> Antisentido

<400> 22

ttttttnt

REIVINDICACIONES

1ª. Un compuesto de la fórmula general (I) siguiente y una sal del mismo:



5 en la que Base representa un grupo heterocíclico aromático o un grupo de anillo de hidrocarburo aromático que tiene opcionalmente un sustituyente,

R₁ y R₂ son iguales o diferentes, y cada uno de ellos representa un átomo de hidrógeno, un grupo protector para un grupo hidroxilo para la síntesis de ácido nucleico, un grupo alquilo, un grupo alquenoilo, un grupo cicloalquilo, un grupo arilo, un grupo aralquilo, un grupo acilo, un grupo sulfonilo, un grupo sililo, un grupo fosfato, un grupo fosfato protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, o -P(R₄)R₅ [en donde R₄ y R₅ son iguales o diferentes, y cada uno de ellos representa un grupo hidroxilo, un grupo hidroxilo protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo mercapto, un grupo mercapto protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo amino, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alquiltio que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo cianoalcoxi tiene de 1 a 6 átomos de carbono, o un grupo amino sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono],

15 R₃ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquenoilo, un grupo cicloalquilo, un grupo arilo, un grupo aralquilo, un grupo acilo, un grupo sulfonilo, o un sustituyente de unidad de molécula funcional, y

m indica un número entero de 0 a 2, y n indica un número entero de 1 a 3.

2ª. El compuesto y las sales del mismo según la reivindicación 1ª, en el que R₁ es un átomo de hidrógeno, un grupo acilo alifático, un grupo acilo aromático, un grupo sulfonilo alifático o aromático, un grupo metilo sustituido con uno a tres grupos arilo, un grupo metilo sustituido con uno a tres grupos arilo que tienen un anillo de arilo sustituido con un grupo alquilo inferior, alcoxi inferior, halógeno, o ciano, o un grupo sililo.

3ª. El compuesto y la sal del mismo según la reivindicación 1ª, en el que R₁ es un átomo de hidrógeno, un grupo acetilo, un grupo benzoílo, un grupo metanosulfonilo, un grupo p-toluenosulfonilo, un grupo bencilo, un grupo p-metoxibencilo, un grupo tritilo, un grupo dimetoxitritilo, un grupo monometoxitritilo, o un grupo terc-butildifenilsililo.

4ª. El compuesto y las sales del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 3ª, en el que R₂ es un átomo de hidrógeno, un grupo acilo alifático, un grupo acilo aromático, un grupo sulfonilo alifático o aromático, un grupo metilo sustituido con uno a tres grupos arilo, un grupo metilo sustituido con uno a tres grupos arilo que tienen un anillo de arilo sustituido con un grupo alquilo inferior, alcoxi inferior, halógeno o ciano, un grupo sililo, un grupo fósforoamidita, un grupo fosfonilo, un grupo fosfato, o un grupo fosfato protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico.

5ª. El compuesto y la sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 3ª, en el que R₂ es un átomo de hidrógeno, un grupo acetilo, un grupo benzoílo, un grupo metanosulfonilo, un grupo p-toluenosulfonilo, un grupo bencilo, un grupo p-metoxibencilo, un grupo terc-butildifenilsililo, -P(OC₂H₄CN) (N (i-Pr)₂), -P(OCH₃) (N (i-Pr)₂), un grupo fosfonilo, o un grupo 2-clorofenil- o 4-clorofenil-fosfato.

6ª. El compuesto y la sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 5ª, en el que R₅ es un átomo de hidrógeno, un grupo fenoxiacetilo, un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alquenoilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo arilo que tiene de 6 a 14 átomos de carbono, un grupo metilo sustituido con uno a tres grupos arilo, un grupo sulfonilo alifático inferior o aromático tal como un grupo metanosulfonilo, o un grupo p-toluenosulfonilo, un grupo acilo alifático que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, tal como un grupo acetilo, o un grupo acilo aromático tal como un grupo benzoílo.

7ª. El compuesto y la sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 6ª, en el que el sustituyente de la unidad de molécula funcional como R₃ es una molécula de marcaje fluorescente o quimioluminiscente, un grupo funcional con actividad de incisión de ácido nucleico, o un péptido señal de transferencia nuclear o intracelular.

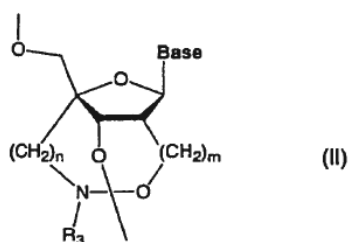
8^a. El compuesto y la sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1^a a 7^a, en el que Base es un grupo purin-9-ilo, un grupo 2-oxopirimidin-1-ilo, o un grupo purin-9-ilo o un grupo 2-oxopirimidin-1-ilo que tienen un sustituyente elegido entre el siguiente grupo α :

grupo α : un grupo hidroxilo, un grupo hidroxilo protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo mercapto, un grupo mercapto protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo alquilitio que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo amino sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, y un átomo de halógeno.

9^a. El compuesto y la sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1^a a 8^a, en el que Base es 6-aminopurin-9-ilo (es decir, adeninilo), 6-aminopurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 2, 6-diaminopurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo (es decir, guaninilo), 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 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-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, citosinilo), 2-oxo-4-amino-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 4-amino-2-oxo-5-cloro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-metoxi-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-mercapto-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-hidroxi-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, uracililo), 2-oxo-4-hidroxi-5-metil-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, timinilo), 4-amino-5-metil-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, 5-metilcitosinilo), o 4-amino-5-metil-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico.

10^a. El compuesto y la sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1^a a 9^a, en el que m es 0, y n es 1.

11^a. Un análogo de oligonucleótido, como un análogo de oligonucleótido de DNA o de oligonucleótido de RNA, que contiene uno, o dos, o más de uno o más tipos de estructuras unitarias de los análogos de nucleósidos representados por la fórmula general (II) que sigue, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo, siempre y cuando una forma de unión entre respectivos nucleósidos en el análogo de oligonucleótido pueda contener uno, o dos, o más enlaces fosforotioato [-OP(O)(S⁻)O-] aparte de un enlace fosfodiéster [-OP(O₂⁻)O-] idéntico al de un ácido nucleico natural, y, si están contenidos dos o más de uno o más tipos de estas estructuras, el grupo Base puede ser igual o diferente entre estas estructuras



en la que Base representa un grupo heterocíclico aromático o un grupo de anillo de hidrocarburo aromático que tiene opcionalmente un sustituyente,

R₃ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquenoilo, un grupo cicloalquilo, un grupo arilo, un grupo aralquilo, un grupo acilo, un sulfonilo, un grupo sililo, o un sustituyente de unidad de molécula funcional, y

m indica un número entero de 0 a 2, y n indica un número entero de 1 a 3.

12^a. El análogo de oligonucleótido o la sal farmacológicamente aceptable del mismo, según la reivindicación 11^a, en el que R₃ es un átomo de hidrógeno, un grupo fenoxiacetilo, un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alquenoilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo arilo que tiene de 6 a 14 átomos de carbono, un grupo metilo sustituido con uno a tres grupos arilo, un grupo sulfonilo alifático inferior o aromático tal como un grupo metanosulfonilo o un grupo p-toluenosulfonilo, un grupo acilo alifático que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, tal como un grupo acetilo, o un grupo acilo aromático tal como un grupo benzoilo.

13^a. El análogo de oligonucleótido o la sal del mismo aceptable farmacológicamente, según una cualquiera de las reivindicaciones 11^a a 12^a, en el que el sustituyente de unidad de molécula funcional como R₃ es una molécula

de marcaje fluorescente o quimioluminiscente, un grupo funcional con actividad de incisión de ácido nucleico, o un péptido señal de transferencia intracelular o nuclear.

14^a. El análogo de oligonucleótido o la sal del mismo aceptable farmacológicamente, según una cualquiera de las reivindicaciones 11^a a 13^a, en el que Base es un grupo purin-9-ilo, un grupo 2-oxopirimidin-1-ilo, o un grupo purin-9-ilo o un grupo 2-oxopirimidin-1-ilo que tiene un sustituyente elegido entre el grupo α que sigue:

grupo α : un grupo hidroxilo, un grupo hidroxilo protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo mercapto, un grupo mercapto protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo alquiltio que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, un grupo amino sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, y un átomo de halógeno.

15^a. El análogo de oligonucleótido o la sal del mismo aceptable farmacológicamente, según una cualquiera de las reivindicaciones 11^a a 14^a, en el que Base es el 6-aminopurin-9-ilo (es decir adeninilo), 6-aminopurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 2,6-diaminopurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo, 2-amino-6-cloropurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo, 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo, 2-amino-6-bromopurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo (es decir, guaninilo), 2-amino-6-hidroxipurin-9-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 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-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, citosinilo), 2-oxo-4-amino-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 2-oxo-4-amino-5-fluoro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, un grupo 2-oxo-4-amino-5-fluoro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico, 4-amino-2-oxo-5-cloro-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-metoxi-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-mercapto-1,2-dihidropirimidin-1-ilo, 2-oxo-4-hidroxi-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, uracililo), 2-oxo-4-hidroxi-5-metil-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, timinilo), 4-amino-5-metil-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-1-ilo (es decir, 5-metilcitosinilo), o 4-amino-5-metil-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-1-ilo que tiene el grupo amino protegido con un grupo protector para la síntesis de ácido nucleico.

16^a. El análogo de oligonucleótido o la sal del mismo aceptable farmacológicamente, según una cualquiera de las reivindicaciones 11^a a 15^a, en el que m es 0, y n es 1.

Fig. 1

Evaluación de la resistencia a la enzima
(oligonucleótido 2',4'-BNA^{NC}, SVPDE 0.5 µg/ml)

