

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 607 603**

51 Int. Cl.:

C07F 9/24 (2006.01)

C07D 473/18 (2006.01)

C07F 7/18 (2006.01)

C07F 9/6558 (2006.01)

C07F 9/6561 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.09.2011 PCT/JP2011/072407**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.04.2012 WO12043730**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.09.2011 E 11829283 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.11.2016 EP 2623507**

54 Título: **Derivado de ácido morfolino nucleico**

30 Prioridad:

30.09.2010 JP 2010220865

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

03.04.2017

73 Titular/es:

**NIPPON SHINYAKU CO., LTD. (100.0%)
14, Kisshoin Nishinosho Monguchicho, Minami-ku
Kyoto-shi Kyoto 601-8550, JP**

72 Inventor/es:

UEDA, TOSHIHIRO

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 607 603 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

Derivado de ácido morfolino nucleico

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a la materia objeto de acuerdo con las reivindicaciones.

Técnica anterior

10

Una monómero de ácido morfolino nucleico cuya resto de base es una guanina (en lo sucesivo denominado "comonomero G") tiene un átomo de oxígeno unido al átomo de carbono de la posición 6 de la guanina. Por consiguiente, cuando se sintetiza un oligómero de ácido morfolino nucleico usando un monómero G cuyo grupo hidroxilo de la posición 6 de la guanina no está protegido, tiene lugar una reacción secundaria. Por ejemplo, en un proceso de condensación, el grupo hidroxilo de la posición 6 de la guanina puede reaccionar con el sitio activado de otro monómero de ácido morfolino nucleico para generar una forma fosforilada, que después puede reaccionar con amoníaco usado en un proceso de desprotección, dando como resultado una conversión desde guanina hasta diaminopurina. Dicha reacción secundaria sirve como causa sustancial de reducción del rendimiento de síntesis de una sustancia deseada.

20

Con el fin de evitar la reacción secundaria anteriormente mencionada, AVI BioPharma Inc. presentó un monómero G cuyo grupo hidroxilo de la posición 6 de la guanina está protegido por un grupo pivaloiloxibencilo (grupo POB) (por ejemplo, véase el Documento de Patente 1). No obstante, el grupo POB se convierte durante el proceso de desprotección en 4-metilen-ciclohexan-2,5-dienona, que se añade a un resto NH de la morfolina en el oligómero de ácido morfolino nucleico para formar un sub-producto.

25

Además, el Documento de Patente 1 incluye una descripción de otros grupos protectores para el grupo hidroxilo de la posición 6 de la guanina. Dichos otros grupos protectores divulgados en el Documento de Patente 1 incluyen, por ejemplo, 4-nitrofenetilo, fenilsulfonietilo y metilsulfonietilo. Estos grupos protectores, no obstante, experimentan conversión durante el proceso de desprotección de las especies reactivas tales como 4-nitroestireno, que se añade a un resto NH del oligómero de morfolina o ácido morfolino nucleico para formar un sub-producto. Mientras que también se conoce un grupo protector de tipo sililo tal como t-butildimetilsililo, se ha presentado que experimenta una reacción secundaria similar a la del monómero G cuyo grupo hidroxilo de la posición 6 de la guanina no está protegido, ya que no es estable y tiende a escindirarse fácilmente en condiciones de síntesis del oligómero de ácido morfolino nucleico. Además, también se conocen un grupo protector de tipo éter fenílico y un grupo protector de tipo carbamato, pero se presenta, con respecto a estos grupos protectores, que un desligado del grupo protector resulta imperfecto en el proceso de desprotección o que la eficiencia de condensación se vuelve peor en el proceso de condensación.

30

35

40 Documentos de la técnica anterior

Documentos de patente

Documento de Patente 1 WO 2009/064471 A1

45

Sumario de la invención

Problema a solucionar por medio de la invención

50

Un objetivo principal de la invención es proporcionar un nuevo derivado de ácido morfolino nucleico para sintetizar un oligómero de ácido morfolino nucleico de manera eficiente y un material de partida de este derivado.

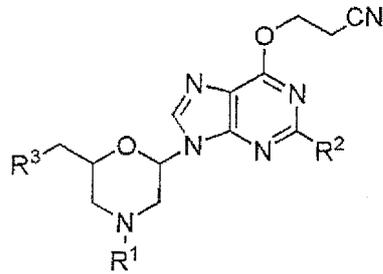
Medios para solucionar el problema

55

Los solicitantes han descubierto que un compuesto representado por medio de la siguiente fórmula general (1) (en lo sucesivo denominado como "compuesto de la invención") o una de sus sales es útil como material de partida para la síntesis de un oligómero de ácido morfolino nucleico o un material de partida para obtener dicho material de partida para la síntesis, estableciendo de este modo la presente invención.

60

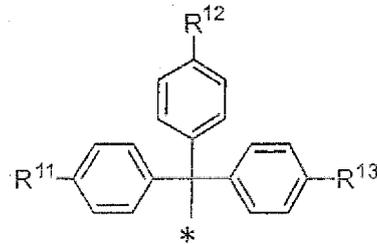
[C.1]



(1)

5 en la que R¹ representa hidrógeno o un grupo representado por medio de la fórmula general (2) siguiente.

[C.2]

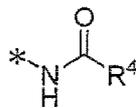


(2)

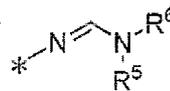
10 en la que * representa la posición de enlace. R¹¹, R¹², R¹³ son iguales o diferentes y representan cada uno de ellos hidrógeno, alquilo o alcoxi.

R² representa un grupo representado por la siguiente fórmula general (3) o (4).

[C.3]



(3)

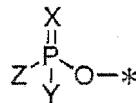


(4)

15 en la que * se define como se ha descrito con anterioridad. R⁴ representa alquilo, arilmetilo o ariloximetilo.

R⁵, R⁶ son iguales o diferentes y cada uno de ellos representa alquilo. R³ representa un grupo hidroxilo que puede estar protegido por trialquilsililo o difenilalquilsililo, o un grupo representado por la siguiente fórmula (5).

[C.4]



(5)

20 en la que * se define como se ha descrito con anterioridad. X representa O o S.

Y representa dialquilamino o alcoxi.

Z representa halógeno.

Los que se pueden poner como ejemplos que engloba la presente invención son los compuestos de la invención o una de sus sales.

A continuación, los términos usados en la presente memoria descriptiva se describen con detalle.

5 El alquilo puede incluir un alquilo lineal o ramificado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono. Los ejemplos específicos pueden incluir metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, n-hexilo, isohexilo, n-heptilo, isoheptilo y n-octilo. Entre otros, se prefiere un alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, y se prefiere más un alquilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono.

10 El resto "alquilo" de "trialquilililo", "difenilalquilililo" y "dialquilamino" se pueden ejemplificar por sí mismos como el "alquilo" anterior.

15 El resto "arilo" o "arilmetilo", "ariloximetilo" y "arilsulfonilo" puede incluir un arilo que tiene de 6 a 10 átomos de carbono. Los ejemplos específicos pueden incluir fenilo, 1-naftilo y 2-naftilo. Entre otros, se prefiere fenilo.

El alcoxi puede incluir un alcoxi lineal o ramificado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono. Tal como metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, isobutoxi, sec-butoxi, terc-butoxi, n-pentiloxi, n-hexiloxi, n-heptiloxi y n-octiloxi.

20 El halógeno puede incluir flúor, cloro, bromo y yodo. Entre otros, se prefiere cloro.

25 El acilo puede incluir un alcanoililo o aroílilo lineal o ramificado. Los ejemplos de alcanoililo pueden incluir formilo, acetilo, 2-metilacetilo, 2,2-dimetilacetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, pentanoílilo, 2,2-dimetilpropionilo y hexanoílilo. Los ejemplos de aroílilo pueden incluir benzoílilo, toluoililo y naftoililo. Opcionalmente, el aroílilo puede estar sustituido en posiciones aptas para sustitución y puede estar sustituido por un alquilo(s).

30 La nucleobase puede incluir adenina, guanina, hipoxantina, citosina, timina, uracilo y sus bases modificadas. Los ejemplos de dichas nucleobases modificadas pueden incluir, pero sin limitación, seudouracilo, 3-metiluracilo, dihidouracilo, 5-alquilcitosinas (por ejemplo, 5-metilcitosina), 5-alquiluracilos (por ejemplo, 5-etiluracilo), 5-halouracilos (5-bromouracilo), 6-aza-pirimidina, 6-alquilpirimidinas (6-metiluracilo), 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 4-acetilcitosina, 5-(carboxihidroximetil)uracilo, 5'-carboximetilaminometil-2-tiouracilo, 5-carboximetilaminometiluracilo, 1-metiladenina, 1-metilhipoxantina, 2,2-dimetilguanina, 3-metilcitosina, 2-metiladenina, 2-metilguanina, N⁶-metiladenina, 7-metilguanina, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, 5-metilaminometiluracilo, 5-metilcarbonilmetiluracilo, 5-metiloxiuracilo, 5-metil-2-tiouracilo, 2-metiltio-N⁶-isopenteniladenina, ácido uracil-5-oxiacético, purina, 2,6-diaminopurina, 2-aminopurina, isoguanina, indol, imidazol y xantina.

35 Entre el compuesto de la invención, se prefiere el siguiente compuesto (a) a (c) o una de sus sales.

40 (a) N⁹-[(2R, 6S)-6-((terc-butildimetilsililoxi)metil)-4-tritilmorfolin-2-il]-N²-(fenoxiacetil)-O⁶-(2-cianoetil)guanina,
(b) N⁹-[(2R,)-hidroximetil-4-tritilmorfolin-2-il]-N²-(fenoxiacetil)-O⁶-(2-cianoetil)guanina,
(c) dimetilfosforamidoclorhidato de [(2S, 6R)-6-{N²-(fenoxiacetil)-O⁶-(2-cianoetil)guanin-9-il}-4-tritilmorfolin-2-il]metilo

45 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra un diagrama cromatográfico de HPLC de un oligómero bruto de ácido morfolino nucleico sintetizado usando un monómero CE-G (para definición, véase Tabla 1). Las ordenadas presentan la intensidad (mAU) mientras que las abscisas representan el tiempo de retención (minutos).

50 La Figura 2 muestra un diagrama cromatográfico de HPJC de un oligómero bruto de ácido morfolino nucleico sintetizado usando un monómero POB-G (para definición, véase la Tabla 1). Las ordenadas representan la intensidad (mAU), mientras que las abscisas representan el tiempo de retención (minutos).

La Figura 3 muestra un diagrama espectral MS de un oligómero bruto de ácido morfolino nucleico sintetizado usando un monómero CE-G. Las ordenadas representan la intensidad iónica (a.u.), mientras que las abscisas representan la relación masa-carga (m/z).

55 La Figura 4 muestra un diagrama espectral MS de un oligómero bruto de ácido morfolino nucleico sintetizado usando un monómero POB-G. Las ordenadas representan la intensidad iónica (a.u.) y las abscisas representan la relación masa-carga (m/z).

60 Descripción de las realizaciones

A continuación se describen las realizaciones de la presente invención.

65 En el siguiente método de producción, cuando un material de partida tiene un sustituyente que ejerce influencia en la reacción (por ejemplo, hidroxilo, amino, carboxilo), normalmente se lleva a cabo la reacción tras la protección preliminar del material de partida con un grupo protector apropiado de acuerdo con un método conocido. El grupo protector se puede escindir finalmente de acuerdo con cualquier método conocido tal como hidrogenación catalítica, tratamiento

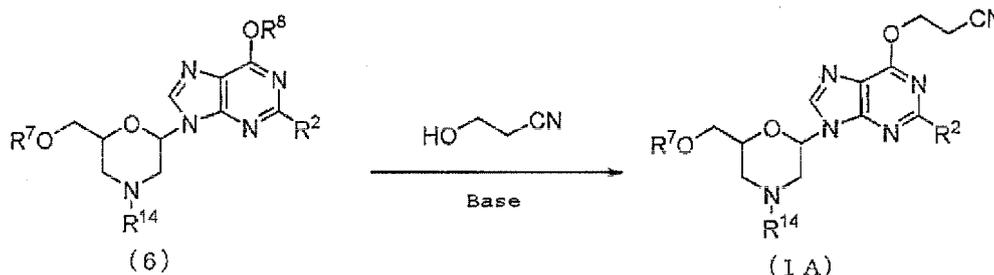
alcalino, tratamiento ácido.

Método de producción del compuesto de la invención

- 5 El compuesto de la invención se puede producir a partir de un compuesto conocido o un intermedio que se produce fácilmente, por ejemplo por medio del Método de Producción 1 al Método de Producción 3 mostrados a continuación.

Método de producción 1: Cuando R³ es trialquilsililo o difenilalquilsililo

[C. 5]



10

en la que R² se define como se descrito con anterioridad.

R⁷ representa trialquilsililo o difenilalquilsililo.

R⁸ representa un arilsulfonilo que puede estar sustituido por 1 a 3 alquilo.

- 15 R¹⁴ representa el grupo representado por medio de la Fórmula (2) anteriormente mencionada.

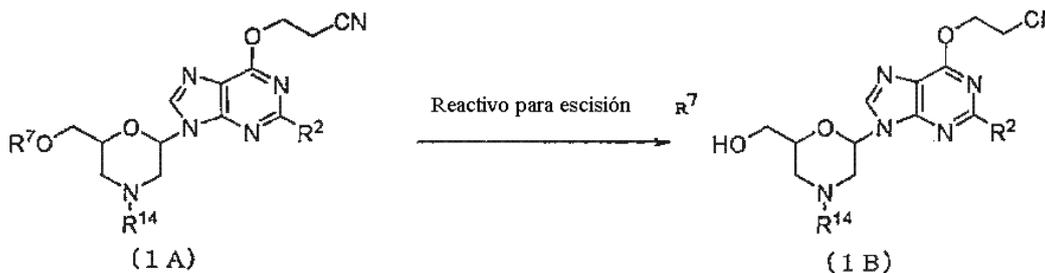
Esta reacción comprende un producto de condensación del Compuesto (6) con 2-cianoetanol, y esto se puede llevar a cabo de acuerdo con un método conocido de por sí.

- 20 La cantidad de 2-cianoetanol a usar está, de manera apropiada, dentro del intervalo de 1 mol a 20 moles por 1 mol del Compuesto (6), preferentemente dentro del intervalo de 1,2 moles a 10 moles por cada 1 mol del Compuesto (6). El disolvente que se usa no está particularmente limitado con tal de que sea inerte para la reacción, y puede incluir, por ejemplo, acetonitrilo, diclorometano y N,N-dimetilformamida así como sus mezclas. Se prefiere especialmente diclorometano. La "base" que se puede usar en esta etapa incluye, por ejemplo, N-metilpirrolidina y 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno así como también sus mezclas. La cantidad de base a usar está, de manera apropiada, dentro del intervalo de 1 a 20 moles por 1 mol del Compuesto (6), preferentemente dentro del intervalo de 1 mol a 10 moles por 1 mol del Compuesto (6). La temperatura de reacción está, de manera apropiada, dentro del intervalo de 0 °C a 150 °C. Aunque el tiempo de reacción varía dependiendo del tipo de material de partida usado y la temperatura de reacción, está, de manera apropiada, dentro de un intervalo de 1 hora a 30 horas.

- 30 El Compuesto (6) como compuesto de partida se puede producir de acuerdo con el método descrito en la sección para preparar el Compuesto 4 del Ejemplo 1 en el documento WO 2009/064471.

Método de producción 2: cuando R³ es hidroxilo

[C. 6]



35

en la que R², R⁷ y R¹⁴ son como se ha descrito con anterioridad.

Esta reacción comprende una reacción para escindir R⁷ del Compuesto (1A), y esto se puede llevar a cabo de acuerdo con un método conocido de por sí.

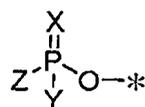
5 Un "reactivo para escindir R⁷" que se puede usar en esta etapa puede incluir, por ejemplo, fluoruro de tetrabutilamonio, una sal de una amina con ácido fluorhídrico o una mezcla de una amina y ácido fluorhídrico en una relación apropiada en un disolvente apropiado.

10 El disolvente apropiado puede incluir, por ejemplo, tetrahidrofurano (THF), acetonitrilo, diclorometano, tolueno, sulfóxido de dimetilo y N,N-dimetilformamida así como también sus mezclas de disolventes. Especialmente, se prefieren THF y diclorometano.

15 Aunque la cantidad del reactivo para escindir R⁷ que se puede usar en esta etapa puede variar dependiendo del tipo de Compuesto (1A), el reactivo para escindir R⁷ a usar, el disolvente a usar, está, de manera apropiada, dentro del intervalo de 1 mol a 10 moles por 1 mol del Compuesto (1A), preferentemente dentro del intervalo de 1,2 moles a 5 moles por 1 mol del Compuesto (1A). La temperatura de reacción está, de manera apropiada, dentro del intervalo de 0 °C a 50 °C. Aunque el tiempo de reacción puede variar dependiendo del tipo de material de partida, la temperatura de reacción, está, de manera apropiada, dentro del intervalo de 1 hora a 30 horas.

20 Método de producción 3: cuando R³ es un grupo representado por la fórmula siguiente (5)

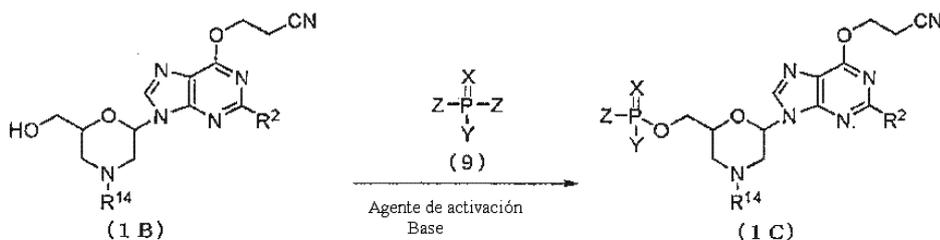
[C. 7]



(5)

en la que X, Y, Z y * son como se descrito con anterioridad.

[C. 8]



25 en la que R², R¹⁴, X, Y e Z se definen como se ha descrito con anterioridad.

30 Esta reacción comprende una reacción de fosforamidación del Compuesto (1B), y esto se puede llevar a cabo de acuerdo con un método conocido de por sí.

El disolvente a usar no está particularmente limitado con tal de que sea inerte para la reacción, y puede incluir, por ejemplo, acetonitrilo, diclorometano y THF.

35 La cantidad del Compuesto (9) que se puede usar en esta etapa está, de manera apropiada, dentro del intervalo de 1 mol a 10 moles por 1 mol del Compuesto (1B), preferentemente dentro del intervalo de 1,2 moles a 5 moles por 1 mol del Compuesto (1B).

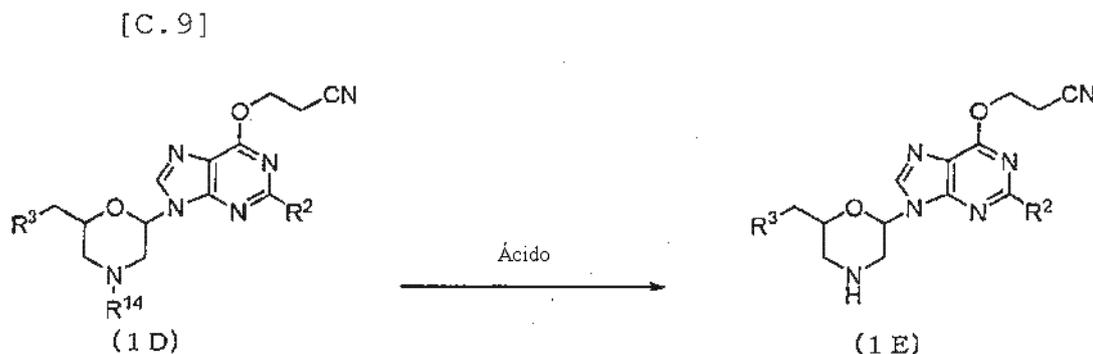
40 El "agente de activación" que se puede usar en esta etapa puede incluir, por ejemplo, 1H-tetrazol, 5-etiltiotetrazol, 4,5-dicloroimidazol, 4,5-dicianoimidazol, N-metilimidazol, 4-dimetilaminopiridina. Se prefiere especialmente N-metilimidazol. La cantidad de "agente de activación" a usar está, de manera apropiada, dentro del intervalo de 0,2 a 3 moles por 1 mol del Compuesto (9), preferentemente dentro del intervalo de 0,5 moles a 2 moles por 1 mol del Compuesto (9).

45 La "base" que se puede usar en esta etapa puede ser por ejemplo N-etilmorfolina. La cantidad de la base a usar está, de manera apropiada, dentro del intervalo de 0,8 moles a 5 moles por 1 mol del Compuesto (9),

preferentemente dentro del intervalo de 1 mol a 3 moles por 1 mol del Compuesto (9). La temperatura de reacción está, de manera apropiada, dentro del intervalo de 0 °C a 80 °C. Aunque el tiempo de reacción puede variar dependiendo del tipo de material de partida, la temperatura de reacción, está, de manera apropiada, dentro del intervalo de 1 hora a 30 horas.

5

Método de producción 4: cuando R¹ es hidrógeno



10 en la que R², R³ y R¹⁴ se definen como se ha descrito con anterioridad.

Esta reacción comprende una reacción para la desprotección de R¹⁴ del Compuesto (1D) y esto se puede llevar a cabo de acuerdo con un método conocido de por sí.

15 El "ácido" que se puede usar en esta etapa, es decir, el "reactivo para escindir R¹⁴" puede incluir, por ejemplo, ácido acético, ácido clorhídrico o ácido fosfórico. La cantidad de ácido o base a usar está, de manera apropiada, dentro del intervalo de 1 mol a 1000 moles por 1 mol del Compuesto (1D), preferentemente dentro del intervalo de 10 moles a 100 moles por 1 mol del Compuesto (1D).

20 El disolvente a usar no está particularmente limitado con tal de que sea inerte para la reacción, y puede incluir, por ejemplo, diclorometano, metanol y agua.

Aunque el tiempo de reacción puede variar dependiendo del tipo de material de partida, la temperatura de reacción, está, de manera apropiada, dentro del intervalo de 0,5 horas a 5 horas.

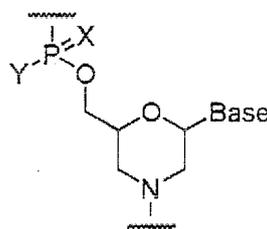
25

Método de producción de oligómero de ácido morfolino nucleico

Un oligómero de ácido morfolino nucleico preferido es un oligómero que tiene un grupo representado por medio de la fórmula siguiente como bloque constitutivo.

30

[C 10]

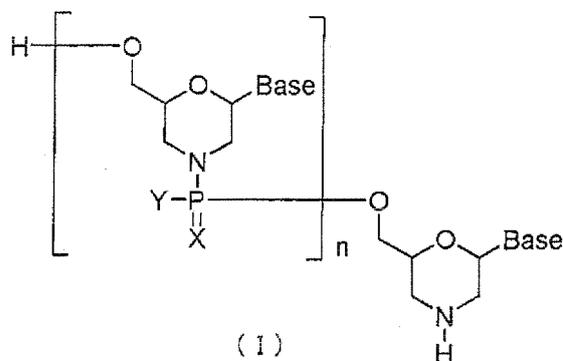


en la que Base representa una base de ácido nucleico. X e Y se definen como se ha descrito con anterioridad.

35 El oligómero de ácido morfolino nucleico se puede producir, por ejemplo, de acuerdo con el método descrito en el documento WO 1991/009033 o el documento WO 2009/064471. Especialmente, el oligómero de ácido morfolino nucleico se puede producir de acuerdo con el método descrito en el documento WO 2009/064471, o se puede producir de acuerdo con el método mostrado a continuación.

40 A modo de realización del oligómero de ácido morfolino nucleico, se puede ejemplificar un compuesto representado por medio de la fórmula siguiente (I) (en lo sucesivo denominado como oligómero (I) de ácido morfolino nucleico).

[C 11]



en la que Base, X e Y se definen como se ha descrito anteriormente; n es un número entero dentro del intervalo de 1 a 99, preferentemente es un número entero dentro del intervalo de 18 a 28.

5 El oligómero (I) de ácido morfolino nucleico se puede producir de acuerdo con un método conocido, y se puede producir, por ejemplo, llevando a cabo los procedimientos de las etapas descritas a continuación.

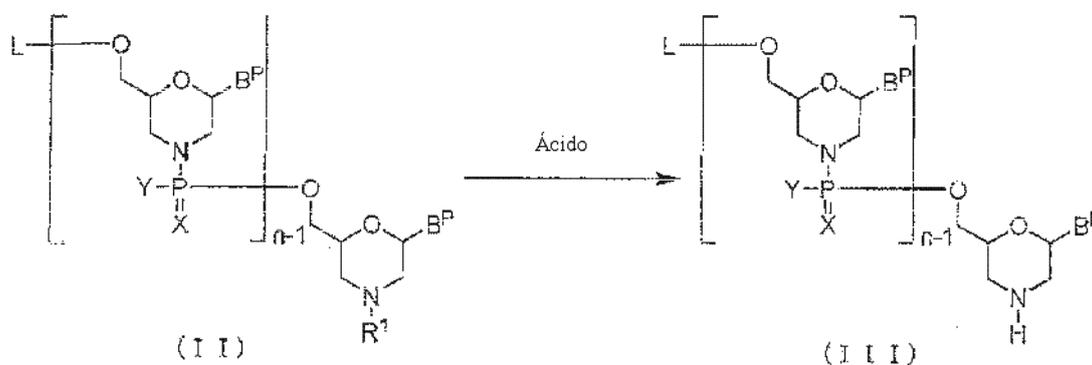
10 Los compuestos y los reactivos a usar en las etapas descritas a continuación no están particularmente limitados con tal de que se usen generalmente en la producción de oligómeros de ácidos morfolino nucleicos.

15 Todas las etapas descritas a continuación se pueden llevar a cabo por medio de métodos de fase líquida o métodos de fase sólida (usando manuales o un sintetizador automático de fase sólida disponible comercialmente). Cuando se produce un oligómero de ácido morfolino nucleico por medio de un método de fase sólida, entonces resulta deseable un método que use un sintetizador automático a la vista de la simplificación de los procedimientos operacionales y la precisión de síntesis.

(1) Etapa A:

20 Una etapa para producir un compuesto representado por la siguiente fórmula (III) (en lo sucesivo denominado Compuesto (III)) permitiendo la actuación de un ácido sobre un compuesto representado por medio de la fórmula (II) siguiente (en lo sucesivo denominado como Compuesto (II)).

[C 12]



25 en la que n, X e Y se definen como se ha descrito con anterioridad;
 B^P representa de forma independiente una base de ácido nucleico que puede estar protegida;
 R¹ representa un grupo tritilo, grupo monometoxitritilo o dimetoxitritilo;
 L representa hidrógeno, acilo o un grupo representado por medio de la fórmula siguiente (IV) (en lo sucesivo denominado "Grupo (IV)").

30

[C 13]



(IV)

5 La "base de ácido nucleico" de acuerdo con B^P puede incluir, por ejemplo, una "base de ácido nucleico" similar a Base. No obstante, el grupo amino o el grupo hidroxilo de la base de ácido nucleico de acuerdo con B^P puede estar protegido.

10 El grupo protector para dicho grupo amino no está particularmente limitado con tal de que se use como grupo protector para un ácido nucleico, y los ejemplos normalmente pueden incluir benzoílo, 4-metoxibenzoílo, acetilo, propionilo, butililo, isobutililo, fenilacetilo, fenoxiacetilo, 4-terc-butilfenoxiacetilo, 4-isopropilfenoxiacetilo, (dimetilamino)metileno. El grupo protector para un grupo hidroxilo puede incluir, por ejemplo, 2-cianoetilo, 4-nitrofenetilo, fenilsulfonietilo, metilsulfonietilo, trimetilsilietilo, fenilo que puede estar sustituido en cualquiera de las posiciones por 1 a 5 grupos de extracción de electrones, difenilcarbamoilo, dimetilcarbamoilo, dietilcarbamoilo, metilfenilcarbamoilo, 1-pirrolidinilcarbamoilo, morfolinocarbamoilo, 4-(terc-butilcarboxi)benzilo, 4-
15 [(dimetilamino)carboxi]benzilo, 4-(fenil-carboxi)benzilo (por ejemplo, véase el documento WO 2009/064471).

Entre estos, se prefiere 2-cianoetilo como grupo protector para el grupo hidroxilo en la posición 6 de la guanina.

20 El "soporte sólido" no está particularmente limitado con tal de que se pueda usar en una reacción de fase sólida de un ácido nucleico, y de manera deseable uno que (i) sea poco soluble en un reactivo que se puede usar en la síntesis de derivados de ácido morfolino nucleico (por ejemplo, diclorometano, acetonitrilo, tetrazol, N-metilimidazol, piridina, anhídrido acético, lutidina, ácido trifluoroacético), (ii) sea estable químicamente frente a un reactivo que se puede usar en la síntesis de derivados de ácido morfolino nucleico, (iii) se pueda modificar químicamente, (iv) permita una carga deseada de un derivado de ácido morfolino nucleico, (v) tenga una resistencia suficiente para tolerar una presión elevada ejercida durante el tratamiento, (vi) tenga una distribución y un intervalo de tamaño de partícula constante. Los ejemplos normalmente pueden incluir poliestireno (por ejemplo, resina de aminometil poliestireno 1 % de reticulación de dibencilbenceno (malla de 200 ~ 400), (2,4 ~ 3,0 mmol/g) (fabricado por Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.), resina de poliestireno aminometilada · HCl [dibencilbenceno 1 %, 100 ~ 200 malla) (fabricado por Peptide Institute Inc.)), poliestireno no apto para hinchamiento (por ejemplo, Primer Support (fabricado por GE Healthcare Ltd.)), poliestireno de tipo unión a cadena-PEG (por ejemplo, resina de NH₂-PEG (fabricada por Watanabe Chemical Industries, Ltd.) resina TentaGel), vidrio de poro controlado (CPG) (por ejemplo, producto CPG), vidrio de poro controlado oxalilado (por ejemplo, véase, Nucleic Acids Research, Vol. 19, 1527 (1991) Alul et al.). soporte derivatizado con aminopolietileno glicol-soporte de TentaGel (por ejemplo, véase, Tetrahedron Letters, Vol. 34, 3373 (1993) Wright et al.), copolímero de poro-poliestireno/divinilbenceno.

40 Como "enlazador", se puede usar cualquiera usado normalmente para enlazar ácidos nucleicos o derivados de ácido morfolino nucleicos, y pueden incluir 3-aminopropilo, succinilo, 2,2-dietanolsulfonilo y alquilamino de cadena larga (LCAA).

Esta etapa se puede llevar a cabo permitiendo que actúe un ácido sobre el Compuesto (II).

45 El "ácido" que se puede usar en esta etapa puede incluir, por ejemplo, ácido trifluoroacético, ácido dicloroacético y ácido tricloroacético. La cantidad de ácido a usar, de manera apropiada, está dentro del intervalo de 0,1 moles a 1000 moles por 1 mol del Compuesto (II), preferentemente dentro del intervalo de 1 mol a 100 moles por 1 mol del Compuesto (II).

50 También es posible usar una amina orgánica junto con el ácido anteriormente mencionado. La amina orgánica no está particularmente limitada y puede incluir, por ejemplo, trietilamina. La cantidad de amina orgánica a usar, de manera apropiada, está dentro del intervalo de 0,01 moles a 10 moles por 1 mol de ácido, preferentemente dentro del intervalo de 0,1 moles a 2 moles por 1 mol de ácido.

55 Cuando se usa una sal o una mezcla de un ácido con una amina orgánica en esta etapa, puede incluir una sal o una mezcla de ácido trifluoroacético con trietilamina, más normalmente una mezcla de 2 equivalentes de ácido trifluoroacético con 1 equivalente de trietilamina.

60 El ácido que se puede usar en esta etapa se puede usar también como diluido con un disolvente apropiado hasta una concentración dentro del intervalo de un 0,1 a un 30 %. El disolvente no está particularmente limitado con tal de que sea inerte para la reacción, y puede incluir diclorometano, acetonitrilo, alcoholes (etanol, isopropanol, trifluoroetanol y similares), agua o sus mezclas.

La temperatura de reacción de la reacción anteriormente mencionada está, por ejemplo, preferentemente dentro del intervalo de 10 °C a 50 °C, más preferentemente dentro del intervalo de 20 °C a 40 °C, más preferentemente dentro del intervalo de 25 °C a 35 °C.

5 Aunque el tiempo de reacción puede variar dependiendo del tipo de ácido a usar y la temperatura de reacción, de manera apropiada, está dentro del intervalo de 0,1 minutos a 24 horas, preferentemente dentro del intervalo de 1 minuto a 5 horas.

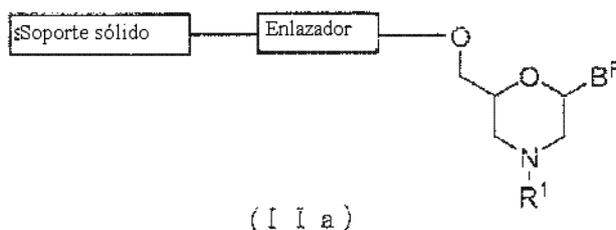
10 Tras completar este proceso, se puede añadir una base si fuese necesario para neutralizar el ácido restante en el sistema. La "base" no está particularmente limitada y puede incluir por ejemplo, diisopropilamina. La base se puede usar diluida con un disolvente apropiado hasta una concentración dentro del intervalo de un 0,1 % (v/v) a 30 % (v/v).

15 El disolvente a usar en esta etapa no está particularmente limitado con tal de que sea inerte a la reacción, y puede incluir diclorometano, acetonitrilo, alcoholes (etanol, isopropanol, trifluoroetanol y similares), agua o sus mezclas. La temperatura de reacción, por ejemplo, está preferentemente dentro del intervalo de 10 °C a 50 °C, más preferentemente dentro del intervalo de 20 °C a 40 °C, más preferentemente dentro del intervalo de 25 °C a 35 °C.

20 Aunque el tiempo de reacción puede variar dependiendo del tipo de base y la temperatura de reacción a usar, de manera apropiada, está dentro del intervalo de 0,1 minutos a 24 horas, preferentemente dentro del intervalo de 1 minuto a 5 horas.

25 Se puede producir un compuesto representado por la siguiente fórmula (IIa) (en lo sucesivo referido como Compuesto (IIa)), en el que n es 1 y L es Grupo (IV) en el Compuesto (II), de acuerdo con el método mostrado a continuación.

[C 14]

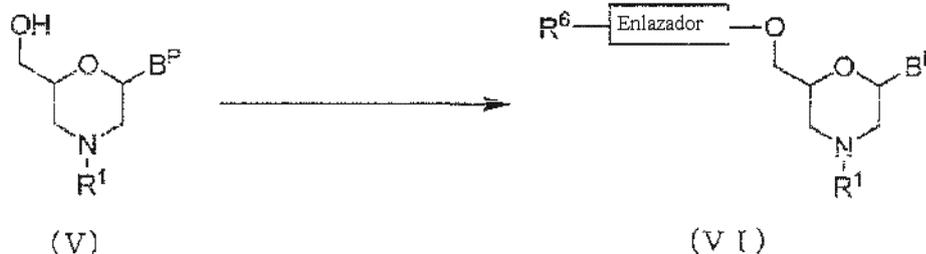


30 en la que B^P, R¹, el enlazador, y un soporte sólido se definen como se ha descrito con anterioridad.

Etapa 1:

35 Una etapa para producir un compuesto representado por medio de la fórmula siguiente (VI) (en lo sucesivo referido como Compuesto (VI)) permitiendo que un agente acilante actúe sobre un compuesto representado por medio de la fórmula siguiente (V).

[C 15]

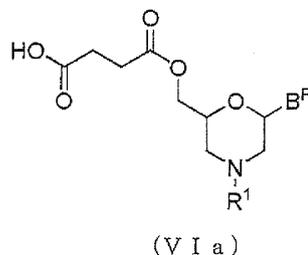


40 en la que B^P, R¹ y el enlazador se definen como se ha descrito con anterioridad; R⁶ representa un grupo hidroxilo, halógeno o amino.

45 Esta etapa se puede llevar a cabo de acuerdo con una reacción conocida de introducción de enlazador usando el Compuesto (V) como material de partida.

Especialmente, se puede producir un compuesto representado por medio de la fórmula siguiente (VIa) de acuerdo con un método conocido como reacción de esterificación usando el Compuesto (V) y anhídrido succínico.

[C 16]

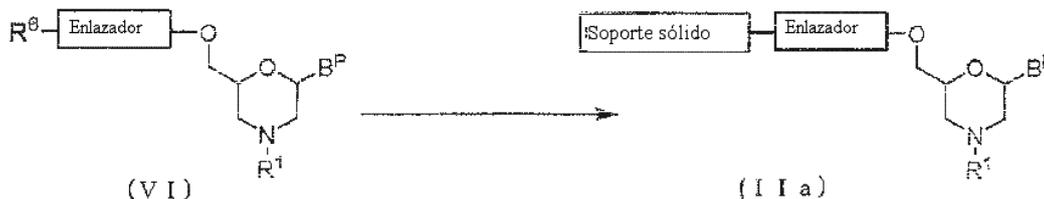


5 en la que B^p y R¹ se definen como se ha descrito con anterioridad.

Etapa 2:

10 Una etapa para producir un Compuesto (IIa) permitiendo que un agente de condensación actúe sobre el Compuesto (VI) y un soporte sólido.

[C 17]



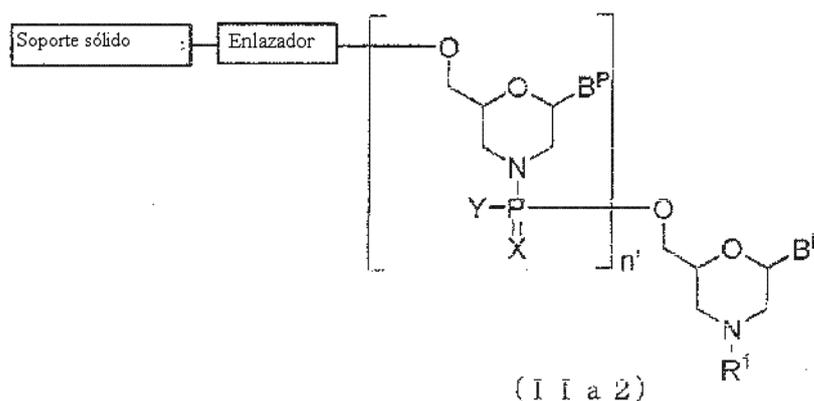
15 en la que B^p, R⁶, R¹, el enlazador y un soporte sólido se definen como se ha descrito con anterioridad.

Esta etapa comprende una reacción de condensación del Compuesto (VI) con una fase sólida y esto se puede llevar a cabo de acuerdo con un método conocido como reacción de condensación.

20 Se puede producir un compuesto representado por medio de la siguiente fórmula (IIa2), en el que n es un número entero dentro del intervalo de 2 a 99 y L es un Grupo (IV) en el Compuesto (II), por medio del uso del Compuesto (IIa) como material de partida, y repitiendo los procesos de la Etapa A y Etapa B, el número de veces deseado, de acuerdo con el método de producción del oligómero de ácido morfolino nucleico descrito en la presente memoria descriptiva.

25

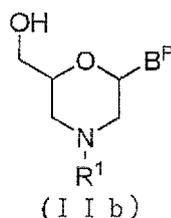
[C 18]



en la que B^P , X, Y, R^1 , el enlazador y el soporte sólido se define como se ha descrito con anterioridad; n' representa un número entero dentro del intervalo de 1 a 98.

5 Se puede producir un compuesto representado por medio de la siguiente fórmula (IIb), en el que n es 1 y L es hidrógeno en el Compuesto (II), por ejemplo de acuerdo con el método descrito en el documento WO 1991/009033.

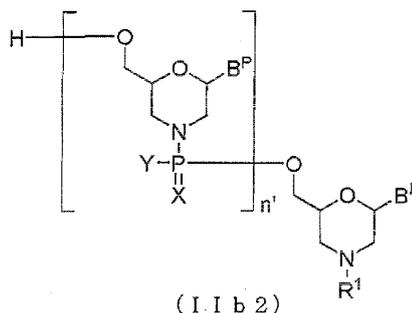
[C 19]



10 en la que B^P y R^1 se definen como se ha descrito con anterioridad.

15 Se puede producir un compuesto representado por medio de la siguiente fórmula (IIb2), en el que n es un número entero dentro del intervalo de 2 a 99 y L es hidrógeno en el Compuesto (II), usando el Compuesto (IIb) como material de partida y repitiendo los procesos de la Etapa A y Etapa B, el número de veces deseado, de acuerdo con el método de producción del oligómero de ácido morfolino nucleico descrito en la presente memoria descriptiva.

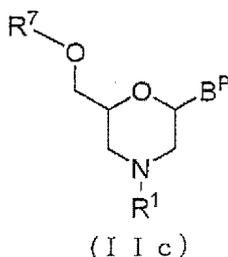
[C 20]



en la que B^P , n' , R^1 , X e Y se definen como se ha descrito con anterioridad.

20 Se puede producir un compuesto representado por medio de la siguiente fórmula (IIc), en la que $n = 1$ y L es acilo en el Compuesto (II), de acuerdo con un método conocido como reacción de acilación para el Compuesto (IIb).

[C 21]

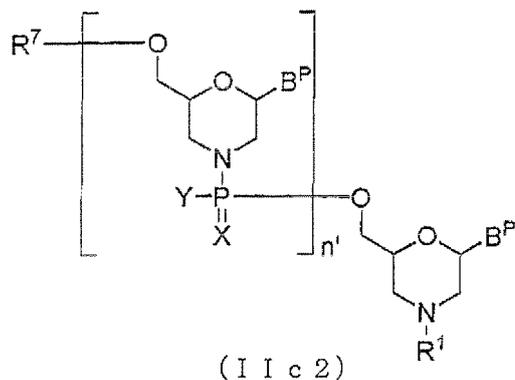


25 en la que B^P y R^1 se definen como se ha descrito con anterioridad. R^7 representa acilo.

Se puede producir un compuesto representado por medio de la fórmula siguiente (IIc2), en la que n es un número entero dentro del intervalo de 2 a 99 y L es acilo en el Compuesto (II), usando el Compuesto (TTc) como material de partida y repitiendo los procesos de Etapa A y Etapa 3, el número de veces deseado, de acuerdo con el método de producción de oligómero de ácido morfolino nucleico descrito en la presente memoria descriptiva.

5

[C 22]



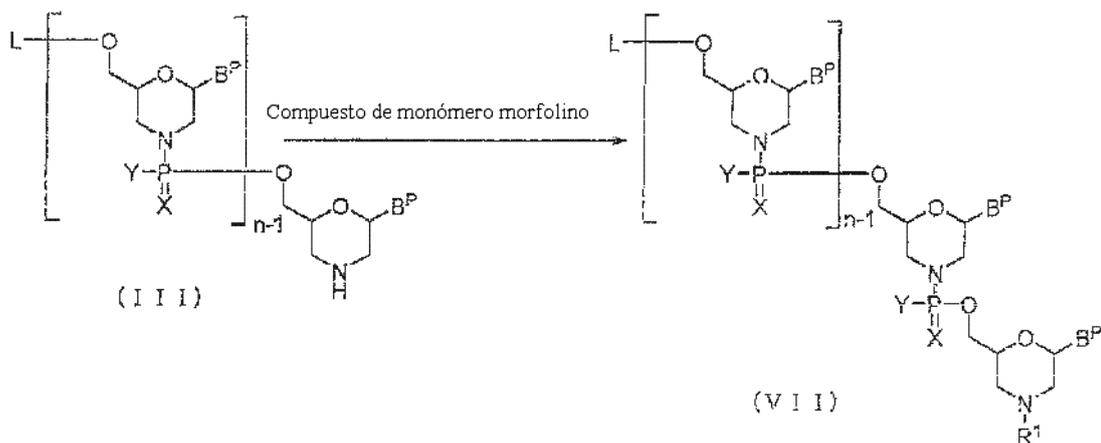
en la que B^P, n', R¹, R⁷, X e Y se definen como se ha descrito con anterioridad.

10 (2) Etapa B:

Una etapa de producción de un compuesto representado por medio de la siguiente fórmula (VII) (en lo sucesivo referido como Compuesto (VII)) permitiendo que un compuesto de monómero de morfolino actúe sobre el Compuesto (III) en presencia de una base.

15

[C 23]



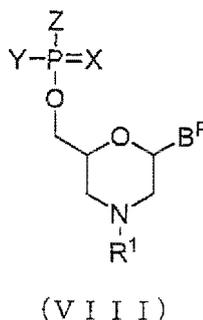
en la que B^P, L, n, P¹, X e Y se definen como se ha descrito con anterioridad.

20 Esta etapa se puede llevar a cabo permitiendo que un compuesto de monómero de morfolino actúe sobre el Compuesto (III) en presencia de una base.

El compuesto de monómero de morfolino puede incluir un compuesto representado por medio de la fórmula siguiente (VIII).

25

[C 24]



en la que B^P , R^1 , X, Y y Z se definen como se ha descrito con anterioridad.

5 La "base" que se puede usar en esta etapa puede incluir diisopropilamina, trietilamina o N-etilmorfolina. La cantidad de base a usar, de manera apropiada, está dentro del intervalo de 1 mol a 1000 mol por 1 mol del Compuesto (III), preferentemente dentro del intervalo de 10 moles a 100 moles por 1 mol del Compuesto (III).

10 El compuesto de monómero de morfolino y la base que se pueden usar en esta etapa pueden diluirse con un disolvente apropiado hasta concentraciones dentro del intervalo de un 0,1 % (v/v) a 30 % (v/v). El disolvente no está particularmente limitado con tal de que sea inerte para la reacción, y puede incluir N,N-dimetilimidazolidona, N-metilpiperidona, DMF, diclorometano, acetonitrilo, tetrahidrofurano o una de sus mezclas.

15 La temperatura de reacción está, por ejemplo, preferentemente dentro del intervalo de 0 °C a 100 °C, más preferentemente dentro del intervalo de 0 °C a 50 °C.

20 Aunque el tiempo de reacción puede variar dependiendo del tipo de la base a usar y la temperatura de reacción está, de manera apropiada, dentro del intervalo de 1 minuto a 48 horas, preferentemente dentro del intervalo de 30 minutos a 24 horas.

25 También tras completar este proceso, se puede añadir un agente acilante si fuese necesario. El "agente acilante" puede incluir anhídrido acético, cloruro de acetilo, anhídrido fenoxiacético. El agente acilante se puede diluir con un disolvente apropiado hasta una concentración dentro del intervalo de un 0,1 % (v/v) a un 30 % (v/v). El disolvente a usar en esta etapa no está particularmente limitado con tal de que sea inerte para la reacción, y puede incluir diclorometano, acetonitrilo, alcoholes (etanol, isopropanol, trifluoroetanol y similares), agua o sus mezclas.

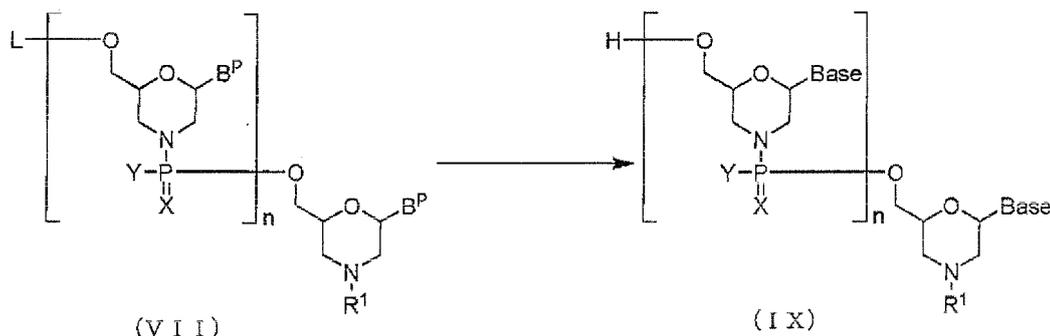
30 Si fuese necesario, es posible usar, junto con el agente acilante, una base tal como una piridina, lutidina, colidina, trietilamina, diisopropilamina, N-etilmorfolina. La cantidad de agente acilante a usar está preferentemente dentro del intervalo de 0,1 a 1000 moles equivalentes, más preferentemente de 1 a 1000 moles equivalentes. La cantidad de base a usar, de manera apropiada, está dentro del intervalo de 0,1 a 100 moles por 1 mol del agente acilante, preferentemente dentro del intervalo de 2 moles a 10 moles por 1 mol del agente acilante.

35 La temperatura de reacción está preferentemente dentro del intervalo de 10 °C a 50 °C, más preferentemente dentro del intervalo de 10 °C a 50 °C, más preferentemente dentro del intervalo de 20 °C a 40 °C, más preferentemente dentro del intervalo de 25 °C a 35 °C. Aunque el tiempo de reacción puede variar dependiendo del tipo de agente acilante a usar y la temperatura de reacción, de manera apropiada, está dentro del intervalo de 0,1 minutos a 24 horas, preferentemente dentro del intervalo de 1 minuto a 5 horas.

40 (3) Etapa C:

Una etapa para producir un compuesto representado por medio de la fórmula (IX) permitiendo que un agente de desprotección actúe sobre el Compuesto (VII) producido en la Etapa B, con el fin de desligar el grupo protector.

[C 25]



en la que Base, B^P, L, n, R¹, X e Y se definen como se ha descrito con anterioridad.

5 Esta etapa se puede llevar a cabo permitiendo que el agente de desprotección actúe sobre el Compuesto (VII).

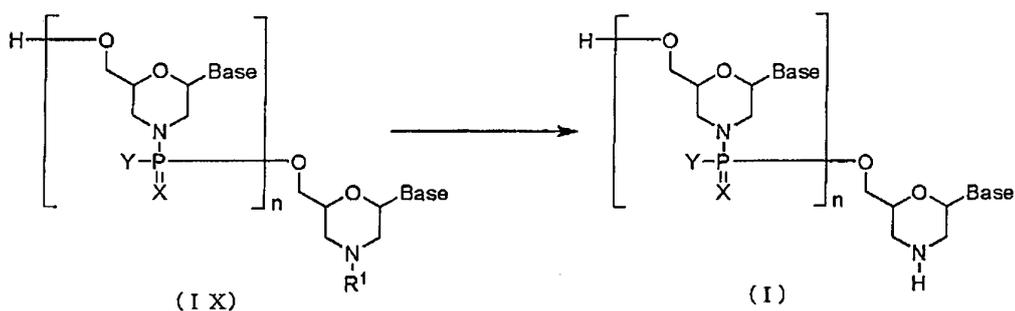
El "agente de desprotección" puede incluir una solución acuosa de amonio concentrado y metilamina. El "agente de desprotección" que se puede usar en esta etapa puede diluirse por ejemplo con agua, metanol, etanol, alcohol isopropílico, acetonitrilo, tetrahidrofurano, DMF, N,N-dimetilimidazolidona, N-metilpiperidona o una de sus mezclas. Entre esos, se prefiere etanol. La cantidad del agente de desprotección a usar está, por ejemplo, de manera apropiada, dentro del intervalo de 1 mol a 100000 moles por 1 mol del Compuesto (VII), preferentemente dentro del intervalo de 10 moles a 1000 moles por 1 mol del Compuesto (VII).

La temperatura de reacción está, por ejemplo, de manera apropiada, dentro del intervalo de 15 °C a 75 °C, preferentemente dentro del intervalo de 40 °C a 70 °C, más preferentemente dentro del intervalo de 50 °C a 60 °C. Aunque el tiempo de reacción de desprotección puede variar dependiendo del tipo de Compuesto (VII), la temperatura de reacción, de manera apropiada, está dentro del intervalo de 10 minutos a 30 horas, preferentemente dentro del intervalo de 30 minutos a 24 horas, más preferentemente dentro del intervalo de 5 horas a 20 horas.

20 (4) Etapa D:

Una etapa de producción de un oligómero (I) de ácido morfolino nucleico permitiendo que un ácido actúe sobre el Compuesto (IX) producido en la Etapa C.

[C 26]



en la que Base, n, R¹, X e Y se definen como se ha descrito con anterioridad.

Esta etapa se puede llevar a cabo por medio de adición de un ácido al Compuesto (IX).

El "ácido" que se puede usar en esta etapa puede incluir, por ejemplo, ácido trifluoroacético, ácido dicloroacético, ácido acético, ácido fosfórico y ácido clorhídrico. La cantidad de ácido a usar se ajusta, de forma deseable, para permitir que el pH de la solución se encuentre dentro del intervalo de 0,1 a 4,0, más preferentemente de 1,0 a 3,0. El disolvente no se encuentra particularmente limitado, con tal de que sea inerte para la reacción, y puede incluir, acetonitrilo, agua o una de sus mezclas de disolventes.

La temperatura de reacción está preferentemente dentro del intervalo de 10 °C a 50 °C, más preferentemente dentro del intervalo de 20 °C a 40 °C, más preferentemente dentro del intervalo de 25 °C a 35 °C. El tiempo de reacción de

desprotección puede variar dependiendo del tipo de Compuesto (IX), la temperatura de reacción y, de manera apropiada, está dentro del intervalo de 0,1 minutos a 5 horas, preferentemente dentro del intervalo de 1 minuto a 1 hora, más preferentemente dentro del intervalo de 1 minuto a 30 minutos.

5 El oligómero (I) de ácido morfolino nucleico se puede obtener a partir de la mezcla de reacción obtenida en esta etapa mediante el uso de un medio de aislamiento y separación común, tal como extracción, concentración, neutralización, filtración, centrifugación, recristalización, cromatografía en columna de fase inversa sobre C₈ a C₁₈,
10 cromatografía de intercambio catiónico, cromatografía de intercambio aniónico, cromatografía en columna de filtración de gel, cromatografía líquida de alta presión, diálisis, ultrafiltración, que se puede llevar a cabo solo o en combinación, de manera que se aísla y purifica un oligómero (I) de ácido morfolino nucleico deseado (por ejemplo, véase el documento WO 1991/09033).

15 Cuando se usa cromatografía en fase inversa para purificar el oligómero (I) de ácido morfolino nucleico, el disolvente de elución puede incluir una mezcla de solución de solución tampón de trietilamina 20 mM/ácido acético y acetónitrilo.

20 Cuando se usa cromatografía de intercambio iónico para purificar el oligómero (I) de ácido morfolino nucleico, por ejemplo, se puede usar una mezcla de solución de una solución salina 1 M y una solución acuosa 10 mM de hidróxido de sodio.

25 Aunque el compuesto de la invención se puede usar directamente como monómero de partida para la síntesis de un oligómero de ácido morfolino nucleico o un material de partida para sintetizar dicho monómero de partida, se puede usar en forma de una sal por medio de un método conocido. Por ejemplo, dicha sal puede ser una sal de un ácido mineral tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y una sal de un ácido orgánico tal como ácido acético, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido p-toluensulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido metanosulfónico.

30 Entre el compuesto de la invención una de sus sales, puede existir una que tenga átomos de carbono asimétricos, y los respectivos isómeros ópticos y sus mezclas quedan englobados también por la presente invención. Los isómeros ópticos se pueden obtener por medio de resolución óptica con un método conocido usando un ácido ópticamente activo (ácido tartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido mandélico, ácido 10-alcanforsulfónico y similares) a partir de una forma racémica obtenida como se ha descrito anteriormente al tiempo que utiliza su basicidad, o se puede producir por medio del uso de un compuesto ópticamente activo preliminar como material de partida. Por el contrario, una resolución óptica que usa una columna quiral o síntesis asimétrica se puede usar para la producción.

35 De igual forma, cuando existen los isómeros geométricos o isómeros tautoméricos del compuesto de la invención o una de sus sales, la presente invención engloba no solo uno de sus isómeros individuales sino también una de sus mezclas.

40 El compuesto de la invención o una de sus sales producida de este modo, se pueden separar y purificar por medio de una técnica conocida de por sí tal como concentración, conversión de naturaleza líquida, migración a disolvente, extracción con disolvente, cristalización, recristalización, destilación fraccionada y cromatografía.

45 Ejemplos

A continuación, la presente invención se describe con más detalle con referencia a los Ejemplos de Referencia, Ejemplos, Ejemplos de Producción y Ejemplos de Ensayo siguientes, pero no se pretende que sean limitantes.

50 EJEMPLO DE REFERENCIA 1

p-toluensulfonato de N⁹-{(2R, 6S)-6-(hidroximetil)morfolin-2-il}-N²-(fenoxiacetil)guanina

Etapa 1: Producción de N²-(fenoxiacetil)guanosina

55 Se secó guanosina, 100 g, a 80 °C a presión reducida durante 24 horas. Después, se añadieron 500 ml de piridina (anhidra) y 500 ml de diclorometano (anhidro) a la misma, se añadieron 401 ml de clorotrimetilsilano gota a gota a la mezcla bajo atmósfera de argón a 0 °C, seguido de agitación a temperatura ambiente durante 3 horas. Se enfrió en hielo de nuevo la mezcla y se añadieron 66,3 g de cloruro de fenoxiacetilo gota a gota a la misma. Con enfriamiento en hielo, se agitó la mezcla durante 3 horas adicionales. Se añadieron 500 ml de metanol a la solución de reacción,
60 y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Después, se retiró el disolvente por medio de destilación a presión reducida. Se añadieron 500 ml de metanol al residuo, y se llevó a cabo la concentración a presión reducida 3 veces. Se añadieron 4 l de agua al residuo, y se agitó la mezcla durante una hora bajo enfriamiento con hielo. Se sacaron los precipitados formados por medio de filtración, se lavaron secuencialmente con agua y metanol frío y después se secaron para proporcionar 150,2 del compuesto objetivo (cf.: Org. Lett. (2004),
65 Vol. 6, Nº. 15, 2555-2557).

Etapa 2:

Producción de p-toluensulfonato de N^o-{(2R, 6S)-5-(hidroximetil)morfolin-2-il}-N2-(fenoxiacetil)guanina

- 5 Se suspendieron 30 g del compuesto obtenido en la Etapa 1 en 480 ml de etanol, y se añadieron 130 ml de ácido clorhídrico 2 N a la suspensión bajo enfriamiento con hielo. Posteriormente, se añadieron 56,8 g de tetraborato de amonio tetrahidratado y 16,2 g de peryodato de sodio a la mezcla en el orden mencionado y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 3 horas. Se enfrió con hielo la solución de reacción y se retiraron las materias insolubles por medio de filtración, seguido de lavado con 100 ml de etanol. Se combinaron el filtrado y el líquido de lavado y se enfrió la mezcla con hielo. Se añadieron 11,52 g de 2-picolin borano a la mezcla. Tras agitar durante 20 minutos, se añadieron 54,6 g de ácido p-toluensulfónico monohidratado lentamente a la mezcla, seguido de agitación a 4 °C durante la noche. Se sacaron los precipitados por medio de filtración y se lavaron con 500 ml de metanol frío y se secaron para proporcionar 17,7 g del compuesto objetivo (rendimiento: 43,3 %). RMN ¹H (DMSO-d6): δ 9,9-9,2 (2H, a), 8,35 (1H, s), 7,55 (2H, m), 7,35 (2H, m), 7,10 (2H, d, J = 7,82 Hz), 7,00 (3H, m), 5,95 (1H, dd, J = 10,64, 2,42 Hz), 4,85 (2H, s), 4,00 (1H, m), 3,90-3,60 (2H, m), 3,50-3,20 (5H, m), 2,90 (1H, m), 2,25 (3H, s).

EJEMPLO DE REFERENCIA 2

- 20 Producción de ácido 4-[[{(2S, 6R)-6-(4-benzamido-2-oxopirimidin-1-il)-4-tritilmorfolin-2-il]metoxi}-4-oxobutanoico cargado sobre resina de aminometilpoliestireno (fabricada por GE Healthcare, Custom Prime Support Amino 200, 28-9229-46).

- 25 Bajo atmósfera de argón, se suspendieron 0,46 g de N-{1-[(2R, 6S)-6-(hidroximetil)-4-tritilmorfolin-2-il]-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-4-il}benzamida y 0,15 g de 4-dimetilaminopiridina (4-DMAP) en 10 ml de diclorometano y se añadieron 0,12 g de anhídrido succínico a la suspensión, seguido de agitación a temperatura ambiente durante 3 horas. Se añadió 1 ml de metanol a la solución de reacción, y se concentró la mezcla a presión reducida. Se sometió a extracción el residuo usando acetato de etilo y una solución acuosa de dihidrogenofosfato de potasio 0,5 M. Se lavó la fase orgánica resultante secuencialmente con solución acuosa de dihidrogenofosfato de potasio 0,5 M, agua y salmuera en el orden mencionado. La fase orgánica resultante se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida.

- 35 Tras disolver el residuo obtenido en 50 ml de piridina (deshidratada), se añadieron 0,1 g de 4-DMAP y 1,5 g de hidrocloreto de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida a la solución. Después, se añadieron 5,0 g de resina de aminometil poliestireno (fabricada en GE Healthcare, Custom Primer Support Amino 200, 28-9229-46) y se añadieron 1,7 ml de trietilamina a la mezcla, seguido de agitación a temperatura ambiente durante 6 días. Tras completar la reacción, la resina se sacó por medio de filtración. Se lavó la resina resultante secuencialmente con piridina, metanol y diclorometano en el orden mencionado, y se secó a presión reducida. Se añadieron 40 ml de tetrahidrofurano (deshidratado) a la resina resultante, 3 ml de anhídrido acético y 3 ml de 2,6-lutidina, y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Se sacó la resina por medio de filtración, se lavó secuencialmente con piridina, metanol y diclorometano en el orden mencionado, y se secó a presión reducida para dar 5,0 g del producto.

- 45 Se determinó la cantidad de carga de producto como la cantidad molar de tritilo por un g de resina midiendo la absorbancia UV a 409 nm usando un método conocido. La cantidad de carga de la resina fue de 46,3 μmol/g.

Condiciones de medición UV

- 50 Dispositivo: U-2910 (Hitachi, Ltd.)
Disolvente: ácido metanosulfónico
Longitud de onda: 265 nm
Valor ε: 45000

EJEMPLO DE REFERENCIA 3

- 55 Producción de ácido 4-[[{(2S, 6R)-6-(4-benzamido-2-oxopirimidin-1-il)-4-tritilmorfolin-2-il]metoxi}-4-oxobutanoico cargado sobre Resina de Aminometil Poliestireno reticulada con 1 % de DVB (fabricada por Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., A1543).

- 60 Bajo atmósfera de argón, se suspendieron 30 g de N-{1-[(2R, 6S)-6-(hidroximetil)-4-tritilmorfolin-2-il]-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-4-il}benzamida y 9,6 g de 4-dimetilaminopiridina (4-DMAP) en 60 ml de dimetilformamida y se añadieron 7,86 g de anhídrido succínico a la suspensión, seguido de agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió una solución acuosa de dihidrogenofosfato de potasio 1 M, y se extrajo la mezcla con acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica obtenida secuencialmente con solución acuosa de dihidrogenofosfato de potasio 1 M, agua y salmuera en el orden mencionado. La fase orgánica resultante se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a presión reducida para proporcionar 34,0 g de cristal bruto.

Tras disolver 29,5 del cristal bruto en 300 ml de piridina (deshidratada), se añadieron 5,1 g de 4-DMAP y 20,1 g de hidrocloreto de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida a la solución. Después, se añadieron 25,0 g de resina de aminoetil poliestireno reticulada con 1 % de DVD (fabricada por Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., A1543) y se añadieron 24 ml de trietilamina a la mezcla, seguido de agitación a temperatura ambiente durante 3 días. Tras completar la reacción, se sacó la resina por medio de filtración. Se lavó secuencialmente la resina resultante con piridina, metanol y diclorometano en el orden mencionado, y se secó a presión reducida. A la resina obtenida se añadieron 300 ml de tetrahidrofurano (deshidratado), 30 ml de anhídrido acético y 30 ml de 2,6-lutidina, y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2,5 horas. La resina se sacó por medio de filtración, se lavó secuencialmente con piridina, metanol y diclorometano en el orden mencionado, y se secó a presión reducida para proporcionar 33,2 g de producto.

La cantidad de carga del producto se determinó la cantidad molar de tritilo por un gramo de resina midiendo la absorbancia UV a 409 nm usando un método conocido. La cantidad de carga de la resina fue de 292,4 $\mu\text{mol/g}$.

15 Condiciones de medición UV

Dispositivo: U-2910 (Hitachi, Ltd.)
 Disolvente: ácido metanosulfónico
 Longitud de onda: 265 nm
 Valor ϵ : 45000

Ejemplo 1

Clorhidrato de [(2S, 6R)-6-(N²-(fenoxiacetil)-O⁶-(2-cianoetil)guanin-9-il)-4-tritilmorfolin-2-il]metil dimetilfosforamida

Etapa 1:

Producción de N⁹-{(2R, 6S)-6-hidroximetil-4-tritilmorfolin-2-il}-N²-(fenoxiacetil)guanina

En 30 ml de diclorometano se suspendieron 2,0 g de p-toluensulfonato de N⁹-{(2R, 6S)-6-(hidroximetil)morfolin-2-il}-N²-(fenoxiacetil)guanina (Ejemplo de Referencia 1) y se añadieron 13,9 g de trietilamina y 18,3 g de cloruro de tritilo a la suspensión bajo enfriamiento con hielo. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una hora. Se lavó la solución resultante con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y después con agua, y se secó sobre sulfato de sodio. Se concentró la fase orgánica a presión reducida. Se añadió al residuo 40 ml de tampón de citrato de sodio 0,2 M (pH 3)/metanol (1:4 (v/v)) y se agitó la mezcla. Posteriormente, se añadieron 40 ml de agua y se agitó la suspensión durante una hora bajo enfriamiento con hielo. Se sacaron los precipitados por medio de filtración, se lavaron con metanol frío y se secaron para proporcionar 1,84 g del compuesto objetivo (rendimiento: 82,0 %).

Etapa 2:

Producción de N⁹-{(2R, 6S)-5-{(terc-butildimetilsililoxi)metil}-4-tritilmorfolin-2-il}-N²-(fenoxiacetil)guanina

En 300 ml de diclorometano se disolvieron 38,3 g del compuesto obtenido en la Etapa 1 y se añadieron 4,64 g de imidazol y 9,47 g de cloruro de t-butildimetilsililo a la solución en el orden mencionado bajo enfriamiento con hielo. Se agitó la solución de reacción a temperatura ambiente durante una hora. Se lavó la solución de reacción con tampón de citrato de sodio 0,2 M (pH 3) y después con salmuera, y se secó sobre sulfato de magnesio. Se concentró la fase orgánica a presión reducida para proporcionar 44,1 g del compuesto objetivo como producto bruto.

Etapa 3:

Producción de N⁹-{(2R, 6S)-6-{(terc-butildimetilsililoxi)metil}-4-tritilmorfolin-2-il}-N²-(fenoxiacetil)-O⁶-triisopropilbenceno sulfonyl guanina

En 300 ml de diclorometano se disolvieron 44,1 g del compuesto obtenido en la Etapa 2 y se añadieron 0,64 g de dimetilaminopiridina, 29,2 ml de trietilamina y 19,0 g de cloruro de triisopropilbencenosulfonyl a la solución en el orden mencionado bajo enfriamiento con hielo. Se agitó la solución de reacción a temperatura ambiente durante una hora. Se lavó la solución de reacción con solución acuosa de dihidrogenofosfato de sodio 1 M y se secó sobre sulfato de magnesio. Se concentró la fase orgánica a presión reducida para proporcionar 60,5 g del compuesto objetivo como producto bruto.

Etapa 4:

Producción de N⁹-{(2R, 6S)-6-{(terc-butildimetilsililoxi)metil}-4-tritilmorfolin-2-il}-N²-(fenoxiacetil)-O⁶-(2-cianoetil)guanina

En 300 ml de diclorometano se disolvieron 60,5 g del compuesto obtenido en la Etapa 3 y se añadieron 54,5 ml de N-metilpirrolidina a la solución bajo enfriamiento con hielo. Se agitó la solución de reacción bajo enfriamiento con hielo durante una hora. Después, se añadieron 37,2 g de etilen cianohidrinas, y se añadieron 11,96 g de 1,8-diazabicyclo [5.4.0]undec-7-eno a la solución, se agitó la solución bajo enfriamiento con hielo durante 2 horas. Se lavó la solución de reacción con una solución acuosa de dihidrogenofosfato de sodio 1 M y se secó sobre sulfato de magnesio. Se concentró la fase orgánica a presión reducida para proporcionar 72,4 g del compuesto objetivo como producto bruto.

Etapa 5:

Producción de N⁹-{(2R, 6S)-6-hidroximetil-4-tritilmorfolin-2-il}-N²-(fenoxiacetil)-O⁶-(2-cianoetil) guanina

En 300 ml de diclorometano se disolvieron 72,4 g del compuesto obtenido en la Etapa 4 y se añadieron 21,1 g de trihidrofluoruro de trietilamina a la solución. Se agitó la solución de reacción bajo enfriamiento con hielo durante 17 horas. Se vertió la solución de reacción en una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio para neutralizar la solución de reacción, y después se secó la fase de diclorometano sobre sulfato de sodio. Se concentró la fase orgánica a presión reducida. Se purificó el residuo por medio de cromatografía en columna de gel de sílice (PSQ 100B (fabricado por FUJI SILESIA CHEMICAL LTD. Lo mismo resulta aplicable a continuación)) para proporcionar 14,3 g del compuesto objetivo (rendimiento de la Etapa 2: 39,2 %).

Etapa 6:

Producción de dimetil-fosforamidocloridato de {(2S, 6R)-6-{N²-(fenoxiacetil)-O⁶-(2-cianoetil)guanin-9-il}-4-tritilmorfolin-2-il}metilo

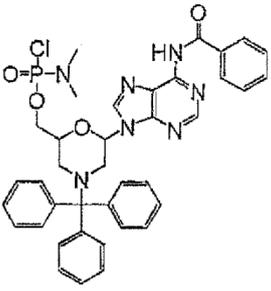
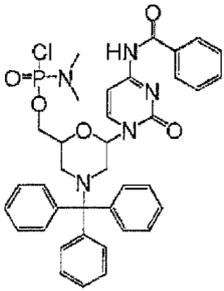
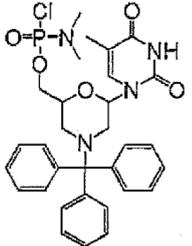
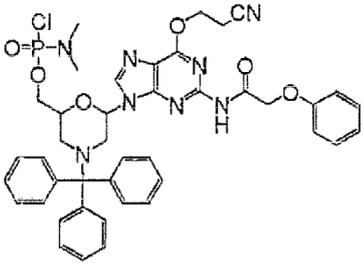
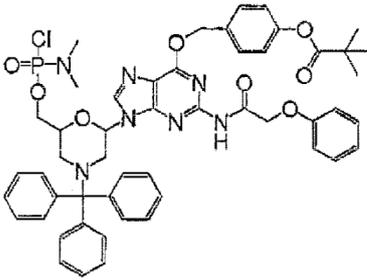
Bajo atmósfera de argón, se añadieron 4,03 ml de dicloruro de dimetilaminofosforilo a 86 ml de THF, y se añadieron 3,37 ml de N-metilimidazol a la solución de reacción. Se modificó la solución a una suspensión. Cinco minutos más tarde, se añadieron 11,86 g de compuesto en forma de polvo a la suspensión obtenida por medio de la Etapa 5. Se agitó la mezcla de reacción durante 5 minutos. Posteriormente, se añadieron 2,16 ml de N-etilmorfolina a la mezcla, se agitó la solución a temperatura ambiente durante 3 horas.

Se vertió la solución de reacción en una solución acuosa de hidrogenofosfato de sodio 1 M enfriada en hielo, y se sometió a extracción con 300 ml de acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con salmuera y se secó sobre sulfato de sodio. Se concentró la fase orgánica a presión reducida. Se purificó el residuo por medio de cromatografía en columna de gel de sílice (PSQ100B) para proporcionar 9,9 g del compuesto objetivo (rendimiento: 70,7 %).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,85 (1H, a), 7,85 (1H, d, J = 3,45 Hz), 7,60-7,00 (20H, m), 6,30 (1H, d, J = 9,5 Hz), 4,90-4,70 (4H, m), 4,60-4,40 (1H, m), 4,20-4,00 (1H, m), 3,50 (1H, d, J = 11,28 Hz), 3,25 (1H, d, J = 10,21 Hz), 3,00 (2H, t, J = 6,56 Hz), 2,65 (6H, dd, = 13,89, 4,1 Hz), 1,85-1,55 (2H, m).

La Tabla 1 muestra las estructuras químicas y la abreviatura del compuesto monomérico de morfolino usado en los siguientes Ejemplos de Producción y Ejemplos de Ensayo.

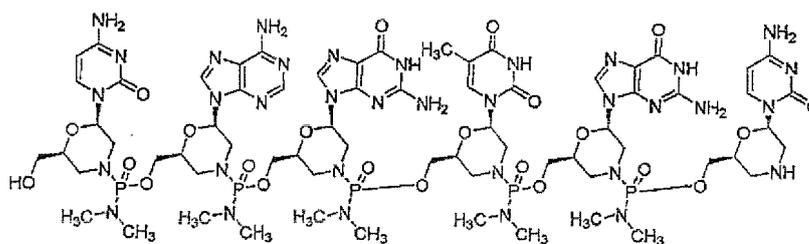
[Tabla 1]

Estructura Química			
Abreviatura	AP	CP	TP
Estructura Química			
Abreviatura	CE - G		POB - G

Ejemplo de Producción 1

5 Síntesis de oligómero de ácido morfolino nucleico que tiene la siguiente estructura y secuencia de bases 5'-CAGTGC-3' usando CE-G

[C 27]



[Etapa 1]

10 Se transfirieron 216 mg (10 μmol) de ácido 4-[[[(2S, 6R)-6-(4-benzamida-2-oxopirimidin-1-il)-4-tritilporfolin-2-il]metoxi]-4-oxobutanoico sobre un soporte en una resina de aminometilpoliestireno (Ejemplo de Referencia 2) al interior de una columna de síntesis, que se cargó en un máquina de síntesis automática (Oligopilot 10: fabricada por GE healthcare). Se prepararon otros reactivos requeridos y también se cargaron. Se llevó a cabo la síntesis en fase sólida a 50 °C (usando un horno de columna) en la condición que se muestra en la Tabla 2.

[Tabla 2]

Etapa	Proceso	Solución	Tiempo (principal)
1	Desbloqueo	Solución de desbloqueo	2,0
2	Lavado	Acetonitrilo	1,0
3	Acoplamiento	Solución de monómero morfolino (7 eq.) + solución de activador (*)	90
4	Lavado	Acetonitrilo	1,0

* La solución monomérica y la solución de activador se ajustaron a una relación en volumen de 6:4

Como solución de desbloqueo, se usó una solución de diclorometano que contenía un 3% (p/v) de ácido tricloroacético. Como activador, se usó acetonitrilo, una solución que contenía 20% (v/v) de N,N-diisopropiletilamina y 10% (v/v) de tetrahidrofurano. Como compuestos de monómero de morfolino, se usaron A^P, C^P, T^P y CE-G mostrados en la Tabla 1.

5 Como solución de monómero de morfolino, se usó el compuesto de monómero de morfolino anteriormente mencionado disuelto a 0,13 a 0,15 M en tetrahidrofurano (A^P, C^P: 0,14 M; T^P: 0,15 M; CE-G: 0,13 M).

[Etapa 2]

10 El oligómero de ácido morfolino nucleico sobre soporte de resina de aminometilpoliestireno obtenido en la Etapa 1 se sacó fuera del recipiente de reacción, y se secó a presión reducida a temperatura ambiente durante 2 horas o más. Se colocaron 10 mg de oligómero de ácido morfolino nucleico sobre soporte de resina de aminometilpoliestireno seco en el recipiente de reacción, a los cuales se añadió 1 ml de amoníaco acuoso al 28%/etanol (1/3) y se agitó durante 15 horas a 55 °C. Se filtró la resina de aminometilpoliestireno y se lavó con 1 ml de etanol. El filtrado obtenido se combinó con 10 ml de éter etílico. Tras la centrifugación, se desechó el sobrenadante y, tras el secado a presión reducida, se obtuvo la sustancia deseada en forma de precipitado blanco.

20 MALDI-TOF-MS: Calculado: 1921,66
Encontrado: 1917,69

Ejemplo de Producción 2

Síntesis de oligómero de ácido morfolino nucleico que tiene una secuencia de base 5'-CAGTGC-3' usando POB-G

25 En lugar de monómero CE-G, se usó clorinato de [(2S, 6R)-6-{N'-(fenoxiacetil)-O⁶-(pivaloxibencil)guanin-9-il}-4-tritilmorfolin-2-il]metil dimetilfosforamida (véase, el documento WO 2009/064471 A1, en lo sucesivo denominado POG-G (véase Tabla 1)), y se produjo el oligómero de ácido morfolino nucleico que tenía una secuencia similar a la del Ejemplo de Producción 1 por medio de métodos similares al de la Etapa 1 y Etapa 2 del Ejemplo de Producción 1.

Ejemplo de Producción 3

35 Síntesis de oligómero de ácido morfolino nucleico que tiene una secuencia de base 5'-CCTCCGGTTCTGAAGGTGTT-3'

40 Se transfirieron 6,02 g (1,75 mmol) de ácido 4-[[[(2S, 6R)-6-(4-benzamida-2-oxopiridin-1-il)-4-tritilmorfolin-2-il]metoxi]-4-oxobutanoico sobre una resina de aminometilpoliestireno (Ejemplo de Referencia 3) a un recipiente de reacción, se añadieron 90 ml de diclorometano al recipiente, y se permitió el reposo durante 30 minutos. Tras la filtración, se comenzó el ciclo sintético mostrado en la Tabla 3. Con el fin de obtener el compuesto que tenía la secuencia de base diseñada, se añadieron los compuestos monoméricos de morfolino en los respectivos ciclos de manera apropiada.

[Tabla 3]

Etapa	Reactivo	Volumen (ml)	Tiempo (minutos)
1	Solución de desbloqueo	90	5,0
2	Solución de desbloqueo	90	5,0
3	Solución de desbloqueo	90	5,0
4	Solución de desbloqueo	90	2,0
5	Solución de desbloqueo	90	5,0
6	Solución de desbloqueo	90	5,0
7	Solución de neutralización	90	1,5
8	Solución de neutralización	90	1,5
9	Solución de neutralización	90	1,5
10	Solución de neutralización	90	1,5
11	Solución de neutralización	90	1,5
12	Solución de neutralización	90	1,5
13	Diclorometano	90	0,5
14	Diclorometano	90	0,5
15	Diclorometano	90	0,5
16	Solución de acoplamiento B	60	0,5
17	Solución de acoplamiento A	20 -35 *1	90 - 300*2
18	Diclorometano	90	0,5

19	Diclorometano	90	0,5
20	Diclorometano	90	0,5
21	Solución de terminación	90	3,0
22	Solución de terminación	90	3,0
23	Diclorometano	90	0,5
24	Diclorometano	90	0,5
25	Diclorometano	90	0,5
*1 Cantidad mínima requerida para permitir que el soporte sólido se hinche para permitir la agitación.			
*2 90 minutos para 10-mer o menos, 300 minutos para 11 a 21 mer			

5 Como solución de desbloqueo, se usó una mezcla de ácido trifluoroacético (2 equivalentes) y trietilamina (1 equivalente) disuelto en una solución de diclorometano al 3 % (p/v) que contiene un 1 % (v/v) de etanol y 10 % (v/v) de 2,2,2-trifluoroetanol. Como solución de neutralización, se usó N,N-diisopropiletilamina disuelto en 5 % (v/v) en una solución de diclorometano que contiene un 25 % (v/v) de 2-propanol.

10 Como Solución de Acoplamiento A, se usó un compuesto monomérico de morfolino (AP, CP, TP y CE-G) disuelto en 0,15 M de solución de 1,3-dimetil-2-imidazolidinona que contiene un 10 % (v/v) de N,N-diisopropiletilamina. Como Solución de Acoplamiento B, se usó N,N-diisopropiletilamina disuelto en un 10 % (v/v) en 1,3-dimetil-2-imidazolidinona. Como Solución de Terminación, se usó diclorometano que contenía un 20 % (v/v) de anhídrido acético y un 30 % (v/v) de 2,6-lutidina disuelto en el mismo.

15 El oligómero de ácido morfolino nucleico sobre soporte de la resina de aminometilpoliestireno sintetizada como se ha descrito anteriormente se recuperó a partir del recipiente de reacción y se secó a presión reducida a temperatura ambiente durante 2 horas o más. El oligómero de ácido morfolino nucleico sobre soporte de la resina de aminometilpoliestireno seco se colocó en el recipiente de reacción, al cual se añadieron 350 ml de amoníaco acuoso al 28 %/etanol (1/4) y se agitó durante 15 horas a 55 °C. Se filtró la resina de aminometilpoliestireno y se lavó con 150 ml de agua/etanol (1/4). Se concentró el filtrado obtenido a presión reducida. Se disolvió el residuo obtenido en 20 400 ml de mezcla de solución de tampón 2 CmM ácido acético-trietilamina (tampón TEAA) y acetonitrilo (4/1) y se filtró a través de un filtro de membrana. Se purificó el filtrado obtenido por medio de HPLC inversa. Las condiciones usadas se muestran en la Tabla 4.

[Tabla 4]

Columna	XTerra MS18 (Waters, φ50x, 100 mm, 1CV =200 ml)
Caudal	60 ml/min
Temperatura de columna	temperatura ambiente
Solución A	tampón TEAA 20 mM
Solución B	CH ₃ CN
Gradiente	(B) conc. 20 → 50 % /9CV

25 Se analizó cada fracción y se recuperó la sustancia pretendida y se concentró a presión reducida para obtener un sólido amarillo claro. Se suspensión el sólido obtenido en 200 ml de una solución acuosa de 10 mM de ácido fosfórico. Se añadieron 10 ml de una solución acuosa 2 M de ácido fosfórico a la suspensión y se agitó durante 15 minutos. Después, también se añadieron 15 ml de una solución acuosa de 2 M de hidróxido de sodio para la neutralización. Y después, se añadieron de forma adicional 20 ml de una solución acuosa 2 M de hidróxido de sodio para basificar la solución. Después se filtró la mezcla a través de un filtro de membrana (0,22 μm) y se aclaró con 30 180 ml de solución acuosa 10 mM de hidróxido de sodio para proporcionar una solución acuosa (400 ml) que contenía la sustancia pretendida (5,8 g, rendimiento: 50 %).

35 MALDI-TOF-MS: Calculado: 6609,62
Encontrado: 6609,09

Ejemplo de Ensayo 1

40 Comparación de oligómero de ácido morfolino nucleico producido usando el compuesto de la invención (CE-G) (Ejemplo de Producción 1) y oligómero de ácido morfolino nucleico producido usando el compuesto de la técnica anterior (POB-G) (Ejemplo de Producción 2).

(1) Comparación de la pureza o rendimiento de los oligómeros de ácido morfolino nucleico sintetizado

45 Se trató cada uno de los oligómeros de ácido morfolino nucleico sobre las resinas de aminometilpoliestireno obtenida por medio de los procedimientos similares a la Etapa 1 del Ejemplo de Producción 1 y Etapa 1 del Ejemplo de Producción 2, con una solución de mezcla de amoníaco acuoso/etanol y se escindieron los oligómeros de ácido

5 morfolino nucleico a partir de los soportes de la fase sólida. Tras la retirada del soporte sólido por medio de filtración, se añadió un exceso grande éter al filtrado y se sometió a centrifugación, y se descartó el sobrenadante para recuperar el producto bruto del oligómero relevante en forma de sólido. Se secó el sólido y después se disolvió en agua (20 ml), se sacaron 5 μ l del mismo y se sometieron a HPLC para medir el contenido designado de ácido morfolino nucleico en la mezcla bruta relevante. Los resultados se muestran en los cromatogramas HPLC respectivamente en la Figura 1 y la Figura 2.

Las condiciones de medición se muestran a continuación.

10 Condiciones de medición:

Instrumento HPLC

15 Unidad de bombeo: LC-10AT VP (producida por Shimadzu Corporation)
 Detector: SPD-10AVP (producido Shimadzu Corporation) columna de HPLC de fase inversa
 XBrigde [2,5 μ m, Φ 4,65 mm x 50 mm] (producido por Waters)
 Temperatura de columna: 60 °C

20 Fase Móvil

Gradiente: gradiente lineal 20 minutos (Solución B: de 0 a 40 %)
 Solución A: solución tampón de trietilamina 50 mM – ácido acético
 Solución B: acetonitrilo

25 Caudal de fase móvil: 0,75 ml/min

Longitud de onda de detección de espectrofotómetro UV/Visible: 260 nm

30 El porcentaje de área (%) y el área de pico (μ AU-s) del oligómero de ácido morfolino nucleico designado presente en la mezcla bruta obtenida por medio de análisis de los cromatogramas HPLC de la Figura 1 y la Figura 2 se muestran en la Tabla 5.

[Tabla 5]

	Tipo de monómero-G	Porcentaje en área (%)	Área de pico (μ AU-s)
EJEMPLO DE PRODUCCIÓN 1	CE-G	67,0	6868358
EJEMPLO DE PRODUCCIÓN 2	POB-G	47,8	5364747

35 Los resultados de la Tabla 5 indican que el porcentaje de área es mayor y el área de pico es más grande cuando se usa el monómero CE-G en la síntesis de los oligómero de ácido morfolino nucleico que cuando se usa el monómero de POB-G. El oligómero de ácido morfolino nucleico sintetizado usando el compuesto de la invención tiene un rendimiento y pureza más elevada. Es evidente que la presente invención es superior a la técnica anterior.

40 (2) Comparación del oligómero de ácido morfolino nucleico sintetizado por medio de análisis de MS

Se examinaron los respectivos oligómeros de ácido morfolino nucleico de la Sección (1) descritos anteriormente en cuanto a espectro de masas (MALDI-TOF-MS: producido por Autoflex; Bruker Daltonics) para obtener el espectro de masas mostrados respectivamente en la Figura 3 y la Figura 4.

45 Como resultado de ello, se reveló que cuando se usa el monómero POB-G (Figura 4) se apreció un sub-producto que no se observó cuando se usa el monómero CE-G (Figura 3). El valor medido del peso molecular de este sub-producto fue mayor en 106 que el pico convencional del oligómero de ácido morfolino nucleico designado, lo que sugiere la presencia de un aducto de p-hidroxibencilo que se presentó en el documento WO 2009/064471.

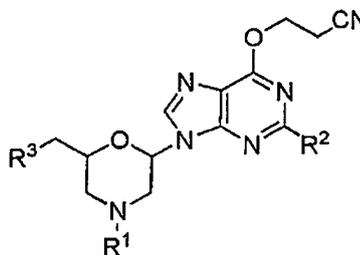
β

50 Por otra parte, cuando se usa el monómero CE-G, el aducto de acrilonitrilo no se encontró, a pesar de la escisión β del grupo CE (Figura 3), que indica que el monómero CE-G se comporta de manera excelente en la síntesis del oligómero de ácido morfolino nucleico.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por medio de la siguiente fórmula general (1) o una de sus sales:

[C.1]

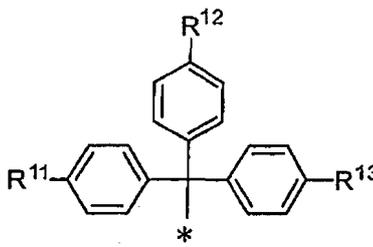


(1)

5

en la que R¹ representa hidrógeno o un grupo representado por medio de la siguiente fórmula general (2):

[C.2]

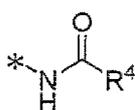


(2)

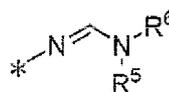
10

(en la que * representa la posición de enlace;
R¹¹, R¹², R¹³ son iguales o diferentes y cada uno de ellos representa hidrógeno, alquilo o alcoxi)
R² representa un grupo representado por la siguiente fórmula general (3) o (4):

[C.3]



(3)



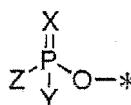
(4)

15

(en la que * se define como se ha descrito con anterioridad;
R⁴ representa alquilo, arilmetilo o ariloximetilo;
R⁵, R⁶ son iguales o diferentes y cada uno de ellos representa alquilo)
R³ representa un grupo hidroxilo que puede estar protegido por trialquilsililo o difenilalquilsililo, o un grupo representado por la siguiente fórmula (5):

20

[C.4]



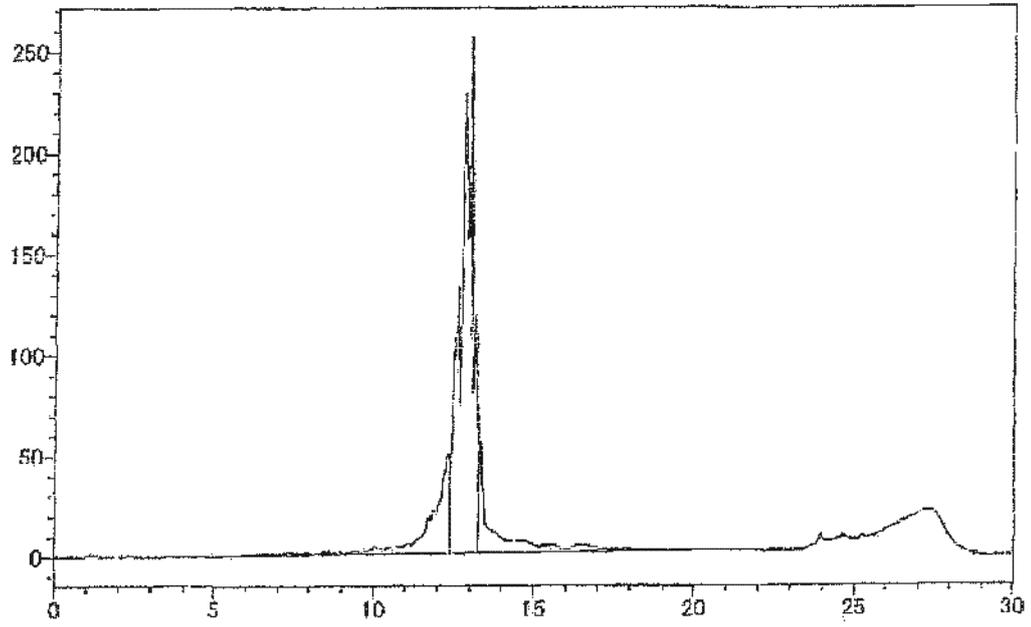
(5)

25 (en la que * se define como se ha descrito con anterioridad;

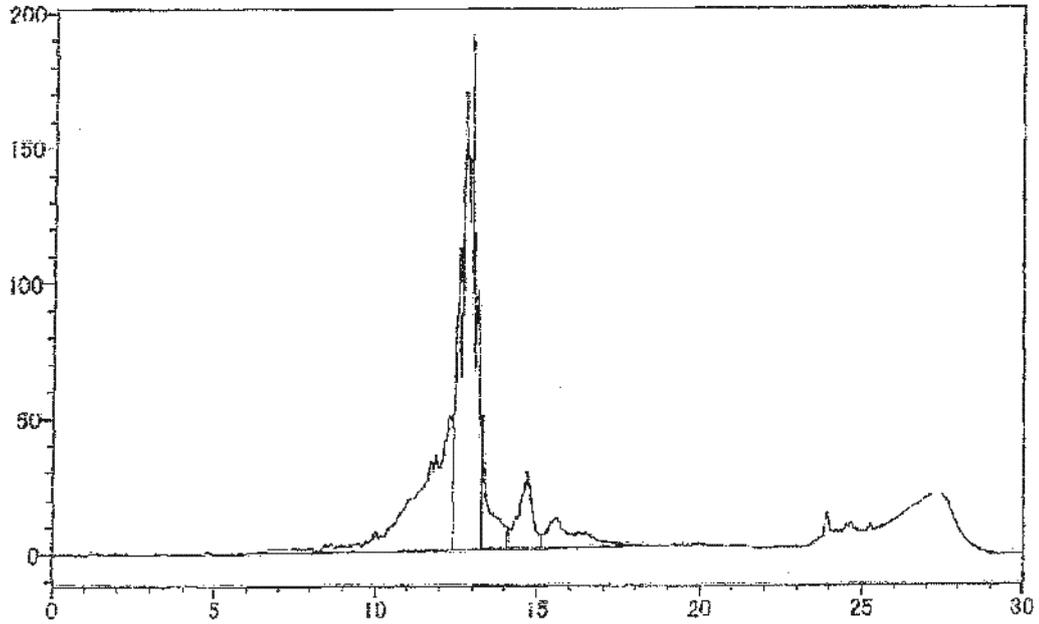
X representa O o S;
 Y representa dialquilamino o alcoxi;
 Z representa halógeno).

- 5 2. El compuesto o una de sus sales de acuerdo con la reivindicación 1, en el que X es O, Y es dialquilamino y Z es cloro.
3. El compuesto o una de sus sales de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R³ es un grupo hidroxilo que puede estar protegido por t-butildimetilsililo o t-butildifenilsililo.
- 10 4. El compuesto o una de sus sales de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R⁴ es fenoximetilo.
5. El compuesto o una de sus sales de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R¹ es tritilo, 4-metoxitritilo, 4-metiltritilo, 4,4'-dimetiltritilo, 4,4'-dimetoxitritilo o 4,4',4"-trimetiltritilo.
- 15 6. Un compuesto seleccionado entre los siguientes (1) a (3), o una de sus sales:
- (1) N⁹-[(2R,6S)-6-{{terc-butildimetilsililo}metil}-4-tritilmorfolin-2-il]-N²-(fenoxiacetil)-O⁶-(2-cianoetil)guanina,
- 20 (2) N⁹-[(2R,6S)-6-hidroximetil-4-tritilmorfolin-2-il]-N²-(fenoxiacetil)-O⁶-(2-cianoetil)guanina,
- (3) dimetilfosforamidoclorhidato de [(2S,6R)-6-{N²-(fenoxiacetil)-O⁶-(2-cianoetil)guanin-9-il}-4-tritilmorfolin-2-il]metilo.

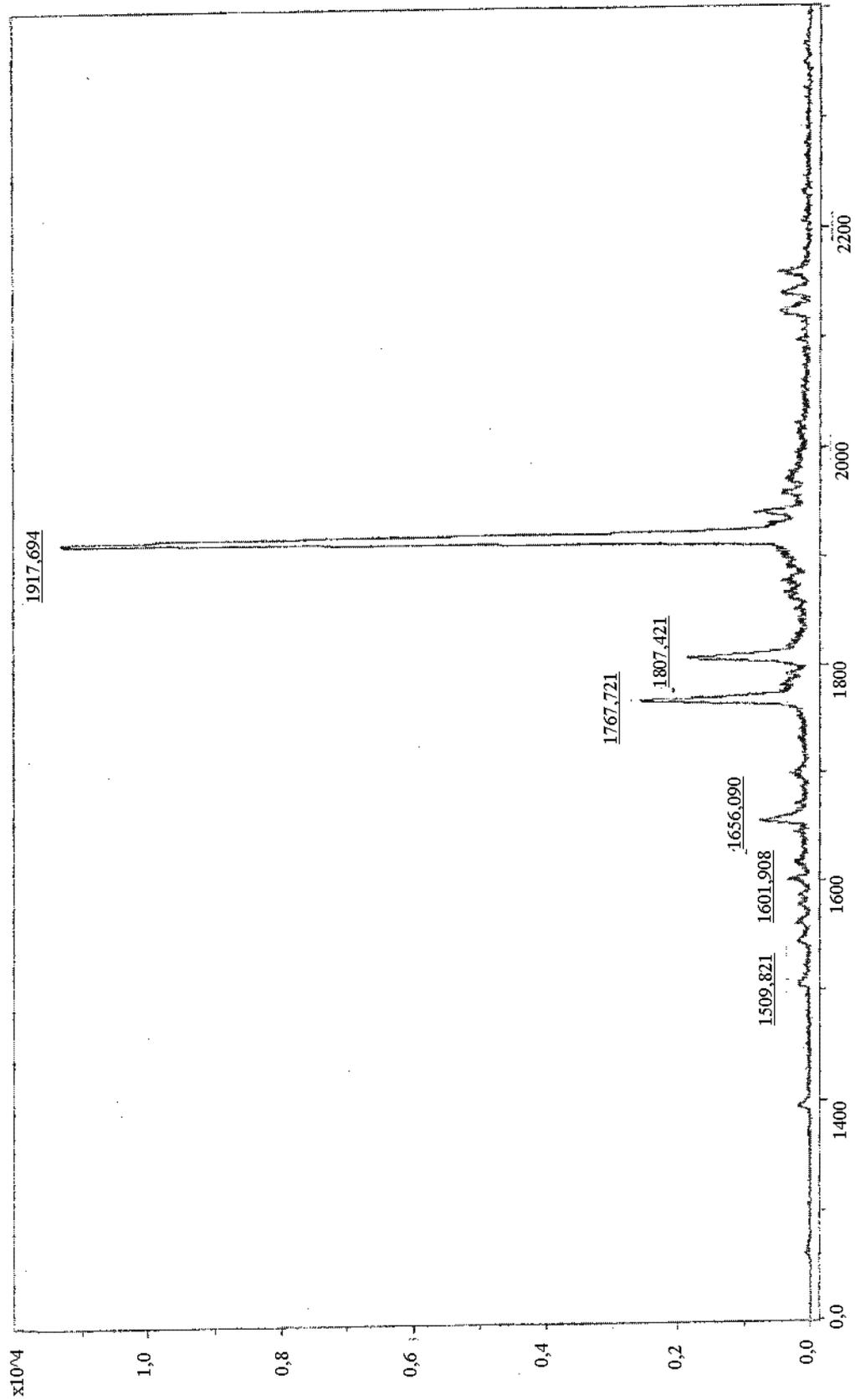
[Figura 1]



[Figura 2]



[Figura 3]



[Figura 4]

