(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2004-522695
(P2004-522695A)
(43)公表日　平成16年7月29日(2004.7.29)

(51)Int.Cl.[7]	F I	テーマコード（参考）
C07H 19/067	C07H 19/067	4C057
C07H 19/167	C07H 19/167	
C07H 23/00	C07H 23/00	

審査請求 未請求　予備審査請求 有　（全 213 頁）

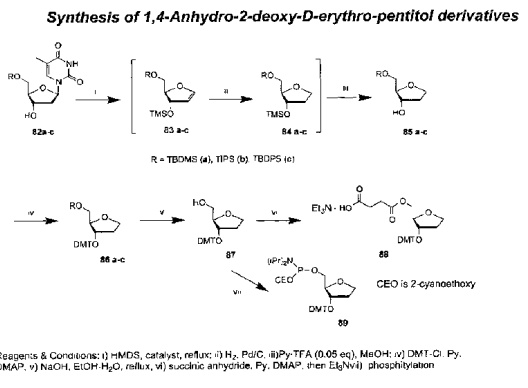
(21)出願番号	特願2002-523919(P2002-523919)
(86)(22)出願日	平成13年8月31日(2001.8.31)
(85)翻訳文提出日	平成15年3月3日(2003.3.3)
(86)国際出願番号	PCT/US2001/027116
(87)国際公開番号	WO2002/018405
(87)国際公開日	平成14年3月7日(2002.3.7)
(31)優先権主張番号	60/230,057
(32)優先日	平成12年9月1日(2000.9.1)
(33)優先権主張国	米国(US)
(31)優先権主張番号	60/286,571
(32)優先日	平成13年4月25日(2001.4.25)
(33)優先権主張国	米国(US)

(71)出願人　500203684
サーナ・セラピューティクス・インコーポレイテッド
Ｓｉｒｎａ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，Ｉｎｃ．
アメリカ合衆国コロラド州８０３０１，ボウルダー，ウィルダーネス・プレイス　２９５０
(74)代理人　230104019
弁護士　大野　聖二
(74)代理人　100106840
弁理士　森田　耕司
(74)代理人　100105991
弁理士　田中　玲子

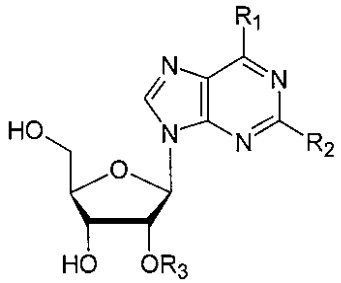
最終頁に続く

(54)【発明の名称】ヌクレオシド，ヌクレオシド誘導体および非ヌクレオシド誘導体を合成する方法

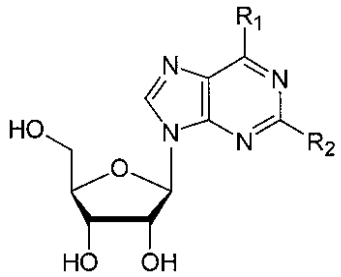
(57)【要約】
本発明は，ヌクレオシドおよびその誘導体，例えば，２’－アミノ，２’－Ｎ－フタロイル，２’－Ｏ－メチル，２’－Ｏ－シリル，２’－ＯＨヌクレオシド，Ｃ－ヌクレオシド，ヌクレオシドホスホルアミダイト，Ｃ－ヌクレオシドホスホルアミダイト，および非ヌクレオシド誘導体の化学合成の方法を提供する。



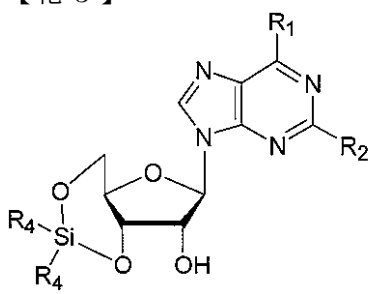
【特許請求の範囲】
【請求項１】
式Ｉ：
【化１】



［式中，R_1およびR_2は，独立して，水素，$NR_{10}R_{11}$，（$NR_{10}R_{11}$）アルキル，アルキル，フルオロまたはクロロであり，ここで，R_{10}およびR_{11}は，独立して，水素，アルキル，アルカノイル，アシル，アルコキシ，または，ハロゲン，アルコキシ，ニトロ，もしくはアルキルである３個までの基で独立して置換されていてもよいアリールアルキルであり；およびR_3は，独立して，アルキル，アルコキシアルキル，アルキル－チオ－アルキル，シアノアルキル，または，ハロゲン，アルコキシ，ニトロ，もしくはアルキルである３個までの基で独立して置換されていてもよいアリールアルキルである］
の化合物を合成する方法であって，
（ａ）式ＩＩ：
【化２】

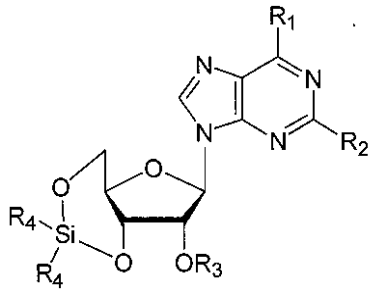


［式中，R_1およびR_2は式Ｉにおいて定義したとおりである］
の化合物に５’，３’－架橋シリル保護基を導入して，式ＩＩＩ：
【化３】



［式中，R_1およびR_2は式Ｉにおいて定義したとおりであり，各R_4は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキルである］
の化合物を生成し；
（ｂ）工程（ａ）の生成物をアルキルして，式ＩＶ：

【化４】

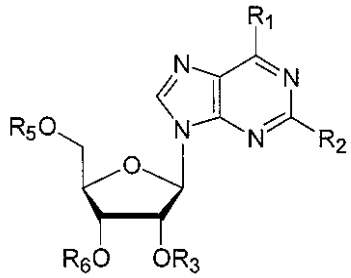


［式中，
R_1，R_2およびR_3は式Ｉにおいて定義したとおりであり，R_4は式ＩＩＩにおいて定義したとおりである］
の化合物を生成し；そして
（ｃ）工程（ｂ）の生成物を脱保護して式Ｉの化合物を得る，
の各工程を含む方法。

【請求項２】

式Ｖ：

【化５】



［式中，R_1およびR_2は，独立して，水素，$NR_{10}R_{11}$，（$NR_{10}R_{11}$）アルキル，アルキル，フルオロまたはクロロであり，ここで，R_{10}およびR_{11}は，独立して水素，アルキル，アルカノイル，アシル，アルコキシ，または，ハロゲン，アルコキシ，ニトロ，もしくはアルキルである３個までの基で独立して置換されていてもよいアリールアルキルであり；R_3は，独立して，アルキル，アルコキシアルキル，アルキル－チオ－アルキル，シアノアルキル，または，ハロゲン，アルコキシ，ニトロ，もしくはアルキルである３個までの基で独立して置換されていてもよいアリールアルキルであり；R_5は酸不安定性保護成分であり；およびR_6はリン含有成分である］
を有する化合物を合成する方法であって，
（ａ）式ＩＩの化合物に５’，３’－架橋シリル保護基を導入して式ＩＩＩの化合物を生成し；
（ｂ）工程（ａ）の生成物をアルキル化して式ＩＶの化合物を生成し；
（ｃ）工程（ｂ）の生成物に少なくとも１つの環外のアミン保護成分を導入し，
ただし，工程（ｂ）におけるR_1またはR_2の少なくとも１つはアミノであり；
（ｄ）工程（ｃ）の生成物を脱保護して式Ｉの化合物を生成し；そして
（ｅ）工程（ｄ）の生成物に酸不安定性保護成分を，次にリン含有成分を導入して式Ｖの化合物を得る，
の各工程を含む方法。

【請求項３】

R_4がｔｅｒｔ－ブチルである，請求項１または２記載の方法。

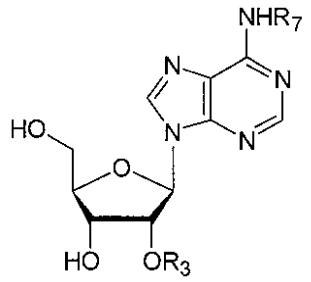
【請求項４】

R_1がアミノであり，R_2がＨである，請求項１または２記載の方法。

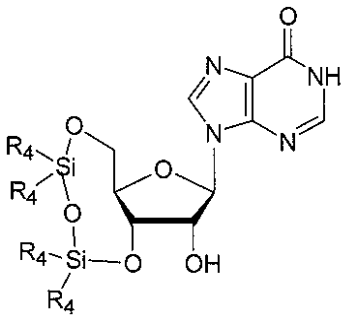
【請求項５】

R_1およびR_2がアミノである，請求項１または２記載の方法。

【請求項６】
R_1がクロロであり，R_2がＨである，請求項１または２記載の方法。
【請求項７】
式Ｉの化合物が２’－Ｏ－メチルアデノシンである，請求項１記載の方法。
【請求項８】
式Ｖの化合物が５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－メチル－Ｎ２－ベンゾイルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）である，請求項２記載の方法。
【請求項９】
工程（ｂ）における前記アルキル化がアルキルハロゲン化物および塩基の存在下で行われる，請求項１または２記載の方法。
【請求項１０】
式ＶＩ：
【化６】

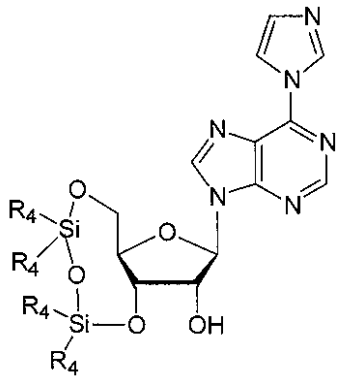


［式中，R_3は，独立して，アルキル，アルコキシアルキル，アルキル－チオ－アルキル，シアノアルキル，または，ハロゲン，アルコキシ，ニトロ，もしくはアルキルである３個までの基で独立して置換されていてもよいアリールアルキルであり；およびR_7は，Ｈ，アシル，またはアリールアルカノイルである］
を有する化合物を合成する方法であって，
（ａ）イノシンに５’，３’－架橋シリル保護基を導入して式ＶＩＩ：
【化７】



［式中，各R_4は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキルである］の化合物を生成し；
（ｂ）工程（ａ）の生成物にイミダゾール成分を導入して式ＶＩＩＩ：

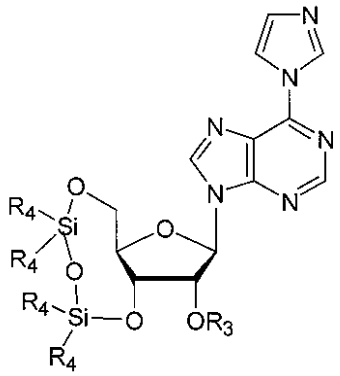
【化８】



［式中，各Ｒ４は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキルである］の化合物を生成し；

（ｃ）工程（ｂ）の生成物をアルキル化して式ＩＸ：

【化９】

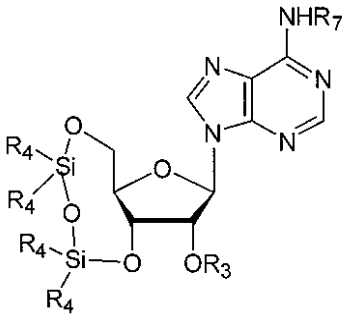


［式中，各Ｒ４は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキルであり，Ｒ３は式ＶＩにおいて定義したとおりである］

の化合物を生成し；

（ｄ）工程（ｃ）の生成物をアミノ化して式Ｘ：

【化１０】



［式中，Ｒ３およびＲ７は式ＶＩにおいて定義したとおりである］

の化合物を生成し；そして

（ｅ）工程（ｄ）の生成物を脱シリル化して式ＶＩの化合物を得る，

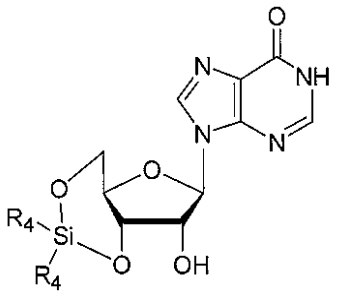
の各工程を含む方法。

【請求項１１】

式ＶＩを有する化合物を合成する方法であって，

（ａ）イノシンに５’，３’－架橋シリル保護基を導入して，式ＸＩ：

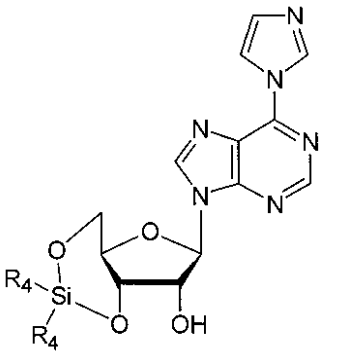
【化１１】



［式中，各R_4は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキルである］の化合物を生成し；

（ｂ）工程（ａ）の生成物にイミダゾール成分を導入して式ＸＩＩ：

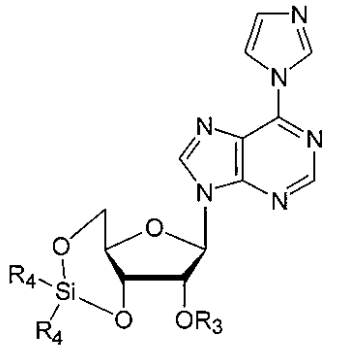
【化１２】



［式中，各R_4は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキルである］の化合物を生成し；

（ｃ）工程（ｂ）の生成物をアルキル化して，式ＸＩＩＩ：

【化１３】

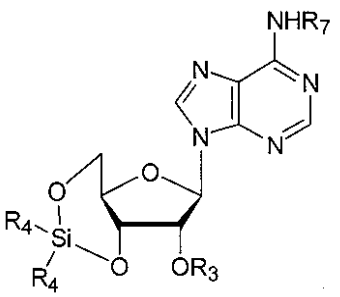


［式中，R_3は式ＶＩにおいて定義したとおりであり，各R_4は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキルである］

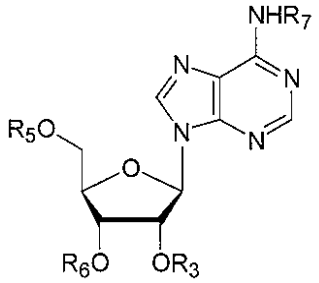
の化合物を生成し；

（ｄ）工程（ｃ）のをアミノ化して，式ＸＩＶ：

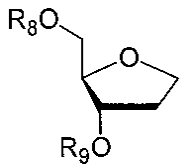
【化１４】



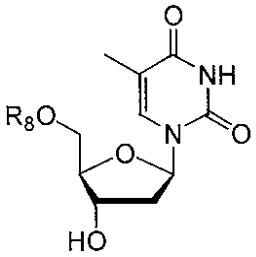
［式中，R_3およびR_7は，式ＶＩにおいて定義したとおりである］
の化合物を生成し；そして
（ｅ）工程（ｄ）の生成物を脱シリル化して式ＶＩの化合物を得る，
の各工程を含む方法。
【請求項１２】
（ａ）工程（ｅ）の生成物に酸不安定性保護成分を，次にリン含有成分を導入して，式ＸＶ：
【化１５】

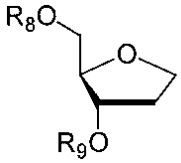


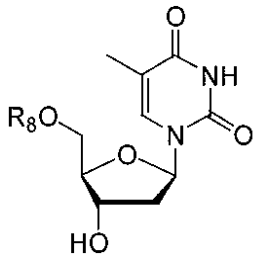
［式中，R_7およびR_3は式ＶＩにおいて定義したとおりであり，R_5は酸不安定性保護成分であり，R_6はリン含有成分である］
の化合物を生成する工程をさらに含む，請求項１０または１１記載の方法。
【請求項１３】
R_4がイソプロピルである，請求項１０記載の方法。
【請求項１４】
R_4がｔｅｒｔ－ブチルである，請求項１１記載の方法。
【請求項１５】
R_3がメチルである，請求項１０または１１記載の方法。
【請求項１６】
R_3がメチルである，請求項１２記載の方法。
【請求項１７】
式ＶＩの化合物が２’－Ｏ－メチルアデノシンである，請求項１０または１１記載の方法。
【請求項１８】
工程（ｃ）におけるアルキル化がヨウ化メチルおよび水素化ナトリウムの存在下で行われる，請求項１０または１１記載の方法。
【請求項１９】
アシル成分がベンゾイル成分である，請求項１２記載の方法。
【請求項２０】
式ＸＶの化合物が５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－メチル－Ｎ２－ベンゾイルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）である，請求項１２記載の方法。
【請求項２１】
式ＸＶＩ：
【化１６】



［式中，R_8はスクシネート成分，アルキルシリル成分，またはＨであり；およびR_9は酸不安定性保護成分またはＨである］
を有する化合物を合成する方法であって，

（ａ）式ＸＶＩＩ：
【化１７】


［式中，Ｒ$_8$はシリルアルキル成分である］
の化合物を脱ピリミジン化して，式ＸＶＩ［式中，Ｒ$_8$はシリルアルキル成分であり，Ｒ$_9$はＨである］の化合物を生成し；
（ｂ）工程（ａ）の生成物に酸不安定性保護成分を導入して式ＸＶＩ［式中，Ｒ$_8$はシリルアルキル成分であり，Ｒ$_9$は酸不安定性保護成分である］の化合物を生成し；
（ｃ）工程（ｂ）の生成物を脱保護して，式ＸＶＩ［式中，Ｒ$_8$はＨであり，Ｒ$_9$は酸不安定性保護成分である］の化合物を生成し；そして
（ｄ）工程（ｃ）の生成物にスクシネート成分を導入して式ＸＶＩ［式中，Ｒ$_8$はスクシネート成分であり，Ｒ$_9$は酸不安定性保護成分である］の化合物を生成する，
の各工程を含む方法。
【請求項２２】
式ＸＶＩ：
【化１８】


［式中，Ｒ$_8$はリン含有成分，アルキルシリル成分，またはＨであり；およびＲ$_9$は酸不安定性保護成分またはＨである］
を有する化合物を合成する方法であって，
（ａ）式ＸＶＩＩ：
【化１９】


［式中，Ｒ$_8$はアルキルシリル成分である］
の化合物を脱ピリミジン化して，式ＸＶＩ［式中，Ｒ$_8$はシリルアルキル成分であり，Ｒ$_9$はＨである］の化合物を生成し；
（ｂ）工程（ａ）の生成物に酸不安定性保護成分を導入して，式ＸＶＩ［式中，Ｒ$_8$はシリルアルキル成分であり，Ｒ$_9$は酸不安定性保護成分である］の化合物を生成し；
（ｃ）工程（ｂ）の生成物を脱保護して，式ＸＶＩ［式中，Ｒ$_8$はＨであり，Ｒ$_9$は酸不安定性保護成分である］の化合物を生成し；そして
（ｄ）式ＸＶＩ［式中，Ｒ$_8$はリン含有成分であり，Ｒ$_9$は酸不安定性保護成分である］の化合物を得るのに適した条件下で工程（ｃ）の生成物にリン含有成分を導入する，
の各工程を含む方法。
【請求項２３】

式ＸＶＩＩのシリルアルキル成分が，ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル，ｔｅｒｔ－ブチルジフェニルシリル，またはトリイソプロピルシリルである，請求項２１または２２記載の方法。

【請求項２４】

工程（ｂ）が，工程（ａ）の生成物をシリル化試薬および触媒で処理し，次に水素化および選択的脱シリル化して，式ＸＶＩ［式中，R_8はシリルアルキル成分であり，R_9はＨである］の前記化合物を得ることを含む，請求項２１または２２記載の方法。

【請求項２５】

シリル化試薬がヘキサメチルジシラザンを含む，請求項２４記載の方法。

【請求項２６】

触媒が，硫酸，パラトルエンスルホン酸，または硫酸アンモニウムである，請求項２４記載の方法。

【請求項２７】

触媒が，スルホン酸，ハロゲン化スルホニル，スルホネートまたはスルファミドである，請求項２４記載の方法。

【請求項２８】

スルホン酸が，メタンスルホン酸またはトリフルオロメタンスルホン酸である，請求項２７記載の方法。

【請求項２９】

スルファミドが，メタンスルファミドまたはスルファミドである，請求項２７記載の方法。

【請求項３０】

ハロゲン化スルホニルが塩化メタンスルホニルである，請求項２７記載の方法。

【請求項３１】

スルホネートがトリメチルシリルメタンスルホネートである，請求項２７記載の方法。

【請求項３２】

選択的脱シリル化が，ピリジニウムトリフルオロ酢酸で処理することを含む，請求項２４記載の方法。

【請求項３３】

水素化が，水素ガスおよびパラジウム担持炭素を用いる触媒的水素化である，請求項２４記載の方法。

【請求項３４】

工程（ｃ）における脱保護条件が，エタノール中水酸化ナトリウムによる処理を含む，請求項２１または２２記載の方法。

【請求項３５】

工程（ｄ）の式ＸＶＩの化合物が３－Ｏ－ジメトキシトリチル－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール－５－Ｏ－スクシネートである，請求項２１記載の方法。

【請求項３６】

工程（ｄ）の式ＸＶＩの化合物が３－Ｏ－ジメトキシトリチル－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール－５－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）である，請求項２２記載の方法。

【請求項３７】

酸不安定性保護成分が，ジメトキシトリチル，モノメトキシトリチル，またはトリチルである，請求項２，２１または２２記載の方法。

【請求項３８】

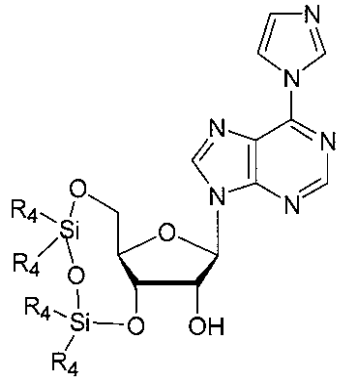
酸不安定性保護成分が，ジメトキシトリチル，モノメトキシトリチル，またはトリチルである，請求項１２記載の方法。

【請求項３９】

リン含有成分がホスホルアミダイト成分である，請求項２，２１または２２記載の方法。

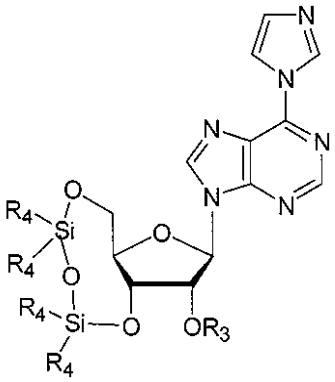
【請求項４０】
リン含有成分がホスホルアミダイト成分である，請求項１２記載の方法。
【請求項４１】
リン含有成分が三リン酸成分である，請求項２，２１または２２記載の方法。
【請求項４２】
リン含有成分が三リン酸成分である，請求項１２記載の方法。
【請求項４３】
ホスホルアミダイト成分が３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）成分である，請求項４０記載の方法。
【請求項４４】
工程（ｄ）におけるアミノ化がアンモニアを用いるアミノ化である，請求項１０または１１記載の方法。
【請求項４５】
工程（ｄ）におけるアミノ化がアクリルアミドを用いるアミノ化である，請求項１０または１１記載の方法。
【請求項４６】
アクリルアミドがベンズアミドである，請求項４５記載の方法。
【請求項４７】
５’，３’－架橋シリル保護基が，塩基の存在下でジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルビス（トリフルオロメタンスルホネート）を用いて導入される，請求項１記載の方法。
【請求項４８】
５’，３’－架橋シリル保護基が，塩基の存在下で１，３－ジクロロ－１，１，３，３－テトライソプロピルジシロキサンを用いて導入される，請求項２記載の方法。
【請求項４９】
塩基が，トリエチルアミン，ジイソプロピルエチルアミン，ピリジン，コリジン，ルチジン，１－メチルイミダゾール，イミダゾール，Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノピリジン，またはこれらの組み合わせである，請求項４７または４８記載の方法。
【請求項５０】
工程（ｃ）における前記アルキル化が，アルキルハロゲン化物および塩基の存在下で行われる，請求項１０または１１記載の方法。
【請求項５１】
アルキルハロゲン化物がヨウ化メチルであり，塩基が水素化ナトリウムである，請求項５０記載の方法。
【請求項５２】
５’および３’ヒドロキシルの脱保護が，酸，フッ素源，またはこれらの組み合わせである試薬を用いて行われる，請求項１または２記載の方法。
【請求項５３】
試薬が，ＨＦ／ピリジン，フッ化テトラブチルアンモニウム，水性ＨＦ溶液，ＨＦガス，またはＨＦ／トリエチルアミン付加物である，請求項５２記載の方法。
【請求項５４】
工程（ａ），（ｂ），および（ｃ）が，独立して，約－２０（Ｃから約５０（Ｃの温度で行われる，請求項１記載の方法。
【請求項５５】
工程（ａ），（ｂ），（ｃ），（ｄ）および（ｅ）が，独立して，約－２０（Ｃから約５０（Ｃの温度で行われる，請求項２記載の方法。
【請求項５６】
工程（ａ），（ｂ），（ｃ），（ｄ）および（ｅ）が，独立して，約－２０（Ｃから約５０（Ｃの温度で行われる，請求項１０記載の方法。
【請求項５７】
工程（ａ），（ｂ），（ｃ），（ｄ）および（ｅ）が，独立して，約－２０（Ｃから約５

０（Ｃの温度で行われる，請求項１１記載の方法。
【請求項５８】
工程（ａ）が，約－２０（Ｃから約５０（Ｃの温度で行われる，請求項１２記載の方法。
【請求項５９】
工程（ａ），（ｂ），（ｃ），および（ｄ）が，独立して，約－２０（Ｃから約５０（Ｃの温度で行われる，請求項２１記載の方法。
【請求項６０】
工程（ｅ）におけるリン含有成分が，クロロホスフィンおよび塩基を用いて導入される，請求項２記載の方法。
【請求項６１】
工程（ａ）におけるリン含有成分が，クロロホスフィンおよび塩基を用いて導入される，請求項１２記載の方法。
【請求項６２】
工程（ｄ）におけるリン含有成分が，クロロホスフィンおよび塩基を用いて導入される，請求項２１または２２記載の方法。
【請求項６３】
塩基が，トリエチルアミン，ジイソプロピルエチルアミン，ピリジン，コリジン，ルチジン，１－メチルイミダゾール，イミダゾール，Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノピリジン，またはこれらの組み合わせである，請求項６０および６１記載の方法。
【請求項６４】
塩基が，トリエチルアミン，ジイソプロピルエチルアミン，ピリジン，コリジン，ルチジン，１－メチルイミダゾール，イミダゾール，Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノピリジン，またはこれらの組み合わせである，請求項６２記載の方法。
【請求項６５】
式ＶＩＩＩ：
【化２０】



［式中，各R_4は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキルである］の化合物。
【請求項６６】
式ＩＸ：

【化２１】

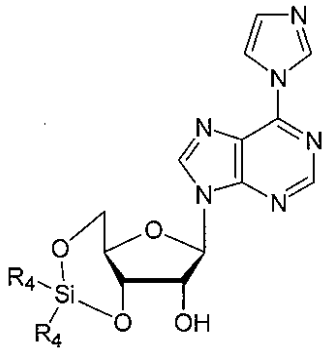


［式中，Ｒ３は，独立して，アルキル，アルコキシアルキル，アルキル－チオ－アルキル，シアノアルキル，または，ハロゲン，アルコキシ，ニトロ，もしくはアルキルである３個までの基で独立して置換されていてもよいアリールアルキルであり，各Ｒ４は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキルである］の化合物。

【請求項６７】

式ＸＩＩ：

【化２２】

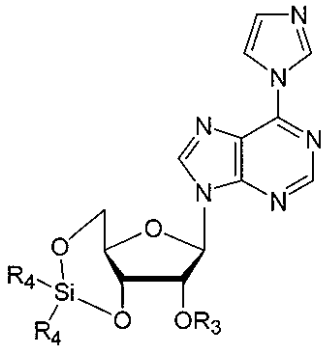


［式中，各Ｒ４は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキルである］の化合物。

【請求項６８】

式ＸＩＩＩ：

【化２３】



［式中，Ｒ３は，独立して，アルキル，アルコキシアルキル，アルキル－チオ－アルキル，シアノアルキル，または，ハロゲン，アルコキシ，ニトロ，もしくはアルキルである３個までの基で独立して置換されていてもよいアリールアルキルであり，各Ｒ４は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキルである］の化合物。

【請求項６９】

Ｒ４がイソプロピルである，請求項６５または６６記載の化合物。

【請求項７０】

R_4がｔｅｒｔ－ブチルである，請求項６７または６８記載の化合物。
【請求項７１】
R_3がメチルである，請求項６６または６８記載の化合物。
【請求項７２】
アルキルハロゲン化物がヨウ化メチルであり，塩基が水素化ナトリウムである，請求項９記載の方法。
【請求項７３】
イミダゾール成分が，リン試薬，ハロゲン化アルカン，およびイミダゾールの存在下で導入される，請求項１０または１１記載の方法。
【請求項７４】
リン試薬がトリフェニルホスフィンである，請求項７３記載の方法。
【請求項７５】
ハロゲン化アルカンが四塩化炭素である，請求項７３記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
発明の分野
本発明は，ヌクレオシド，非ヌクレオシドおよびそれらの誘導体，例えば，ヌクレオシドおよび非ヌクレオシドホスホルアミダイトおよびスクシネートの化学合成に関する。
【０００２】
発明の背景
Ｂｅｉｇｅｌｍａｎらの米国特許出願（６０／２３０，０５７，２０００年９月１日出願，表題”ＭＥＴＨＯＤＳ　ＦＯＲ　ＳＹＮＴＨＥＳＩＺＩＮＧ　ＮＵＣＬＥＯＳＩＤＥＳ　ＡＮＤ　ＮＵＣＬＥＯＳＩＤＥ　ＤＥＲＩＶＡＴＩＶＥＳ”）およびＢｅｉｇｅｌｍａｎらの米国特許出願（６０／２８６，５７１，２００１年４月２５日出願，表題”ＭＥＴＨＯＤＳ　ＦＯＲ　ＳＹＮＴＨＥＳＩＺＩＮＧ　ＮＵＣＬＥＯＳＩＤＥＳ，ＮＵＣＬＥＯＳＩＤＥ　ＤＥＲＩＶＡＴＩＶＥＳ　ＡＮＤ　ＮＯＮ－ＮＵＣＬＥＯＳＩＤＥ　ＤＥＲＩＶＡＴＩＶＥＳ”）に基づく優先権を主張する。これらの出願は，図面を含めその全体を本明細書の一部としてここに引用する。
【０００３】
以下は，ヌクレオシドの合成の簡単な説明である。この概要は完全であることを意味するものではなく，以下に記載される本発明を理解するためにのみ提供される。この概要は，以下に記載される研究が本発明に対する先行技術であると認めるものではない。
【０００４】
オリゴヌクレオチドの構造的修飾は，これらの臨床的用途の可能性が現れるにつれてますます重要になってきている（Ｕｓｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９９６，Ｅｄ．，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｖｏｌ．１０，２４３－２６４；Ａｇｒａｗａｌ，１９９６，Ｔｒｅｎｄｓ　Ｂｉｏｔｅｃｈ．，１４，３７６－３８７；Ｃｈｒｉｓｔｏｆｆｅｒｓｅｎ　ａｎｄ　Ｍａｒｒ，１９９５，Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．，３８，２０２３－２０３７）。効力を維持しながらヌクレアーゼ耐性を増加させるよう化学的に修飾された核酸の効率的な合成は，新規治療剤の開発の可能性にとって重要である。
【０００５】
リボ核酸における構造－機能相関に関する研究は，これまでは，そのような生物学的に関連性のある分子を製造する方法が限定されていたために妨げられていた（Ｃｅｃｈ，１９９２，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，１７，７３８１－７３９３；Ｆｒａｎｃｋｌｙｎ　ａｎｄ　Ｓｃｈｉｍｍｅｌ，１９８９，Ｎａｔｕｒｅ，３３７，４７８－４８１；Ｃｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，１９９１，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，１９，１５７７－１５８３；Ｇｏｌｄ，１９８８，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，５７，１９９－２３３）。酵素的方法は存在したが，構造機能相関を探索することができる方法は限られていた。均一な合成後化学修飾（Ｋａｒａｏｇｌｕ　ａｎｄ　Ｔｈｕｒｌｏｗ，１９９１，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃ

h，１９，５２９３－５３００），または部位特異的突然変異誘発（Ｊｏｈｎｓｏｎ ａｎｄ Ｂｅｎｋｏｖｉｃ，１９９０，Ｔｈｅ Ｅｎｚｙｍｅｓ，Ｖｏｌ．１９，Ｓｉｇｍａｎ ａｎｄ Ｂｏｙｅｒ，ｅｄｓ．，１５９－２１１）のみが利用可能であった。後者の場合，研究者は天然塩基を用いるよう制限された。幸運なことに，ホスホルアミダイトプロトコルをＲＮＡ合成に適用することにより，ＲＮＡに対する我々の理解は大きく加速された。所定のＲＮＡ中の任意の位置に修飾ヌクレオチドを部位特異的に導入することは，今や日常作業となった。さらに，単一の修飾に限定されず，各分子に多くの変形を含有させることができる。

【０００６】

小さい構造的修飾がそのような衝撃を有しうることは釣り合いがとれないように見えるが，リボフラノース環の２’－位に１個のヒドロキシルが存在することが，これまでＲＮＡ分野の研究が匹敵するＤＮＡ研究より遅れていたことの主な理由であった。ＤＮＡ合成の方法の改良が進歩し，このことにより構造的および治療的用途のための大量のアンチセンスデオキシオリゴヌクレオチドの製造が可能となった。ＲＮＡについては，同様の利益は最近になって初めて達成された（Ｗｉｎｃｏｔｔ ｅｔ ａｌ．，１９９５，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，２３，２６７７－２６８４；Ｓｐｒｏａｔ ｅｔ ａｌ．，１９９５，Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ ａｎｄ Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ，１４，２５５－２７３；Ｖａｒｇｅｅｓｅ ｅｔ ａｌ．，１９９８，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，２６，１０４６－１０５０）。

【０００７】

ＤＮＡ合成とＲＮＡ合成との間の隔たりは，５’－および２’－ヒドロキシルの直交保護基を同定することの困難性に起因する。歴史的には，ＲＮＡ合成の問題を解決しようとする化学者は，２つの標準的な方法を取ってきた。第１のアプローチは，当該技術分野において知られるＤＮＡ合成を適用しようとする方法を開発することを含み，一方，第２のアプローチは，ＲＮＡに特に適した方法を設計することを含む。ＤＮＡプロセスの適用は，非ＲＮＡホスホルアミダイトをＲＮＡオリゴマー中に容易に取り込ませることができる，より万能性の方法を与えるが，後者のアプローチの利点は，ＲＮＡ合成に最適なプロセスを開発することができ，その結果として，より高い収率を得ることができることである。しかし，いずれの場合においても，類似の問題点，例えば，合成条件に適合し，かつ適当な際に除去することができる保護基の同定の問題点が存在する。すなわち，この問題は，２’－および５’－ＯＨ基に関連するのみならず，塩基およびリン酸保護基をも含む。したがって，補助剤の選択に加えて，付随する脱保護工程が重要である。別の共通の障害は，モノマービルディングブロックの効率的な合成が必要であることである。

【０００８】

最も一般的な範例は，ＤＮＡ合成方法をＲＮＡに適用することであった。したがって，ＤＮＡ保護基と適合性があり，かつ，オリゴマーが合成された後に容易に除去することができる２’－ヒドロキシル保護基を同定することが重要である。塩基上に存在するアミド保護基および５’－Ｏ－ジメトキシトリチル（ＤＭＴ）基（または場合によっては９－（フェニル）キサンテン－９－イル（Ｐｘ）基）による制約のため，２’－ブロッキング基は酸および塩基の両方に安定でなければならない。さらに，２’－ブロッキング基は，酸化およびキャッピング試薬に対しても不活性でなければならない。最も広く用いられている２’－ヒドロキシル保護基はｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル（ＴＢＤＭＳ）エーテルであるが，多くの他の保護基が研究されてきた。これらの代替２’－保護基としては，アセタール基，例えば，テトラヒドロピラニル（ＴＨＰ），メトキシテトラヒドロピラニル（ｍｔｈｐ），１－（２－フルオロフェニル）－４－メトキシピペリジン－４－イル（Ｆｐｍｐ），１－（２－クロロエトキシ）エチル，２－ヒドロキシイソフタレートホルムアルデヒドアセタール，および１－｛４－［２－（４－ニトロフェニル）エトキシカルボニルオキシ］－３－フルオロベンジルオキシ｝エチル基が挙げられる。さらに，光不安定基，例えば，ｏ－ニトロベンジル，ｏ－ニトロベンジルオキシメチル，およびｐ－ニトロベンジルオキシメチル基も用いられてきた。他の基としては，１，１－ジアニシル－２，２，

２－トリクロロエチル基，ｐ－ニトロフェニルエチルスルホニル基，および２’－Ｏ－トリイソプロピルシリル－オキシ－メチル基が挙げられる。これまでに研究されたさらに別の２’－保護基は，Ｇａｉｔら（１９９１；Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ ａｎｄ Ａｎａｌｏｇｕｅｓ，Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ（Ｆ．Ｅｃｋｓｔｅｉｎ，ｅｄ．），２５－４８，およびＢｅａｕｃａｇｅおよびＩｙｅｒ（１９９２，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ，４８，２２２３－２３１１）に概説されている。

【０００９】

これまでのところ，最も普及している２’－保護基はｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル基であり，これは，原理的にはＯｇｉｌｖｉｅおよびその共同研究者らにより開発された（Ｕｓｍａｎ ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｊ．Ａ．Ｃ．Ｓ．，１０９，７８４５－７８５４）。合成（Ｗｉｎｃｏｔｔ ｅｔ ａｌ．，１９９５，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，２３，２６７７－２６８４，Ｓｐｒｏａｔ ｅｔ ａｌ．，１９９５，Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ ａｎｄ Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ，１４，２５５－２７３，Ｖａｒｇｅｅｓｅ ｅｔ ａｌ．，１９９８，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，２６，１０４６－１０５０），および脱保護（Ｗｉｎｃｏｔｔ ｅｔ ａｌ．，（上掲）；Ｓｐｒｏａｔ ｅｔ ａｌ．，（上掲））の両方の領域におけるシリル化学の最近の進歩により，オリゴリボヌクレオチドの製造においてこれを使用する方法がさらに利用可能となった。

【００１０】

ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル基のリボヌクレオチドの２’－位への導入は，通常は，硝酸銀またはイミダゾールのいずれかの存在下で５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－ヌクレオシドを塩化ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルと反応させることにより行われる。得られた２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル，３’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルおよびビス－置換（３’，２’－ジ－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル）生成物の混合物は，通常はカラムクロマトグラフィーにより精製して，所望の２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル誘導体を単離しなければならない。単離された３’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル誘導体をトリエチルアミン／メタノールまたはピリジン／水中における平衡により処理することにより，シリルエーテルを移動させることができ，このことにより追加の２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル生成物を単離することができる。多数回の再平衡を用いてますます少ない量の所望の２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル生成物を得ることができるが，このプロセスは，時間がかかり，平衡のたびに別々の精製工程を必要とする。したがって，２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル異性体の形成は場合によっては動力学的に好ましいが，一般的に，得られた所望の２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル異性体の単離収率は，競合する３’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルおよびビス置換異性体の形成のため減少する。したがって，ヌクレオシドの２’－ヒドロキシルにシリル保護を選択的に導入するのに有用な，ヌクレオシドホスホルアミダイト合成の一般的方法が求められている。

【００１１】

２’－デオキシ－２’－アミノヌクレオチドを用いて，新規な酵素的核酸分子がインビトロで選択されている（Ｂｅａｕｄｒｙ ｅｔ ａｌ．，２０００，Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎｄ Ｂｉｏｌｏｇｙ，７，３２３－３３４）。このように，２’－デオキシ－２’－アミノ含有オリゴヌクレオチドの効率的な合成に適した方法が必要とされている。Ｂｅｉｇｅｌｍａｎら（１９９５，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，２３，４４３４－４４４２）は，先に，オリゴヌクレオチド合成の間に２’－デオキシ－２’－アミノリボヌクレオチドホスホルアミダイトの２’－アミノ官能基のためにフタロイル保護基を用いることは，トリフルオロアセチルまたはＦｍｏｃ保護基より好ましいことを示している。Ｂｅｉｇｅｌｍａｎら（上掲）はまた，ネフキン（Ｎｅｆｋｉｎ）の方法（Ｎｅｆｋｉｎｓ ｅｔ ａｌ．，１９６０，Ｒｅｃｌ．Ｔｒａｖ．Ｃｈｉｍ．Ｐａｙｓ－Ｂａｓ．，７９，６８８－６９８）を用いて，２’－アミノウリジンから出発して，２’－Ｎ－フタロ

イルウリジンホスホルアミダイトを合成することを記載する。この方法は，出発物質として２’－デオキシ－２’－アミノ－ヌクレオシドを必要とする。

【００１２】

２’－アミノウリジンの最初の製造は，Ｖｅｒｈｅｙｄｅｎら（１９７１，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，３６，２５０－２５４）により記載されている。この方法は，アジ化リチウムを用いて２，２’－Ｏ－アンヒドロウリジンを５０％の収率で開環し，次に触媒的還元により対応するアミンとする。これまでに，この方法を若干改変して用いたいくつかの報告が発表されている。２，２’－Ｏ－アンヒドロウリジンの３’－Ｏ－トリクロロアセチミデートの分子内環化，続いて酸加水分解を用いる方法が，アジドイオンの使用の代替法として発表されている（ＭｃＧｅｅ ｅｔ ａｌ．，１９９６，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，６１，７８１－７８５）。２’－アミノプリンヌクレオシドの合成方法は，２’－アジド基を導入し，次にアミンに還元する，同じ一般的戦略を用いる。あるいは，２’－アジドプリンヌクレオシドは，２’－アジド－２’－デオキシリボース誘導体を用いるグリコシル化（Ｈｏｂｂｓ ａｎｄ Ｅｃｋｓｔｅｉｎ，１９７７，Ｊ．Ｏｒｇ．，Ｃｈｅｍ．，４２，７１４－７１９），２’－アミノ－２’－デオキシウリジンを用いるトランスグリコシル化（Ｉｍａｚａｗａ ａｎｄ Ｅｃｋｓｔｅｉｎ，１９７９，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，４４，２０３９－２０４１），アジドイオンを用いる８，２－シクロプリンヌクレオシドの開環（Ｉｋｅｈａｒａｅｔ ａｌ．，１９７７，Ｃｈｅｍ．Ｐｈａｒｍ．Ｂｕｌｌ．，２５，７５４－７６０；Ｉｋｅｈａｒａ ａｎｄ Ｍａｒｕｙａｍａ，１９７８，Ｃｈｅｍ．Ｐｈａｒｍ．Ｂｕｌｌ．，２６，２４０－２４４），およびアジドイオンを用いる対応する２’－アラビノトリフレートの置換（Ｒｏｂｉｎｓ ｅｔ ａｌ．，１９９２，Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ ａｎｄ Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ，１１，８２１－８３４）により製造されてきた。

【００１３】

他の刊行物もヌクレオシド誘導体の製造を記述しており，例えば，以下のものが挙げられる：Ｋａｒｐｅｉｓｋｙ ｅｔ ａｌ．，国際公開ＷＯ９８／２８３１７（２’－Ｏ－アミノヌクレオシドの合成を記載），Ｂｅｉｇｅｌｍａｎ ｅｔ ａｌ．，米国特許５，９６２，６７５，（２’－Ｏ－メチルヌクレオシドの合成を記載），Ｆｕｒｕｓａｗａ，日本特許６０６７４９２（ヌクレオシド環状ケイ素誘導体の合成を記載），Ｆｕｒｕｓａｗａ，日本特許１０２２６６９７（２’－Ｏ－シリルヌクレオシドの合成を記載），Ｕｓｍａｎ ｅｔ ａｌ．，米国特許５，６３１，３６０（Ｎ－フタロイル保護２’－アミノヌクレオシドホスホルアミダイトを記載），Ｕｓｍａｎ ｅｔ ａｌ．，米国特許５，８９１，６８３（非ヌクレオシド含有酵素的核酸分子を記載），およびＭａｔｕｌｉｃ－Ａｄａｍｉｃ ｅｔ ａｌ．，米国特許５，９９８，２０３（５’および／または３’－キャップ構造を含む酵素的核酸分子を記載）。

【００１４】

発明の概要

本発明は，より少ない合成工程を用い，アジドの使用を回避し，および同時に２’－アミンのＮ－フタロイル保護を導入する，２’－デオキシ－２’－アミノプリンおよびピリミジンヌクレオシドおよびＣ－ヌクレオシドを合成する普遍的な方法を提供する（図１を参照）。

【００１５】

１つの態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’－アミノおよび２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを製造する方法を提供する。該方法は，キログラムまたはそれ以上の量にスケールアップすることができる。該方法は，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドの２’－位に存在する脱離基の置換において，フタルイミドおよび／または置換フタルイミドを求核基として使用して，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを生成することを含む。次に，適当な塩基を用いてフタロイル保護を切断することにより，２’－デオキシ－２’－アミノヌクレオシドが形成される。

【００１６】

本発明は，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを合成する方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：（ａ）１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドの２’－位に脱離基を導入し；そして（ｂ）工程（ａ）からの前記脱離基をフタルイミドまたは置換フタルイミド求核基で置換して，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを得る。

【００１７】

別の態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’－アミノヌクレオシドを合成する方法を提供し，該方法は，以下の工程を含む：（ａ）１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドの２’－位に脱離基を導入し；（ｂ）工程（ａ）からの前記脱離基をフタルイミドまたは置換フタルイミド求核基で置換して２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを生成し；そして（ｃ）前記２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを脱保護して前記２’－デオキシ－２’－アミノヌクレオシドを得る。

【００１８】

別の態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’－アミノおよび２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドを製造する方法を提供する。該方法は，キログラムまたはそれ以上の量にスケールアップすることができる。該方法は，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドの２’－位に存在する脱離基の置換においてフタルイミドおよび／または置換フタルイミドを求核基として使用して，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドを生成することを含む。次に適当な塩基を用いてフタロイル保護を切断することにより，２’－デオキシ－２’－アミノＣ－ヌクレオシドが形成される。

【００１９】

別の態様においては，本発明は，２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドを，前記２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドの形成に適した条件下でフタルイミドまたは置換フタルイミド求核基と接触させる工程を含む，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを合成する方法を提供する。

【００２０】

別の態様においては，本発明は，２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドを，前記２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドの形成に適した条件下でフタルイミドまたは置換フタルイミド求核基と接触させる工程を含む，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドを合成する方法を提供する。

【００２１】

別の態様においては，本発明は，２’－メタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドを，前記２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドの形成に適した条件下でフタルイミドまたは置換フタルイミド求核基と接触させる工程を含む，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを合成する方法を提供する。

【００２２】

別の態様においては，本発明は，２’－メタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドを，前記２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドの形成に適した条件下でフタルイミドまたは置換フタルイミド求核基と接触させる工程を含む，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドを合成する方法を提供する。

【００２３】

別の観点においては，本発明はまた，競合する３’－Ｏ－シリルヌクレオシド異性体の形成を回避し，このことにより２’－Ｏ－シリルヌクレオシドおよび３’－Ｏ－シリルヌクレオシド異性体の分離の必要を回避しながら全体的合成収率を改善する，核酸塩基保護２’－Ｏ－シリルヌクレオシドホスホルアミダイトおよび２’－Ｏ－シリルＣ－ヌクレオシドを合成する方法を提供する（図２）。本明細書に記載される方法は，３’－Ｏ－シリル

ヌクレオシド異性体を再平衡化させて追加の２’－Ｏ－シリルヌクレオシドを精製する慣例を回避する。さらに，本発明の方法は，核酸塩基の保護において別々の工程としてフラノシルヒドロキシルを一時的に保護する必要を回避する。

【００２４】

本発明はまた，２’－Ｏ－シリル－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリルヌクレオシドホスホルアミダイトを製造する方法を提供する。該方法は，キログラムまたはそれ以上の量にスケールアップすることができる。該方法は以下の工程を含む：（１）ヌクレオシドに５’，３’－環状シリル保護基を導入し；（２）工程（１）の生成物に２’－Ｏ－シリル保護基を導入し；（３）必要な場合には工程（２）の生成物に核酸塩基保護を導入し；（４）工程（３）の生成物を選択的に脱シリル化し；（５）工程（４）の生成物に５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして（６）ホスフィチル化試薬を用いて工程（５）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入して，２’－Ｏ－シリル－ヌクレオシドホスホルアミダイトを得る。

【００２５】

別の態様においては，本発明は，２’－Ｏ－シリル－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－ヌクレオシドホスホルアミダイトを合成する方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：（１）必要な場合にはヌクレオシドに核酸塩基保護を導入し；（２）工程（１）の生成物に５’，３’－環状シリル保護基を導入し；（３）工程（２）の生成物に２’－Ｏ－シリル保護基を導入し；（４）工程（３）の生成物を選択的に脱シリル化し；（５）工程（４）の生成物に５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして（６）ホスフィチル化試薬を用いて工程（５）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入して，２’－Ｏ－シリル－ヌクレオシドホスホルアミダイトを得る。

【００２６】

別の態様においては，２’－Ｏ－シリル－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－ヌクレオシドホスホルアミダイトの合成方法を用いて，２’－Ｏ－シリル－Ｄ－リボフラノシルヌクレオシド，２’－Ｏ－シリル－Ｄ－リボフラノシルヌクレオシドホスホルアミダイト，２’－Ｏ－シリル－Ｌ－リボフラノシルヌクレオシド，２’－Ｏ－シリル－Ｌ－リボフラノシルヌクレオシドホスホルアミダイト，２’－Ｏ－シリル－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシド，２’－Ｏ－シリル－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドホスホルアミダイトおよび２’－Ｏ－シリル－Ｌ－アラビノフラノースヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｌ－アラビノフラノースヌクレオシドホスホルアミダイトの両方を合成する。

【００２７】

本発明はまた，２’－Ｏ－シリル－Ｃ－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｃ－ヌクレオシドホスホルアミダイトを製造する方法を提供する。該方法は，キログラムまたはそれ以上の量にスケールアップすることができる。該方法は以下の工程を含む：（１）Ｃ－ヌクレオシドに５’，３’－環状シリル保護基を導入し；（２）工程（１）からの生成物に２’－Ｏ－シリル保護基を導入し；（３）必要な場合には工程（２）の生成物に核酸塩基保護を導入し；（４）工程（３）の生成物を選択的に脱シリル化し；（５）工程（４）の生成物に５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして（６）ホスフィチル化試薬を用いて工程（５）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【００２８】

別の態様においては，本発明は，２’－Ｏ－シリル－Ｃ－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｃ－ヌクレオシドホスホルアミダイトを合成する方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：（１）必要な場合にはＣ－ヌクレオシドに核酸塩基保護を導入し；（２）工程（１）の生成物に５’，３’－環状シリル保護基を導入し；（３）工程（２）からの生成物に２’－Ｏ－シリル保護基を導入し；（４）工程（３）の生成物を選択的に脱シリル化し；（５）工程（４）の生成物に５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして（６）ホスフィチル化試薬を用いて工程（５）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【００２９】

別の態様においては，２’－Ｏ－シリル－Ｃ－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｃ－ヌクレオシドホスホルアミダイトを合成する方法を用いて，２’－Ｏ－シリル－Ｄ－リボフラノシルＣ－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｄ－リボフラノシルＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイト，２’－Ｏ－シリル－Ｌ－リボフラノシルＣ－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｌ－リボフラノシルＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイト，２’－Ｏ－シリル－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイトおよび２’－Ｏ－シリル－Ｌ－アラビノフラノースＣ－ヌクレオシド，および２’－Ｏ－シリル－Ｌ－アラビノフラノースＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイトの両方を合成する。

【００３０】

さらに別の観点においては，本発明は，２’－Ｏ－メチルグアノシンヌクレオシドおよび２’－Ｏ－メチルグアノシンヌクレオシドホスホルアミダイトを製造する方法を提供する。２’－Ｏ－メチルグアノシンヌクレオシドおよび２’－Ｏ－メチルグアノシンヌクレオシドホスホルアミダイトは，２，６－ジアミノプリンヌクレオシドから，２，６－ジアミノプリンヌクレオシドを選択的にメチル化し，次に２，６－ジアミノプリンヌクレオシドを選択的に脱アミノ化して，２’－Ｏ－メチルグアノシンヌクレオシドを得ることにより合成する。

【００３１】

本発明は，２’－Ｏ－メチルグアノシンヌクレオシドおよび２’－Ｏ－メチルグアノシンヌクレオシドホスホルアミダイトを製造する実用的な方法を提供する。該方法は，キログラムまたはそれ以上の量にスケールアップすることができる。該方法は以下の工程を含む：（１）ジシリルアルキルビス（トリフルオロメタンスルホネート）を用いて，２，６－ジアミノ－９－（β－リボフラノシル）プリンに５’，３’－環状シリル保護基を導入して，２，６－ジアミノ－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－メチル－β－リボフラノシル］プリンを形成し；（２）２，６－ジアミノ－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－β－リボフラノシル］プリンの単離に適した条件下で工程（１）の生成物をメチル化し；（３）N^2－N^6－２，６－ジアミノ－ジアシル－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－メチル－β－リボフラノシル］プリンの単離に適した条件下で，工程（２）からの生成物のＮ２およびＮ６位にアシル保護を導入し；（４）２，６－ジアミノ－N^2－アシル－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－メチル－β－リボフラノシル］プリンの単離に適した条件下で，工程（３）の生成物のN^6位を選択的に置換し；（５）N^2－アシル－２’－Ｏ－メチルグアノシンの単離に適した条件下で，工程（４）の生成物をＮ６－アミンを化学的に脱アミノ化し，脱シリル化し；（６）N^2－アシル－５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－メチルグアノシンを得るのに適した条件下で，工程（５）の生成物に５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして（７）ホスフィチル化試薬を用いて，N^2－アシル－５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－メチルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（６）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【００３２】

別の態様においては，本発明は，２’－Ｏ－メチルグアノシンヌクレオシドを化学的に合成する方法を提供し，該方法は，以下の工程を含む：（１）ジシリルアルキルビス（トリフルオロメタンスルホネート）を用いて，２，６－ジアミノ－９－（β－リボフラノシル）プリンに５’，３’－環状シリル保護基を導入して，２，６－ジアミノ－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－β－リボフラノシル］プリンを形成し；（２）２，６－ジアミノ－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－メチル－β－リボフラノシル］プリンの単離に適した条件下で，工程（１）の生成物をメチル化し；（３）２，６－ジアミノ－Ｎ２－Ｎ６－ジアシル－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－メチル－β－リボフラノシル］プリンの単離に適した条件下で，工程（２）からの生成物のＮ２およびＮ６位をアシル化し；（４）２

，６－ジアミノ－Ｎ２－アシル－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－メチル－β－リボフラノシル］プリンの単離に適した条件下で，工程（３）の生成物のＮ６位を選択的に脱アシル化し；（５）Ｎ２－アシル－２’－Ｏ－メチルグアノシンの単離に適した条件下で，工程（４）の生成物をＮ６－アミンを脱アミノ化し，脱シリル化し；そして（６）前記２’－Ｏ－メチルグアノシンヌクレオシドの単離に適した条件下で，工程（ｅ）の生成物からＮ２－アミンを脱保護する。

【００３３】

さらに別の観点においては，本発明は，２’－Ｏ－アルキルアデノシンヌクレオシドおよび２’－Ｏ－アルキルアデノシンヌクレオシドホスホルアミダイトを製造する方法を提供する。２’－Ｏ－アルキルアデノシンヌクレオシドおよび２’－Ｏ－アルキルアデノシンヌクレオシドホスホルアミダイトは，アデノシンから，５’，３’－シランジイル保護アデノシンヌクレオシドの２’－ヒドロキシルを選択的にアルキル化し，次に５’，３’－シランジイルを選択的に脱保護して２’－Ｏ－アルキルアデノシンヌクレオシドを得ることにより合成する。所望の場合には，５’，３’－シランジイルのアルキル化の後，脱保護の前に，アデノシンのＮ６アミンを保護して，Ｎ６－アシル－２’－Ｏ－アルキルアデノシンを得ることができる。オリゴヌクレオチド合成に適合した酸不安定性保護基およびリン含有基は，当該技術分野において知られるようにして導入することができる。

【００３４】

１つの態様においては，２’－Ｏ－アルキルアデノシンヌクレオシドおよび２’－Ｏ－アルキルアデノシンヌクレオシドホスホルアミダイトは，イノシンから，５’，３’－シランジイル保護イノシンヌクレオシドのＯ６位にイミダゾールまたはトリアゾール成分を導入し，５’，３’－シランジイル保護アデノシンＮ６－イミダゾールヌクレオシドの２’－ヒドロキシルを選択的にアルキル化し，次に５’，３’－シランジイルをＮ６アミノ化および脱保護して，２’－Ｏ－アルキルアデノシンヌクレオシドを得ることにより合成する。あるいは，５’，３’－シランジイル保護２’－Ｏ－アルキルアデノシンＮ６－イミダゾールヌクレオシドを脱シリル化して，２’－Ｏ－アルキルアデノシンＮ６－イミダゾールヌクレオシドとし，これをアンモニアでアミノ化して，２’－Ｏ－アルキルアデノシンを得る。当該技術分野において知られるように，オリゴヌクレオチド合成に適合した酸不安定性保護基およびリン含有基を導入することができる。

【００３５】

本発明は，２’－Ｏ－アルキルアデノシンヌクレオシドおよび２’－Ｏ－アルキルアデノシンヌクレオシドホスホルアミダイトを製造する実用的な方法を提供する。該方法は，キログラムまたはそれ以上の量にスケールアップすることができる。該方法は以下の工程を含む：（１）ジシリルアルキルビス（トリフルオロメタンスルホネート）を用いてアデノシンに５’，３’－環状シリル保護基を導入して５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－アデノシンを形成し；（２）５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－アルキルアデノシンの単離に適した条件下で，工程（１）の生成物をアルキル化し；（３）N^6－アシル－５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－アルキルアデノシンの単離に適した条件下で，工程（２）からの生成物のＮ６位にアシル保護を導入し；（４）N^2－アシル－２’－Ｏ－アルキルアデノシンの単離に適した条件下で，工程（３）の生成物を脱シリル化し；（５）N^6－アシル－５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－アルキルアデノシンを得るのに適した条件下で，工程（４）の生成物に５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして（６）ホスフィチル化試薬を用いて，N^6－アシル－５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－アルキルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（５）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【００３６】

別の態様においては，本発明は，２’－Ｏ－アルキルアデノシンヌクレオシドを化学的に合成する方法を提供し，該方法は，以下の工程を含む：（１）ジシリルアルキルビス（トリフルオロメタンスルホネート）を用いて，アデノシンに５’，３’－環状シリル保護基

を導入して，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）アデノシンを形成し；（２）５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－アルキルアデノシンの単離に適した条件下で，工程（１）の生成物をアルキル化し；（３）N^6－アシル－２’－Ｏ－アルキルアデノシンの単離に適した条件下で，工程（２）の生成物を脱シリル化する。

【００３７】

本発明は，２’－Ｏ－アルキルアデノシンヌクレオシドおよび２’－Ｏ－アルキルアデノシンヌクレオシドホスホルアミダイトを製造する実用的な方法を提供する。該方法は，キログラムまたはそれ以上の量にスケールアップすることができる。該方法は以下の工程を含む：（１）イノシンに５’，３’－環状シリル保護基を導入して，５’，３’－保護－イノシンを形成し；（２）５’，３－保護－N^6－イミダゾールアデノシンの単離に適した条件下で，工程（１）の生成物にN^6イミダゾール成分を導入し；（３）５’，３’－保護－２’－Ｏ－アルキル－N^6－イミダゾールアデノシンの単離に適した条件下で，工程（２）の生成物をアルキル化し；（４）N^6－アシル－５’，３’－保護－２’－Ｏ－アルキルアデノシンの単離に適した条件下で，工程（３）からの生成物のＮ６位にアシル保護を導入し；（５）N^6－アシル－２’－Ｏ－アルキルアデノシンの単離に適した条件下で，工程（４）の生成物を脱シリル化し；（６）N^6－アシル－５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－アルキルアデノシンを得るのに適した条件下で，工程（５）の生成物に５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして（７）ホスフィチル化試薬を用いて，N^6－アシル－５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－アルキルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（６）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【００３８】

別の態様においては，本発明は，２’－Ｏ－アルキルアデノシンヌクレオシドを化学的に合成する方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：（１）イノシンに５’，３’－環状シリル保護基を導入して，５’，３’－保護イノシンを生成し；（２）N^6－イミダゾール－５’，３’－保護アデノシンの単離に適した条件下で，工程（１）の生成物にN^6イミダゾール成分を導入し；（３）N^6－イミダゾール－５’，３’－保護－２’－Ｏ－アルキルアデノシンの単離に適した条件下で，工程（２）の生成物をアルキル化し；（４）N^6－アシル－５’，３’－保護－２’－Ｏ－アルキルアデノシンまたは５’，３’－保護－２’－Ｏ－アルキルアデノシンの単離に適した条件下で，工程（３）からの生成物のＮ６位をアミノ化し；（５）N^6－アシル－２’－Ｏ－アルキルアデノシンまたは２’－Ｏ－アルキルアデノシンの単離に適した条件下で，工程（４）の生成物を脱シリル化する。

【００３９】

別の態様においては，脱シリル化の前または後に，N^6－イミダゾール－５’，３’－保護－２’－Ｏ－アルキルアデノシンのアミノ化に，アクリルアミド，例えば，ベンズアミドを用いて，環外のアミン保護を導入する。

【００４０】

本発明はまた，１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール誘導体，例えば，１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールスクシネートおよびホスホルアミダイトを合成する実用的な方法を提供する。該方法は以下の工程を含む：（１）５－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールの単離に適した条件下で，５’－Ｏ－保護チミジン誘導体を脱ピリミジン化し；（２）５－Ｏ－保護－３－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールの単離に適した条件下で，５－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールのＣ３ヒドロキシルに酸不安定性保護基を導入し；（３）３－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールの単離に適した条件下で，工程（２）の生成物を選択的に５－Ｏ－脱保護し；そして（４）５－Ｏ－スクシニル－３－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－

ペンチトールまたは３－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール－５－Ｏ－ホスホルアミダイトの単離に適した条件下で，工程（３）の生成物の５位にスクシネート成分またはホスホルアミダイト成分を含む化学成分を導入する。

【００４１】

図面の簡単な説明

図１は，本発明の方法による，２’－デオキシ－２’－アミノヌクレオシド，２’－デオキシ－２’－アミノＣ－ヌクレオシド，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシド，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシド，ヌクレオシドホスホルアミダイトおよびＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイトの合成を記述する一般的反応スキームの概略図である。

【００４２】

図２は，本発明の方法による，２’－Ｏ－シリルヌクレオシドホスホルアミダイトおよび２’－Ｏ－シリルＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイトの合成を記述する一般的反応スキームの概略図である。

【００４３】

図３は，本発明の方法による，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルシチジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（８）および２’－デオキシ－２’－アミノシチジン（９）の合成に関連するスキームの概略図である。

【００４４】

図４は，本発明の方法による，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルウリジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（１６）および２’－デオキシ－２’－アミノウリジン（１７）の合成に関連するスキームの概略図である。

【００４５】

図５は，本発明の方法による，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（２５）および２’－デオキシ－２’－アミノアデノシン（２６）の合成に関連するスキームの概略図である。

【００４６】

図６は，本発明の方法による，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（３６）および２’－デオキシ－２’－アミノグアノシン（３７）の合成に関連するスキームの概略図である。

【００４７】

図７は，本発明の方法による，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（４３）の合成に関連するスキームの概略図である。

【００４８】

図８は，本発明の方法による，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルウリジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（４８）の合成に関与するスキームの概略図である。

【００４９】

図９は，本発明の方法による，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（５４）の合成に関連するスキームの概略図である。

【００５０】

図１０は，本発明の方法による，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－

Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（６０）の合成に関連するスキームの概略図である。

【００５１】

図１１は，本発明の方法による，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－メチル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（６９）および２’－Ｏ－メチルグアノシン（７０）の合成に関与するスキームの概略図である。

【００５２】

図１２は，例えば，図３の工程ＩＶおよび図４および５の工程ＩＩＩにおいて生ずる競合的除去反応の概略図である。

【００５３】

図１３は，本発明の方法による，２’－Ｏ－メチルアデノシン（７５）の合成に関連するスキームの概略図である。図１３に示される合成の方法を用いて，オリゴヌクレオチド合成用の２’－Ｏ－メチルホスホルアミダイトおよび他の２’－Ｏ－メチル誘導体を合成することができる。

【００５４】

図１４は，Ｎ６－イミダゾールアデノシン中間体を用いる本発明の方法による，２’－Ｏ－メチルアデノシン（７５）の合成に関連するスキームの概略図である。図１４に示される合成の方法を用いて，オリゴヌクレオチド合成用の２’－Ｏ－メチルホスホルアミダイトおよび他の２’－Ｏ－メチル誘導体を合成することができる。

【００５５】

図１５は，本発明の方法による１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール誘導体の合成に関連するスキームの概略図である。図１５に示される合成方法を用いて，オリゴヌクレオチド合成において用いるための１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールホスホルアミダイトおよび１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールスクシネートを合成することができる。

【００５６】

発明の詳細な説明

本明細書において用いる場合，”ヌクレオシド”との用語は，糖，特にペントースとＮ－グリコシド結合している複素環窒素性塩基，特にプリンまたはピリミジンを表す。ヌクレオシドには，Ｌ－およびＤ－ヌクレオシド異性体の両方が含まれる。

【００５７】

本明細書において用いる場合，”Ｃ－ヌクレオシド”との用語は，糖，特にペントースとＣ－グリコシド結合している複素環または芳香族基またはアグリコンを表す。Ｃ－ヌクレオシドには，Ｌ－およびＤ－のＣ－ヌクレオシド異性体の両方が含まれる。

【００５８】

本明細書において用いる場合，”リボフラノシルヌクレオシド”との用語は，２’－ヒドロキシル基をＬ－またはＤ－ベーター－リボフラノシルコンフィギュレーションで含むヌクレオシドまたはヌクレオシド類似体を表す。

【００５９】

本明細書において用いる場合，”アラビノフラノシルヌクレオシド”との用語は，Ｌ－またはＤ－ベーター－アラビノフラノシルコンフィギュレーションで２’－ヒドロキシル基を含むヌクレオシドまたはヌクレオシド類似体を表す。

【００６０】

本明細書において用いる場合，”求核基”との用語は，孤立電子対を含み，炭素原子への新たな結合を形成する，塩基性の，電子に富む試薬を表す。求核基は，アニオンでもよく，または中性の電荷でもよい。例としては，限定されないが，カルバニオン，酸素アニオン，ハロゲン化物アニオン，イオウアニオン，窒素アニオン，窒素塩基，アルコール，水およびチオールが挙げられる。

【００６１】

本明細書において用いる場合，”脱離基”との用語は，炭素を容易に放出し，前記炭素原子から孤立電子対を取り出す弱塩基性の化学種を表す。例としては，限定されないが，トリフレート，ノシレート，ブロシレート，ｐ－トルエンスルホネート，トリフルオロ酢酸，およびメシレートが挙げられる。

【００６２】

本明細書において用いる場合，”ヒンダード塩基”との用語は，弱い求核性の強塩基性アミン塩基を表す。

【００６３】

本明細書において用いる場合，”保護１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシド”との用語は，保護基を含む１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドを表す。保護基は，ヌクレオシド中に存在する反応性基との望ましくない副反応を防止し，このことにより，目的とするヌクレオシド中の所望の位置における選択的反応を可能とするために用いられる。保護基は容易に導入および除去することができ，いずれの反応も高い収率で生ずる。例えば，アシル基による核酸塩基環外のアミンの保護，またはジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシまたはジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル基によるヌクレオシド５’，３’－ヒドロキシルの保護は，これらの位置における望ましくない反応を防止し，このことにより，標的ヌクレオシドの２’－ヒドロキシルにおける選択的反応を可能とする。

【００６４】

本明細書において用いる場合，”保護１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシド”との用語は，保護基を含む１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドを表す。保護基は，ヌクレオシド中に存在する反応性基との望ましくない副反応を防止し，このことにより目的とするヌクレオシド中の所望の位置における選択的反応を可能とするために用いられる。保護基は容易に導入および除去することができ，いずれの反応も高い収率で生ずる。例えば，アシル基による核酸塩基環外のアミンの保護，またはジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシまたはジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル基によるヌクレオシド５’，３’－ヒドロキシルの保護は，これらの位置における望ましくない反応を防止し，このことにより，標的Ｃ－ヌクレオシドの２’－ヒドロキシルにおける選択的反応を可能とする。

【００６５】

本明細書において用いる場合，”５’，３’－環状シリル保護基”，または”５’，３’－架橋シリル保護基”，または”５’および３’ヒドロキシルの同時保護”との用語は，ヌクレオシドまたはＣ－ヌクレオシドの５’－ヒドロキシルと３’－ヒドロキシル基との間のヌクレオシド内シリルエーテル結合の架橋の形成を介して，ヌクレオシドまたはＣ－ヌクレオシドの５’および３’位の両方を選択的に保護する保護基を表す。このような架橋基としては，限定されないが，ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシまたはジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル基が挙げられる。

【００６６】

本明細書において用いる場合，”２’－Ｏ－シリル”との用語は，ヌクレオシドまたはＣ－ヌクレオシドの２’－位の置換シリルエーテル，例えば，２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル基を表す。

【００６７】

本明細書において用いる場合，”シリル化”との用語は，シリル基またはケイ素含有基を導入するプロセスを表す。シリル基としては，限定されないが，ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル（ＴＢＤＭＳ），トリイソプロピルシリル（ＴＩＰＳ），トリエチルシリル（ＴＥＳ），トリメチルシリル（ＴＭＳ），ｔｅｒｔ－ブチルジフェニルシリル（ＴＢＤＰＳ）が挙げられる。”環状シリル化”との用語は，架橋シリル基，例えば，ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシまたはジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル基を導入するプロセスを表す。

【００６８】

本明細書において用いる場合，”脱シリル化”との用語は，シリル基またはケイ素含有基

を除去するプロセスを表す。

【００６９】

本明細書において用いる場合，”ジ－アルキルシランジイル”との用語は，ジアルキル－置換シリル基，例えば，ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル基を表す。

【００７０】

本明細書において用いる場合，”ホスフィチル化試薬”との用語は，ホスホルアミダイト成分を導入するために用いられる試薬を表す。

【００７１】

本明細書において用いる場合，”過渡的保護”との用語は，ヌクレオシドまたはＣ－ヌクレオシドの１またはそれ以上の糖ヒドロキシル基を保護基でマスキングすることを表し，これは例えば，核酸塩基保護基，例えば，アシル基を導入する前に，トリメチルシリルエーテルを形成し，次に保護基を加水分解して遊離ヒドロキシルを生じさせることにより行う。

【００７２】

本明細書において用いる場合，”核酸塩基保護”との用語は，環外のアミン保護基を導入すること，例えば，ヌクレオシドの核酸塩基上にアシル基またはホルムアミド基を導入することを表す。

【００７３】

”オリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基”または”酸不安定性保護成分”との用語は，固相または溶液相のオリゴヌクレオチド合成において用いることができる保護基，例えば，ジメトキシトリチル，モノメトキシトリチル，および／またはトリチル基または他の保護基を表す。

【００７４】

本明細書において用いる場合，”アシル基”との用語は，一般式Ｒ－Ｃ（Ｏ）－（ここで，Ｒは，脂肪族，脂肪族環，または芳香族基を表し，Ｃ（Ｏ）はカルボニルを表す）を含む化学種を表す。

【００７５】

本明細書において用いる場合，”アシル化”との用語は，酸，酸ハロゲン化物または酸無水物を用いて，ヒドロキシル基をエステルに，またはアミンをアミドに変換するプロセスを表す。

【００７６】

本明細書において用いる場合，”脱ピリミジン化”との用語は，ピリミジン塩基とヌクレオシド性糖成分との間のヌクレオシドＣ－Ｎグリコシル結合を切断することを表す。

【００７７】

本明細書において用いる場合，”スクシネート成分”との用語は，１またはそれ以上のスクシニル基を含む化学成分を表し，これらの塩，例えば，トリエチルアミン塩も含まれる。

【００７８】

本明細書において用いる場合，”ホスホルアミダイト成分”との用語は，窒素を含有する三価のリン誘導体，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイトを表す。

【００７９】

本明細書において用いる場合，”アルキル”との用語は，飽和脂肪族炭化水素を表し，直鎖，分枝鎖”イソアルキル”，および環状アルキル基が含まれる。”アルキル”との用語はまた，アルコキシ，アルキル－チオ，アルキル－チオ－アルキル，アルコキシアルキル，アルキルアミノ，アルケニル，アルキニル，アルコキシ，シクロアルケニル，シクロアルキル，シクロアルキルアルキル，ヘテロシクロアルキル，ヘテロアリール，C_1－C_6ヒドロカルビル，アリールまたは置換アリール基を含む。好ましくは，アルキル基は，１－１２個の炭素を有する。より好ましくは，これは１－７個の炭素，より好ましくは１－４個の炭素を有する低級アルキルである。アルキル基は置換されていても置換されていな

くてもよい。置換されている場合，置換基は，好ましくは，ヒドロキシ，オキシ，チオ，アミノ，ニトロ，シアノ，アルコキシ，アルキル－チオ，アルキル－チオ－アルキル，アルコキシアルキル，アルキルアミノ，シリル，アルケニル，アルキニル，アルコキシ，シクロアルケニル，シクロアルキル，シクロアルキルアルキル，ヘテロシクロアルキル，ヘテロアリール，C_1－C_6ヒドロカルビル，アリールまたは置換アリール基を含む。”アルキル”との用語はまた，少なくとも１つの炭素－炭素二重結合を含むアルケニル基を含み，直鎖，分枝鎖および環状基を含む。好ましくは，アルケニル基は２－１２個の炭素を有する。より好ましくは，これは２－７個の炭素，さらに好ましくは，２－４個の炭素を有する低級アルケニルである。アルケニル基は置換されていても置換されていなくてもよい。置換されている場合，置換基は，好ましくは，ヒドロキシ，オキシ，チオ，アミノ，ニトロ，シアノ，アルコキシ，アルキル－チオ，アルキル－チオ－アルキル，アルコキシアルキル，アルキルアミノ，シリル，アルケニル，アルキニル，アルコキシ，シクロアルケニル，シクロアルキル，シクロアルキルアルキル，ヘテロシクロアルキル，ヘテロアリール，C_1－C_6ヒドロカルビル，アリールまたは置換アリール基を含む。”アルキル”との用語はまた，少なくとも１つの炭素－炭素三重結合を含むアルキニル基を含み，直鎖，分枝鎖および環状基を含む。好ましくは，アルキニル基は２－１２個の炭素を有する。より好ましくは，これは，２－７個の炭素，より好ましくは２－４個の炭素を含む低級アルキニルである。アルキニル基は置換されていても置換されていなくてもよい。置換されている場合，置換基は，好ましくは，ヒドロキシ，オキシ，チオ，アミノ，ニトロ，シアノ，アルコキシ，アルキル－チオ，アルキル－チオ－アルキル，アルコキシアルキル，アルキルアミノ，シリル，アルケニル，アルキニル，アルコキシ，シクロアルケニル，シクロアルキル，シクロアルキルアルキル，ヘテロシクロアルキル，ヘテロアリール，C_1－C_6ヒドロカルビル，アリールまたは置換アリール基を含む。本発明のアルキル基またはアルキル成分はまた，アリール，アルキルアリール，炭素環式アリール，複素環式アリール，アミドおよびエステル基を含んでいてもよい。アリール基の好ましい置換基は，ハロゲン，トリハロメチル，ヒドロキシル，ＳＨ，ＯＨ，シアノ，アルコキシ，アルキル，アルケニル，アルキニル，およびアミノ基である。”アルキルアリール”基とは，アリール基（上述したとおりである）に共有結合したアルキル基（上述したとおりである）を表す。炭素環式アリール基は，芳香族環の環原子がすべて炭素原子である基である。炭素原子は，任意に置換されていてもよい。複素環式アリール基は，芳香族環中に環原子として１－３個の複素原子を有し，環原子の残りが炭素原子である基である。適当な複素原子には，酸素，イオウ，および窒素が含まれ，例えば，フラニル，チエニル，ピリジル，ピロリル，Ｎ－低級アルキルピロロ，ピリミジル，ピラジニル，イミダゾリル等が挙げられ，これらはすべて任意に置換されていてもよい。”アミド”とは，－Ｃ（Ｏ）－ＮＨ－Ｒを表し，ここで，Ｒはアルキル，アリール，アルキルアリールまたは水素のいずれかである。”エステル”とは，－Ｃ（Ｏ）－ＯＲ’基を表し，ここで，Ｒは，アルキル，アリール，アルキルアリールまたは水素のいずれかである。

【００８０】

本明細書において用いる場合，”アルカノイル”との用語は，カルボニル基を介して親分子の成分に結合しているアルキル基を表す。

【００８１】

本明細書において用いる場合，”アルコキシアルキル”との用語は，アルキル－Ｏ－アルキルエーテルを表し，例えば，メトキシエチルまたはエトキシメチルが含まれる。

【００８２】

本明細書において用いる場合，”アルキル－チオ－アルキル”との用語は，アルキル－Ｓ－アルキルチオエーテルを表し，例えば，メチルチオメチルまたはメチルチオエチルが含まれる。

【００８３】

本明細書において用いる場合，”アミノ”との用語は，当該技術分野において知られるように，１またはそれ以上の水素ラジカルを有機ラジカルにより置き換えることによりアン

モニアから誘導される窒素含有基を表す。例えば，”アミノアシル”および”アミノアルキル”との用語は，それぞれアシルおよびアルキル置換基を有する特定のＮ－置換有機ラジカルを表す。

【００８４】

本明細書において用いる場合，”アミノ化”との用語は，有機分子中にアミノ基または置換アミンを導入するプロセスを表す。

【００８５】

本明細書において用いる場合，”環外のアミン保護成分”との用語は，オリゴヌクレオチド合成に適合した核酸塩基アミノ保護基，例えば，アシルまたはアミド基を表す。

【００８６】

本明細書において用いる場合，”シリル化試薬”との用語は，シリル基を化合物に導入するために用いられる化学試薬を表す。

【００８７】

本明細書において用いる場合，”選択的脱シリル化”との用語は，別のシリル基の存在下で化合物から１つのシリル基を選択的に除去することを表す。

【００８８】

本明細書において用いる場合，”アルケニル”との用語は，少なくとも１つの炭素－炭素二重結合を含み，表示される数の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖の炭化水素を表す。”アルケニル”の例としては，ビニル，アリル，および２－メチル－３－ヘプテンが挙げられる。

【００８９】

本明細書において用いる場合，”アルコキシ”との用語は，酸素架橋を介して親分子の成分に結合した，示される数の炭素原子のアルキル基を表す。アルコキシ基の例としては，例えば，メトキシ，エトキシ，プロポキシおよびイソプロポキシが挙げられる。

【００９０】

本明細書において用いる場合，”アルキニル”との用語は，少なくとも１つの炭素－炭素三重結合を含む，所定の数の炭素原子の直鎖または分枝鎖の炭化水素を表す。”アルキニル”の例としては，プロパルギル，プロピン，および３－ヘキシンが挙げられる。

【００９１】

本明細書において用いる場合，”アリール”との用語は，少なくとも１つの芳香族環を含む芳香族炭化水素環系を表す。芳香族環は縮合していてもよく，あるいは，他の芳香族炭化水素環または非芳香族炭化水素環に結合していてもよい。アリール基の例としては，例えば，フェニル，ナフチル，１，２，３，４－テトラヒドロナフタレンおよびビフェニルが挙げられる。アリール基の好ましい例としては，フェニルおよびナフチルが挙げられる。

【００９２】

本明細書において用いる場合，”シクロアルケニル”との用語は，少なくとも１つの炭素－炭素二重結合を含むC_3－C_8環状炭化水素を表す。シクロアルケニルの例としては，シクロプロペニル，シクロブテニル，シクロペンテニル，シクロペンタジエン，シクロヘキセニル，１，３－シクロヘキサジエン，シクロヘプテニル，シクロヘプタトリエニル，およびシクロオクテニルが挙げられる。

【００９３】

本明細書において用いる場合，”シクロアルキル”との用語は，C_3－C_8の環状炭化水素を表す。シクロアルキルの例としては，シクロプロピル，シクロブチル，シクロペンチル，シクロヘキシル，シクロヘプチルおよびシクロオクチルが挙げられる。

【００９４】

本明細書において用いる場合，”シクロアルキルアルキル”との用語は，上で定義したアルキル基を介して親分子成分に結合しているC_3－C_7のシクロアルキル基を表す。シクロアルキルアルキル基の例としては，シクロプロピルメチルおよびシクロペンチルエチルが挙げられる。

【００９５】
本明細書において用いる場合，”ハロゲン”または”ハロ”との用語は，フッ素，塩素，臭素，およびヨウ素を示すことを表す。
【００９６】
本明細書において用いる場合，”ヘテロシクロアルキル”との用語は，窒素，酸素，およびイオウから選択される少なくとも１つのヘテロ原子を含む非芳香族環系を表す。ヘテロシクロアルキル環は任意に縮合していてもよく，あるいは，他のヘテロシクロアルキル環および／または非芳香族炭化水素環に結合していてもよい。好ましいヘテロシクロアルキル基は，３－７個のメンバーを有する。ヘテロシクロアルキル基の例としては，例えば，ピペラジン，モルホリン，ピペリジン，テトラヒドロフラン，ピロリジン，およびピラゾールが挙げられる。好ましいヘテロシクロアルキル基としては，ピペリジニル，ピペラジニル，モルホリニル，およびピロリジニルが挙げられる。
【００９７】
本明細書において用いる場合，”ヘテロアリール”との用語は，窒素，酸素，およびイオウから選択される少なくとも１つのヘテロ原子を含む芳香族環系を表す。ヘテロアリール環は，縮合環であってもよく，あるいは，１またはそれ以上のヘテロアリール環，芳香族または非芳香族炭化水素環またはヘテロシクロアルキル環に結合していてもよい。ヘテロアリール基の例としては，例えば，ピリジン，フラン，チオフェン，５，６，７，８－テトラヒドロイソキノリンおよびピリミジンが挙げられる。ヘテロアリール基の好ましい例としては，チエニル，ベンゾチエニル，ピリジル，キノリル，ピラジニル，ピリミジル，イミダゾリル，ベンズイミダゾリル，フラニル，ベンゾフラニル，チアゾリル，ベンゾチアゾリル，イソオキサゾリル，オキサジアゾリル，イソチアゾリル，ベンズイソチアゾリル，トリアゾリル，テトラゾリル，ピロリル，インドリル，ピラゾリル，およびベンゾピラゾリルが挙げられる。
【００９８】
本明細書において用いる場合，”C_1－C_6ヒドロカルビル”との用語は，１－６個の炭素原子を有し，任意に１またはそれ以上の炭素－炭素二重結合または三重結合を有していてもよい，直鎖，分枝鎖，または環状のアルキル基を表す。ヒドロカルビル基の例としては，例えば，メチル，エチル，プロピル，イソプロピル，ｎ－ブチル，ｓｅｃ－ブチル，ｔｅｒｔ－ブチル，ペンチル，２－ペンチル，イソペンチル，ネオペンチル，ヘキシル，２－ヘキシル，３－ヘキシル，３－メチルペンチル，ビニル，２－ペンテン，シクロプロピルメチル，シクロプロピル，シクロヘキシルメチル，シクロヘキシルおよびプロパルギルが挙げられる。本明細書において，１または２個の二重結合または三重結合を含有するC_1－C_6ヒドロカルビルに関しては，１つの二重結合または三重結合についてはアルキル中に少なくとも２個の炭素が存在し，２個の二重結合または三重結合については少なくとも４個の炭素が存在することが理解される。
【００９９】
本明細書において用いる場合，”窒素保護基，”との用語は，当該技術分野において知られる，窒素に容易に導入し除去することができる基を表す。窒素保護基の例としては，Ｂｏｃ，Ｃｂｚ，ベンゾイル，およびベンジルが挙げられる。”Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ”，３ｒｄＥｄ．，Ｇｒｅｅｎｅ，Ｔ．Ｗ．および関連する刊行物も参照されたい。
【０１００】
無毒性の薬学的に許容しうる塩としては，限定されないが，無機酸，例えば，塩酸，硫酸，リン酸，二リン酸，臭化水素酸，および硝酸の塩，または有機酸，例えば，ギ酸，クエン酸，リンゴ酸，マレイン酸，フマル酸，酒石酸，コハク酸，酢酸，乳酸，メタンスルホン酸，ｐ－トルエンスルホン酸，２－ヒドロキシエチルスルホン酸，サリチル酸およびステアリン酸の塩が挙げられる。同様に，薬学的に許容しうるカチオンとしては，限定されないが，ナトリウム，カリウム，カルシウム，アルミニウム，リチウムおよびアンモニウムが挙げられる。当業者は，広範な種類の非毒性の薬学的に許容しうる付加塩を理解する

であろう。本発明は，式Ｉ－ＸＶＩＩの化合物のプロドラッグも包含する。

【０１０１】

本発明はまた，式Ｉ－ＸＶＩＩの化合物のアシル化されたプロドラッグを含む。当業者は，式Ｉ－ＸＶＩＩに包含される化合物の無毒性の薬学的に許容しうる付加塩およびアシル化プロドラッグを製造するために用いることができる種々の合成方法論を理解するであろう。

【０１０２】

本発明はまた，式Ｉ－ＸＶＩＩの化合物から誘導されるトリチウム標識プローブを提供する。トリチウム標識プローブ化合物は，トリチウム化酢酸中での白金触媒交換，トリチウム化トリフルオロ酢酸中での酸触媒交換，またはトリチウムガスとの不均一系触媒交換により，都合よく触媒的に製造することができる。そのような製造は，前段落で挙げた供給元のいずれかにより注文放射標識として都合よく実施される。さらに，トリチウムは，トリチウムガスとのトリチウム－ハロゲン交換，遷移金属触媒による不飽和結合のトリチウムガス還元，またはケトン，アルデヒド，およびイミンのホウ水素化ナトリウム還元により導入してもよい。

【０１０３】

本発明の化合物は，１またはそれ以上の非対称炭素原子を含むことができ，したがって化合物は異なる立体異性体形で存在することができる。これらの化合物は，例えば，ラセミ化合物，キラルの非ラセミ化合物またはジアステレオマーでありうる。このような場合，単一のエナンチオマー，すなわち光学的に活性な形は，非対称合成によりまたはラセミ体の分割により得ることができる。ラセミ化合物の分離は，例えば慣用的な方法により，例えば，分割剤の存在下での結晶化；例えば，キラルＨＰＬＣカラムを用いるクロマトグラフィー；またはラセミ混合物を分割試薬で誘導化してジアステレオマーを生成し，ジアステレオマーをクロマトグラフィーにより分離し，そして分割剤を除去して元の化合物をエナンチオマー的に濃縮した形で生成することにより，行うことができる。上述の方法のいずれも，化合物のエナンチオマー純度を高めるために繰り返すことができる。

【０１０４】

本明細書に記載される化合物がオレフィン性二重結合または他の幾何学的非対称中心を含む場合，特に示さない限り，化合物はシス，トランス，Ｚ－およびＥ－コンフィギュレーションを含むことが意図される。同様に，すべての互変異体も含まれることが意図される。

【０１０５】

出発物質および種々の中間体は，商業的供給元から入手可能であるか，市販の有機化合物から製造することができるか，またはよく知られる合成法を用いて製造することができる。本発明はまた，式Ｉ－ＸＶＩＩの化合物のプロドラッグも包含する。当業者は，式Ｉ－ＸＶＩＩに包含される化合物の無毒性の薬学的に許容しうるプロドラッグを製造するために用いることができる種々の合成方法論を理解するであろう。当業者は，広範な種類の無毒性の薬学的に許容しうる溶媒化合物，例えば，水，エタノール，ミネラルオイル，植物油，およびジメチルスルホキシドを理解するであろう。

【０１０６】

一般式Ｉ－ＸＶＩＩの化合物は，慣用的な無毒性の薬学的に許容しうる担体，アジュバントおよびベヒクルを含む用量単位処方中で，経口的に，局所的に，非経口的に，吸入またはスプレーにより，または直腸に投与することができる。本明細書において用いる場合，非経口的との用語には，経皮，皮下，血管内（例えば，静脈内），筋肉内，または包膜内注射または注入の手法等が含まれる。さらに，一般式Ｉ－ＸＶＩＩの化合物および薬学的に許容しうる担体を含む医薬処方が提供される。一般式Ｉ－ＸＶＩＩの１またはそれ以上の化合物は，１またはそれ以上の無毒性の薬学的に許容しうる担体および／または希釈剤，および／またはアジュバント，および所望の場合には他の活性成分とともに存在することができる。一般式Ｉ－ＸＶＩＩの化合物を含有する医薬組成物は，経口使用に適した形，例えば，錠剤，トローチ剤，菱形剤，水性または油性懸濁液，分散可能な粉体または顆

粒，乳剤，硬カプセルまたは軟カプセル，またはシロップまたはエリキシル剤の形であることができる。

【０１０７】

経口で使用することが意図される組成物は，医薬組成物の製造について当該技術分野において知られる任意の方法にしたがって製造することができ，そのような組成物は，薬学的に洗練された口に合う製品を提供するために，１またはそれ以上のそのような甘味剤，芳香剤，着色剤または保存剤を含んでいてもよい。錠剤は，錠剤の製造に適した無毒性の薬学的に許容しうる賦形剤との混合物として活性成分を含む。これらの賦形剤は，例えば，不活性希釈剤，例えば，炭酸カルシウム，炭酸ナトリウム，ラクトース，リン酸カルシウムまたはリン酸ナトリウム；顆粒化剤および崩壊剤，例えば，コーンスターチ，またはアルギン酸；結合剤，例えば，デンプン，ゼラチンまたはアラビアゴム，および潤滑剤，例えば，ステアリン酸マグネシウム，ステアリン酸またはタルクでありうる。錠剤は被覆しなくても，既知の手法により被覆してもよい。場合によっては，既知の手法によりそのような被覆を調製して，崩壊および胃腸管における吸収を遅延させ，このことによりより長い期間の持続作用を与えることができる。例えば，遅延用材料，例えばグリセリルモノステアレートまたはグリセリルジステアレートを用いることができる。

【０１０８】

経口使用のための処方は，活性成分が不活性固体希釈剤，例えば，炭酸カルシウム，リン酸カルシウムまたはカオリンと混合されている硬ゼラチンカプセル，または活性成分が水または油状媒体，例えば，ピーナッツ油，液体パラフィンまたはオリーブ油と混合されている軟ゼラチンカプセルであってもよい。

【０１０９】

水性懸濁液は，水性懸濁液の製造に適した賦形剤との混合物中に活性物質を含む。そのような賦形剤は，懸濁剤，例えば，カルボキシメチルセルロースナトリウム，メチルセルロース，ヒドロプロピル－メチルセルロース，アルギン酸ナトリウム，ポリビニルピロリドン，トラガントガムおよびアラビアゴムである。分散剤または湿潤剤は，天然に生ずるホフファチド，例えば，レシチン，またはアルキレンオキサイドと脂肪酸との縮合生成物，例えば，ステアリン酸ポリオキシエチレン，またはエチレンオキサイドと長鎖脂肪族アルコールとの縮合生成物，例えば，ヘプタデカエチレンオキシセタノール，またはエチレンオキサイドと脂肪酸およびヘキシトールから誘導された部分エステルとの縮合生成物，例えば，ポリオキシエチレンソルビトールモノオレエート，またはエチレンオキサイドと脂肪酸および無水ヘキシトールから誘導された部分エステルとの縮合生成物，例えば，ポリエチレンソルビタンモノオレエートであってもよい。水性懸濁液はまた，１またはそれ以上の保存剤，例えば，エチル－，またはｎ－プロピル－ｐ－ヒドロキシベンゾエート，１またはそれ以上の着色剤，１またはそれ以上の芳香剤，および１またはそれ以上の甘味剤，例えばショ糖またはサッカリンを含んでいてもよい。

【０１１０】

油性懸濁液は，活性成分を植物油，例えば，アラキス油，オリーブ油，ゴマ油またはココナッツ油，または無機油，例えば液体パラフィン中に懸濁させることにより処方することができる。油性懸濁液は，増粘剤，例えば，密ロウ，硬パラフィンまたはセチルアルコールを含むことができる。甘味剤および芳香剤を加えて，口に合う経口製品を得ることができる。これらの組成物は，抗酸化剤，例えばアスコルビン酸を加えることにより保存することができる。

【０１１１】

水を加えることにより水性懸濁液を製造するのに適した分散可能な粉体および顆粒は，活性成分を，分散剤または湿潤剤，懸濁剤および１またはそれ以上の保存剤との混合物中で与える。適当な分散剤または湿潤剤または懸濁剤は，上で例示したとおりである。さらに別の賦形剤，例えば，甘味剤，芳香剤および着色剤が存在していてもよい。

【０１１２】

本発明の医薬組成物はまた，水中油エマルジョンの形であってもよい。油相は，植物油ま

たはミネラルオイルまたはこれらの混合物であってもよい。適当な乳化剤としては，天然に生ずるガム，例えば，アラビアゴムまたはトラガガントゴム，天然に生ずるホスファチド類，例えば，大豆，レクチン，および脂肪酸から誘導されるエステルまたは部分エステルおよびヘキシトール，無水物，例えば，ソルビタンモノオレエート，および前記部分エステルとエチレンオキサイドとの縮合生成物，例えば，ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエートが挙げられる。エマルジョンは，甘味料および芳香剤を含んでいてもよい。

【０１１３】

シロップおよびエリキシルは，甘味剤，例えば，グリセロール，プロピレングリコール，ソルビトール，グルコースまたはショ糖を用いて処方することができる。このような処方はまた，粘滑剤，保存剤および甘味料および着色料を含んでいてもよい。医薬組成物は，滅菌した注射可能な水性または油性の懸濁液の形であってもよい。この懸濁液は，上述した適当な分散剤または湿潤剤および懸濁剤を用いて，当該技術分野において知られるように処方することができる。滅菌した注射可能な製品はまた，無毒性の非経口的に許容可能な希釈剤または溶媒中の滅菌した注射可能な溶液または懸濁液，例えば，１，３－ブタンジオール中の溶液であってもよい。用いることのできる許容可能なベヒクルおよび溶媒の例は，水，リンゲル溶液および等張塩化ナトリウム溶液である。さらに，滅菌し，凝固させた油を溶媒または懸濁媒体として便利に用いることができる。この目的のためには，任意の非刺激性の凝固させた油，例えば，合成のモノグリセリドまたはジグリセリドを用いることができる。さらに，脂肪酸，例えば，オレイン酸を注射可能な薬剤の製造において用いることができる。

【０１１４】

一般式Ｉ－ＸＶＩＩの化合物はまた，例えば，薬剤の直腸投与用に，座剤の形で投与することができる。これらの組成物は，薬剤を，通常の温度では固体であるが直腸温度では液体であり，したがって直腸中で溶融して薬剤を放出する適当な非刺激性賦形剤と混合することにより製造することができる。そのような材料としては，カカオバターおよびポリエチレングリコールが挙げられる。

【０１１５】

一般式Ｉ－ＸＶＩＩの化合物は，滅菌媒体中で非経口的に投与することができる。薬剤は，使用するベヒクルおよび濃度に応じて，ベヒクル中に懸濁されていてもよく，溶解されていてもよい。アジュバント，例えば局所麻酔剤，保存剤および緩衝剤をベヒクル中に溶解することも有利である。

【０１１６】

上述した状態の治療には，体重１キログラムあたり１日あたり約０．１ｍｇ－約１４０ｍｇのオーダーの投与量レベルが有用である（患者あたり１日あたり約０．５ｍｇ－約７ｇ）。担体物質と組み合わせて１回投与量形を生成することができる活性成分の量は，治療される宿主および投与の特定のモードに依存して様々であろう。投与量単位形は，一般に，約１ｍｇ－約５００ｍｇの活性成分を含むであろう。

【０１１７】

しかし，特定の患者についての特定の投与量は，種々の因子，例えば，用いる特定の化合物の活性，年齢，体重，一般的健康状態，性別，食事，投与時間，投与経路，および排出速度，薬剤の組み合わせ，および治療をしている特定の疾病の重篤性に依存することが理解されるであろう。

【０１１８】

ヒト以外の動物に投与するためには，組成物を動物飼料または飲料水に加えてもよい。動物が治療上適当な量の組成物を飼料とともに接種できるよう，動物飼料および飲用水組成物を処方することが便利であろう。飼料または飲料水に加えるように組成物をプレミックスとして製造することも便利であろう。

【０１１９】

本発明の１つの観点においては，２’－デオキシ－２’－アミノプリンおよびピリミジンヌクレオシドおよびＣ－ヌクレオシドを合成する新規な方法が提供される。新規な方法は

，より少ない合成工程を用い，アジドの使用を回避し，同時に２’－アミンのＮ－フタロイル保護を導入する。１つの態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’アミノおよび２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを合成する方法を提供する。該方法は，フタルイミドおよび／または置換フタルイミドを求核基として使用して，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドの２’－位に存在する脱離基を置換して，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを生成することを含む。次に，フタロイル保護を適当な塩基で切断すると，２’－デオキシ－２’－アミノヌクレオシドが形成される。該方法は，キログラムまたはそれ以上の量にスケールアップすることができる。別の態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’－アミノおよび２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドを合成する方法を提供する。上述の方法と同様に，合成は，フタルイミドおよび／または置換フタルイミドを求核基として使用して，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドの２’－位に存在する脱離基を置換して，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドを生成することを含む。次に，フタロイル保護を適当な塩基で切断すると，２’－デオキシ－２’－アミノＣ－ヌクレオシドが形成される。該方法は，キログラムまたはそれ以上の量にスケールアップすることができる。

【０１２０】

すなわち，好ましい態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを合成する方法を提供し，該方法は，以下の工程を含む：

（ａ）１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドの２’－位に脱離基を導入し；そして

（ｂ）フタルイミドまたは置換フタルイミド求核基を用いて，工程（ａ）からの脱離基を置換して，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを得る。

【０１２１】

１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドは，保護されていても保護されていなくてもよい。

【０１２２】

好ましくは，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドの２’位の脱離基は，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドを無水スルホン酸または塩化スルホニルと接触させることにより導入することができる。適当な試薬としては，無水トリフルオロメタンスルホン酸，塩化トリフルオロメタンスルホニル，無水メタンスルホン酸，および塩化メタンスルホニルが挙げられる。

【０１２３】

また，置換工程（工程ｂ）は，ヒンダード塩基の存在下で行うことができる。好ましくは，ヒンダード塩基は，ＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），または２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンである。

【０１２４】

別の態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを合成する方法を提供し，該方法は，前記２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドの形成に適した条件下で，２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドをフタルイミドまたは置換フタルイミド求核基と接触させる工程を含む。

【０１２５】

さらに別の好ましい態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを合成する方法を提供し，該方法は，前記２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドの形成に適した条件下で，２’－メタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドをフタルイミドまたは置換フタルイミド求核基と接触させ

る工程を含む。上述の２つの方法において，適当な条件は，ヒンダード塩基の使用を含むことができる。好ましくは，ヒンダード塩基は，ＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），および２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンヒンダード塩基である。

【０１２６】

上述のいずれの態様においても，好ましいフタルイミドまたは置換フタルイミド求核基としては，フタルイミド，４，５－ジクロロフタルイミド，３，４，５，６，－テトラクロロフタルアミド，３－ニトロフタルアミド，および４－ニトロフタルアミドが挙げられる。また，上述のいずれの態様においても，好ましい１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドとしては，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アシルシトシン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシルアデニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルウラシル，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシルグアニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ジフェニルカルバモイルグアニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ニトロフェニルグアニン，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アシルシトシン，５’，３’－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルウラシル，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシルアデニン，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニン，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ニトロフェニルグアニン，および５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ジフェニルカルバモイルグアニンが挙げられる。

【０１２７】

１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドがアシル基（すなわち，環外のアミン保護）により保護されている場合には，アシル基は，アセチル，ベンゾイル，イソブチリル，フェノキシアセチル，フェニルアセチル，ｔｅｒｔ－ブチルフェノキシアセチル，またはｔｅｒｔ－ブチルベンゾイルである。

【０１２８】

また，グアノシンヌクレオシドの合成においては，好ましくは，ジメチルホルムアミジン（ＤＭＦ）保護を用いてＮ２窒素を保護する。

【０１２９】

すなわち，１つの態様においては，本発明は，フタロイル保護２’－デオキシ－２’－アミノヌクレオシド（２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシド）を合成する方法を提供し，該方法は，以下の工程を含む：（ａ）１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシド（保護されていても保護されていなくてもよい）を無水スルホン酸または塩化スルホニル，例えば無水トリフルオロメタンスルホン酸，塩化トリフルオロメタンスルホニル，無水メタンスルホン酸，または塩化メタンスルホニルと接触させることにより，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドの２’－位に脱離基を導入し；そして（ｂ）ヒンダード塩基，例えば，ＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），および２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンまたはこれらの同等物の存在下で，フタルイミドまたは置換フタルイミド求核基，例え

ば４，５－ジクロロフタルイミド，３，４，５，６－テトラクロロフタルイミド，３－ニトロフタルイミド，および４－ニトロフタルイミドを用いて，工程（ａ）からの脱離基を置換して，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを得る。

【０１３０】

本発明の別の態様においては，２’－デオキシ－２’－アミノヌクレオシドを合成する方法が提供される。該方法は以下の工程を含む：

（ａ）１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドの２’－位に脱離基を導入し；

（ｂ）フタルイミドまたは置換フタルイミド求核基を用いて，工程（ａ）からの前記脱離基を置換して，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを生成し；そして

（ｃ）前記２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを脱保護して，前記２’－デオキシ－２’－アミノヌクレオシドを得る。

【０１３１】

１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドの２’－位は，保護されていても保護されていなくてもよい。

【０１３２】

好ましくは，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドの２’位の脱離基は，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドを無水スルホン酸または塩化スルホニルと接触させることにより導入する。適当な試薬としては，無水トリフルオロメタンスルホン酸，塩化トリフルオロメタンスルホニル，無水メタンスルホン酸，および塩化メタンスルホニルが挙げられる。

【０１３３】

好ましいフタルイミド求核基としては，フタルイミド，または置換フタルイミド求核基，例えば，４，５－ジクロロフタルイミド，３，４，５，６，－テトラクロロフタルアミド，３－ニトロフタルアミド，および４－ニトロフタルアミドが挙げられる。

【０１３４】

また，好ましい１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドとしては，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アシルシトシン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシルアデニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルウラシル，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシルグアニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ジフェニルカルバモイルグアニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ニトロフェニルグアニン，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アシルシトシン，５’，３’－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルウラシル，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシルアデニン，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニン，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ニトロフェニルグアニン，および５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ジフェニルカルバモイルグアニンが挙げられる。

【０１３５】

１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドがアシル基（すなわち，環外のアミン保護）で保護されている場合には，例えばアセチル，ベンゾイル，イソブチリル，フェノキシアセチル，フェニルアセチル，ｔｅｒｔ－ブチルフェノキシアセチル，またはｔｅｒｔ－ブチルベンゾイルを用いることができる。

【０１３６】

また，グアノシンヌクレオシドの合成においては，好ましくは，ジメチルホルムアミジン（ＤＭＦ）保護を用いてＮ２窒素を保護する。

【０１３７】

脱離基の置換は，ヒンダード塩基の存在下で行うことができる。好ましくは，ヒンダード塩基は，ＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），または２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンである。

【０１３８】

本発明の方法の脱保護工程は，塩基の存在下で行うことができる。好ましくは，塩基は，アルキルアミンまたはヒドラジンである。好ましくは，アルキルアミンは，メチルアミン，例えば，水性メチルアミン，エタノール性メチルアミン，メタノール性メチルアミンである。好ましくは，ヒドラジンはメチルヒドラジンである。さらに好ましくは，メチルアミンは水性メチルアミン，例えば，約３０－４０％の水性メチルアミンである。

【０１３９】

この方法を用いて，少なくとも１つの２’－デオキシ－２’アミノヌクレオシドを含むヌクレオシド，ヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチドを合成することができる。好ましい態様においては，本発明の２’－デオキシ－２’－アミノヌクレオシドを合成する方法を用いて，２’－デオキシ－２’－アミノヌクレオチド三リン酸を合成することができる。

【０１４０】

別の態様においては，本発明は，フタロイル保護２’－デオキシ－２’－アミノヌクレオシドホスホルアミダイト（２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドホスホルアミダイト）を合成する方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：

（ａ）保護されていても保護されていなくてもよい１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドを無水スルホン酸または塩化スルホニルと接触させることにより，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドの２’－位に脱離基を導入し；

（ｂ）ヒンダード塩基の存在下で，工程（ａ）からの脱離基をフタルイミドまたは置換フタルイミド求核基で置換して，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドを生成し；

（ｃ）５’－保護基を導入して，５’－ヒドロキシルを選択的に保護し；そして（ｄ）ホスフィチル化試薬を用いて，５’－保護－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドの３’－位にホスホルアミダイト基を導入する。

【０１４１】

適当な無水スルホン酸または塩化スルホニル試薬としては，無水トリフルオロメタンスルホン酸，塩化トリフルオロメタンスルホニル，無水メタンスルホン酸，および塩化メタンスルホニルが挙げられる。

【０１４２】

適当なフタルイミドまたは置換フタルイミドとしては，フタルイミド，４，５－ジクロロフタルイミド，３，４，５，６－テトラクロロフタルイミド，３－ニトロフタルイミド，および４－ニトロフタルイミドが挙げられる。また，適当なヒンダード塩基としては，ＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），および２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンまたはこれらの同等物が挙げられ，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドが得られる。

【０１４３】

適当な５’－保護基の例は，ジメトキシトリチル基またはその同等物である。

【０１４４】

適当なホスフィチル化試薬の例は，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトである。

【０１４５】
本発明の方法の好ましい態様においては，工程（ｂ）で合成される２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドは，存在していても存在していなくてもよいシリルエーテルまたはジシリルエーテル保護基，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイルまたは５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキサン保護の選択的除去のために，工程（ｃ）の前に，フッ素イオン源，例えばＴＥＡ・３ＨＦ（トリエチルアミン三フッ化水素酸），ＴＢＡＦまたはこれらの同等物を用いて脱保護する。
【０１４６】
好ましい１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドとしては，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アシルシトシン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシルアデニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルウラシル，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシルグアニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ジフェニルカルバモイルグアニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ニトロフェニルグアニン，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アシルシトシン，５’，３’－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルウラシル，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシルアデニン，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニン，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ニトロフェニルグアニン，および５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ジフェニルカルバモイルグアニンが挙げられる。
【０１４７】
１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドがアシル基（すなわち環外のアミン保護）により保護されている場合には，例えばアセチル，ベンゾイル，イソブチリル，フェノキシアセチル，フェニルアセチル，ｔｅｒｔ－ブチルフェノキシアセチル，またはｔｅｒｔ－ブチルベンゾイルを用いることができる。
【０１４８】
また，グアノシンホスホルアミダイトの合成においては，好ましくは，ジメチルホルムアミジン（ＤＭＦ）保護を用いてＮ２窒素を保護する。
【０１４９】
本発明の別の態様においては，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシド，２’－デオキシ－２’－アミノＣ－ヌクレオシド，およびフタロイル保護２’－デオキシ－２’－アミノＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイトを合成する方法が提供される。
【０１５０】
２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドを合成する方法は以下の工程を含む：
（ａ）１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドの２’－位に脱離基を導入し，そして
（ｂ）ヒンダード塩基の存在下で，フタルイミドまたは置換フタルイミド求核基を用いて，工程（ａ）からの脱離基を置換して，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドを得る。
【０１５１】
１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドの２’－位は保護されていても保護されていなくてもよい。

【０１５２】
好ましくは，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドの２’位の脱離基は，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドを無水スルホン酸または塩化スルホニルと接触することにより導入する。適当な試薬としては，無水トリフルオロメタンスルホン酸，塩化トリフルオロメタンスルホニル，無水メタンスルホン酸，または塩化メタンスルホニルが挙げられる。
【０１５３】
また，置換工程は，ヒンダード塩基の存在下で行うことができる。好ましくは，ヒンダード塩基は，ＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），または２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンである。
【０１５４】
別の態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドを合成する方法を提供し，該方法は，前記２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドの形成に適した条件下で，２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドをフタルイミドまたは置換フタルイミド求核基と接触させる工程を含む。
【０１５５】
さらに別の態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドを合成する方法を提供し，該方法は，前記２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドの形成に適した条件下で，２’－メタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドをフタルイミドまたは置換フタルイミド求核基と接触させる工程を含む。上述の２つの方法において，適当な条件はヒンダード塩基の使用を含む。好ましくは，ヒンダード塩基は，ＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），または２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンである。
【０１５６】
本発明の別の態様においては，２’－デオキシ－２’－アミノＣ－ヌクレオシドを合成する方法が提供される。該方法は以下の工程を含む：
（ａ）１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドの２’－位に脱離基を導入し；
（ｂ）工程（ａ）からの前記脱離基をフタルイミドまたは置換フタルイミド求核基で置換して，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドを生成し；そして
（ｃ）前記２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドを脱保護して，前記２’－デオキシ－２’－アミノＣ－ヌクレオシドを得る。
【０１５７】
１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドの２’－位は保護されていても保護されていなくてもよい。好ましくは，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドの２’位の脱離基は，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドを無水スルホン酸または塩化スルホニルと接触させることにより導入する。適当な試薬としては，無水トリフルオロメタンスルホン酸，塩化トリフルオロメタンスルホニル，無水メタンスルホン酸，および塩化メタンスルホニルが挙げられる。
【０１５８】
置換はヒンダード塩基の存在下で行うことができる。好ましくは，ヒンダード塩基は，ＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），または２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンである。

【０１５９】
脱保護は，塩基の存在下で行うことができる。好ましくは，塩基はアルキルアミンまたはヒドラジンである。好ましくは，アルキルアミンはメチルアミン，例えば，水性メチルアミン，エタノール性メチルアミン，メタノール性メチルアミンである。好ましくは，ヒドラジンはメチルヒドラジンである。さらに好ましくは，メチルアミンは水性メチルアミン，例えば約３０－４０％水性メチルアミンである。
【０１６０】
本発明の方法を用いて，少なくとも１つの２’－デオキシ－２’アミノヌクレオシドを含むＣ－ヌクレオシド，Ｃ－ヌクレオチドおよびＣ－オリゴヌクレオチドを合成することができる。好ましい態様においては，本発明の２’－デオキシ－２’－アミノＣ－ヌクレオシドを合成する方法を用いて，２’－デオキシ－２’－アミノＣ－ヌクレオチド三リン酸を合成することができる。
【０１６１】
別の態様においては，本発明は，フタロイル保護２’－デオキシ－２’－アミノＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイト（２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドホスホルアミダイト）を合成する方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：
（ａ）保護されていても保護されていなくてもよい１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドを無水スルホン酸または塩化スルホニルと接触させることにより，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドの２’－位に脱離基を導入し；
（ｂ）ヒンダード塩基の存在下で，フタルイミドまたは置換フタルイミド求核基を用いて，工程（ａ）からの脱離基を置換して，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドを生成し；
（ｃ）５’－ヒドロキシルを選択的に保護するために５’－保護基を導入し；そして
（ｄ）ホスフィチル化試薬を用いて，５’－保護－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシドの３’－位にホスホルアミダイト基を導入する。工程（ａ）における適当な無水スルホン酸または塩化スルホニル試薬としては，無水トリフルオロメタンスルホン酸，塩化トリフルオロメタンスルホニル，無水メタンスルホン酸，および塩化メタンスルホニルが挙げられる。
【０１６２】
好ましいフタルイミドおよび置換フタルイミドとしては，フタルイミド，４，５－ジクロロフタルイミド，３，４，５，６－テトラクロロフタルイミド，３－ニトロフタルイミド，および４－ニトロフタルイミドが挙げられる。また，適当なヒンダード塩基としては，ＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），および２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンまたはこれらの同等物が挙げられ，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドが得られる。
【０１６３】
適当な５’－保護基の例は，ジメトキシトリチル基またはその同等物である。
【０１６４】
適当なホスフィチル化試薬の例は，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトである。
【０１６５】
本発明の方法の１つの態様においては，工程（ｂ）から合成される２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシドは，工程（ｃ）の前に，存在していても存在していなくてもよいシリルエーテルまたはジシリルエーテル保護基，例えば，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイルまたは５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキサン保護を選択的に除去するために，フッ素イオン源，例えばＴＥＡ・３ＨＦ（トリエチルアミントリヒドロフロリド），ＴＢＡＦまたはこれらの同等物を用いて脱保護する。
【０１６６】

Ｃ－ヌクレオシドを合成する方法を含む上述のいずれの態様においても，好ましいフタルイミドおよび置換フタルイミド求核基としては，フタルイミド，４，５－ジクロロフタルイミド，３，４，５，６，－テトラクロロフタルアミド，３－ニトロフタルアミド，および４－ニトロフタルアミドが挙げられる。

【０１６７】

また，Ｃ－ヌクレオシドを合成する方法を含む上述のいずれの態様においても，好ましい１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドとしては，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アシルシトシン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシルアデニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルウラシル，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシルグアニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ジフェニルカルバモイルグアニン，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ニトロフェニルグアニン，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アシルシトシン，５’，３’－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルウラシル，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシルアデニン，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニン，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ニトロフェニルグアニン，および５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－アシル－Ｏ６－ジフェニルカルバモイルグアニンが挙げられる。

【０１６８】

１－β－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドが，アシル基（すなわち環外のアミン保護）により保護されている場合には，例えば，アセチル，ベンゾイル，イソブチリル，フェノキシアセチル，フェニルアセチル，ｔｅｒｔ－ブチルフェノキシアセチル，またはｔｅｒｔ－ブチルベンゾイルを用いることができる。

【０１６９】

また，グアノシンおよびグアノシンホスホルアミダイトの合成においては，好ましくは，ジメチルホルムアミジン（ＤＭＦ）保護を用いてＮ２窒素を保護する。

【０１７０】

本発明の別の態様においては，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルシチジンホスホルアミダイトを合成する方法が提供される。例えば，本発明は，，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）を合成する方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：

（１）アシル化試薬，例えば，無水酢酸を用いて，１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アセチルシトシンを得るのに適した条件下で，１－（－Ｄ－アラビノフラノシルシトシンのＮ^{4}位にアシル基を導入し；

（２）例えば，１，３－ジクロロ－１，１，３，３－テトライソプロピルジシロキサンまたはジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルビス（トリフルオロメタンスルホネート）を用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アセチルシトシンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アセチルシトシンの単離に適した条件下で，工程（１）からの生成物の５’－ヒドロキシルおよび３’－ヒドロキシル基を同時に保護するために保護基を導入し；

（３）ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ）および／またはピリジンの存在下で，例えば

，無水トリフリルまたは塩化トリフリルを用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アセチルシトシンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アセチルシトシンを得るのに適した条件下で，工程（２）の生成物の２’－位に脱離基を導入し；
（４）フタルイミドまたは置換フタルイミド求核基を用いて，工程（３）の生成物から脱離基を置換し；
（５）５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキサンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル保護を選択的に除去するために，フッ素イオン源，例えば，ＴＥＡ・３ＨＦ，ＴＢＡＦまたはこれらの同等物を用いて，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジンの単離に適した条件下で，工程（４）の生成物を脱保護し；
（６）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いることにより，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジンを得るのに適した条件下で，工程（５）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適当した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして
（７）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（６）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。
【０１７１】
１つの態様においては，脱離基の置換は，ヒンダード塩基の存在下で行うことができる。例えば，フタルイミドをＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），および／または２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンまたはこれらの同等物と組み合わせて用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジンを得ることができる。
【０１７２】
別の態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルシチジンホスホルアミダイト，例えば，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）を合成する別の方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：
（１）例えば，１，３－ジクロロ－１，１，３，３－テトライソプロピルジシロキサンまたはジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルビス（トリフルオロメタンスルホネート）による環状シリル化を用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルシトシンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルシトシンの単離に適した条件下で，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルシトシンの５’－ヒドロキシルおよび３’－ヒドロキシルの保護を導入し；
（２）ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ）および／またはピリジンの存在下で，例えば，無水トリフリルまたは塩化トリフリルを用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルシトシンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルシトシンを得るのに適した条件下で，工程（１）の生成物の２’－位に脱離基を導入し；
（３）フタルイミドまたは置換フタルイミド求核基を用いて，工程（２）の生成物から脱

離基を置換し；
（４）アシル化試薬，例えば，無水酢酸を用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジンを得るのに適した条件下で，工程（３）の生成物のＮ^{4}位にアシル基を導入し；
（５）５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキサンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル保護を選択的に除去するために，フッ素イオン源，例えば，ＴＥＡ・３ＨＦ，ＴＢＡＦまたはこれらの同等物を用いて，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジンの単離に適した条件下で，工程（４）の生成物を脱保護し；
（６）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いることにより，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジンを得るのに適した条件下で，工程（５）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして
（７）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（６）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０１７３】
別の態様においては，脱離基の置換は，ヒンダード塩基の存在下で行うことができる。例えば，フタルイミドを，ＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），および／または２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンまたはこれらの同等物と組み合わせて用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルシチジンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルシチジンを得ることができる。

【０１７４】
別の態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルウリジンホスホルアミダイトを合成する方法を提供する。例えば，本発明は，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルウリジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）を合成する方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：
（１）例えば，１，３－ジクロロ－１，１，３，３－テトライソプロピルジシロキサンまたはジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルビス（トリフルオロメタンスルホネート）による環状シリル化を用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルウラシルまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルウラシルの単離に適した条件下で，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルウラシルの５’－ヒドロキシルおよび３’－ヒドロキシル基に保護を導入し；
（２）例えば，ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ）および／またはピリジンの存在下で，無水トリフリルまたは塩化トリフリルを用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルウラシルまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルウラシルを得るのに適した条件下で，工程（１）の生成物の２’－位に脱離基を導入し；
（３）フタルイミドまたは置換フタルイミド求核基を用いて，工程（２）の生成物から脱

離基を置換し；
（４）２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルウリジンの単離に適した条件下で５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキサンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル保護を選択的に除去するため，フッ素イオン源，例えば，ＴＥＡ・３ＨＦ，ＴＢＡＦまたはこれらの同等物を用いて，工程（３）の生成物を脱保護し；
（５）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いることにより，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルウリジンを得るのに適した条件下で，工程（４）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして
（６）ホスフィチル化試薬，例えば，－２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルウリジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（５）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０１７５】
１つの態様においては，脱離基の置換はヒンダード塩基の存在下で行うことができる。例えば，フタルイミドをＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），および／または２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンまたはこれらの同等物と組み合わせて用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルウリジンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルウリジンを得ることができる。

【０１７６】
別の態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルアデノシンホスホルアミダイトを化学的に合成する方法を提供する。例えば，本発明は，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）を合成する方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：
（１）アシル化剤，例えば，塩化ベンゾイルを用いて，１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ６－ベンゾイルアデニンを得るのに適した条件下で，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニンのＮ６位にアシル基を導入し；
（２）例えば，１，３－ジクロロ－１，１，３，３－テトライソプロピルジシロキサンまたはジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルビス（トリフルオロメタンスルホネート）による環状シリル化を用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ６－ベンゾイルアデニンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ６－ベンゾイルアデニンの単離に適した条件下で，工程（ａ）からの生成物の５’－ヒドロキシルおよび３’－ヒドロキシル基に保護を導入し；
（３）ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ）および／またはピリジンの存在下で，例えば，無水トリフリルまたは塩化トリフリルを用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ６－ベンゾイルアデニンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ６－ベンゾイルアデニンを得るのに適した条件下で，工程（２）の生成物の２’－位に脱離基を導入し；
（４）フタルイミドまたは置換フタルイミド求核基を用いて，工程（３）の生成物から脱離基を置換し；
（５）５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキサンまたは５’，３’－Ｏ－ジ

－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル保護の選択的除去のために，フッ素イオン源，例えば，ＴＥＡ・３ＨＦ，ＴＢＡＦまたはこれらの同等物を用いて，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシンの単離に適した条件下で，工程（４）の生成物を脱保護し；

（６）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いることにより，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシンを得るのに適した条件下で，工程（５）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして

（７）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（６）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０１７７】

１つの態様においては，脱離基の置換はヒンダード塩基の存在下で行うことができる。例えば，フタルイミドを，ＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），および／または２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンまたはこれらの同等物と組み合わせて用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシンを得ることができる。

【０１７８】

別の態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルアデノシンホスホルアミダイト，例えば，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）を合成する別の方法を提供する。該方法は以下の工程を含む：

（１）例えば，１，３－ジクロロ－１，１，３，３－テトライソプロピルジシロキサンまたはジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルビス（トリフルオロメタンスルホネート）による環状シリル化を用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニンの単離に適した条件下で，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニンの５’－ヒドロキシルおよび３’－ヒドロキシル基に保護基を導入し；

（２）ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ）および／またはピリジンの存在下で，例えば，無水トリフリルまたは塩化トリフリルを用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニンを得るのに適した条件下で，工程（１）の生成物の２’－位に脱離基を導入し；

（３）フタルイミドまたは置換フタルイミド求核基を用いて，工程（２）の生成物から脱離基を置換し；

（４）アシル化試薬，例えば，塩化ベンゾイルを用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシンを得るのに適した条件下で，工程（３）からの生成物のＮ６位にアシル基を導入し；

（５）５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキサンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル保護を選択的に除去するために，フッ素イオン源，例えば，ＴＥＡ・３ＨＦ，ＴＢＡＦまたはこれらの同等物を用いて，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシンの単離に適した条件下で，工程（４）の生成物を脱保護し；
（６）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシンを得るのに適した条件下で，工程（５）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして
（７）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（６）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０１７９】

１つの態様においては，脱離基の置換はヒンダード塩基の存在下で行うことができる。例えば，フタルイミドをＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），および／または２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンまたはこれらの同等物と組み合わせて用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルアデノシンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルアデノシンを得ることができる。

【０１８０】

別の態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルグアノシンホスホルアミダイトを合成する方法を提供する。例えば，本発明は，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）を合成する方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：
（１）アシル化試薬，例えば，塩化イソブチリルを用いて，１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－イソブチリルグアニンを得るのに適した条件下で，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルグアニンのＮ^{2}位にアシル基を導入し；
（２）例えば，１，３－ジクロロ－１，１，３，３－テトライソプロピルジシロキサンまたはジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルビス（トリフルオロメタンスルホネート）による環状シリル化を用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－イソブチリルグアニンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－イソブチリルグアニンの単離に適した条件下で，工程（ａ）からの生成物の５’－ヒドロキシルおよび３’－ヒドロキシル基に保護基を導入し；
（３）ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ）および／またはピリジンの存在下で，例えば，無水トリフリルまたは塩化トリフリルを用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－イソブチリルグアニンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－イソブチリルグアニンを得るのに適した条件下で，工程（２）の生成物の２’－位に脱離基を導入し；
（４）フタルイミドまたは置換フタルイミド求核基を用いて，工程（３）の生成物から脱離基を置換し；
（５）５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキサンまたは５’，３’－Ｏ－ジ

－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル保護を選択的に除去するために，フッ素イオン源，例えば，ＴＥＡ・３ＨＦ，ＴＢＡＦまたはこれらの同等物を用いて，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ２－イソブチリルグアノシンの単離に適した条件下で，工程（４）の生成物を脱保護し；
（６）５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ２－イソブチリルグアノシンを得るのに適した条件下で，工程（５）の生成物を４’－４’－塩化ジメトキシトリチルと反応させ；そして
（７）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（６）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０１８１】

１つの態様においては，脱離基の置換は，ヒンダード塩基の存在下で行うことができる。例えば，フタルイミドをＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），および／または２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンまたはこれらの同等物と組み合わせて用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ２－イソブチリルグアニンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ２－イソブチリルグアニンを得ることができる。

【０１８２】

別の態様においては，本発明は，２’－デオキシ－２’Ｎ－フタロイルグアノシンホスホルアミダイト，例えば，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）を合成する別の方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：
（１）例えば，１，３－ジクロロ－１，１，３，３－テトライソプロピルジシロキサンまたはジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルビス（トリフルオロメタンスルホネート）による環状シリル化を用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルグアニンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルグアニンの単離に適した条件下で，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルグアニンの５’－ヒドロキシルおよび３’－ヒドロキシル基に保護基を導入し；
（２）ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ）および／またはピリジンの存在下で，例えば，無水トリフリルまたは塩化トリフリルを用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルグアニンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルグアニンを得るのに適した条件下で，工程（１）の生成物の２’－位に脱離基を導入し；
（３）フタルイミドまたは置換フタルイミド求核基を用いて，工程（２）の生成物から脱離基を置換し；
（４）アシル化剤，例えば，塩化イソブチリルを用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－イソブチリルグアノシンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ２－イソブチリルグアノシンを得るのに適した条件下で，工程（３）からの生成物のN^2位にアシル基を導入し；
（５）５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキサンまたは５’，３’－Ｏ－ジ

－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル保護を選択的に除去するために，フッ素イオン源，例えば，ＴＥＡ・３ＨＦ，ＴＢＡＦまたはこれらの同等物を用いて，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ２－イソブチリルグアノシンの単離に適した条件下で，工程（４）の生成物を脱保護し；
（６）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ２－イソブチリルグアノシンを得るのに適した条件下で，工程（ｅ）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして
（７）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（ｆ）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０１８３】
１つの態様においては，脱離基の置換はヒンダード塩基の存在下で行うことができる。例えば，フタルイミドをＤＢＵ（１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン），ＤＢＮ（１，５－ジアザビシクロ［４．３．０］ノナ－５－エン），Ｄａｂｃｏ（１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン），および／または２－ｔｅｒｔ－ブチルイミノ－２－ジエチルアミノ－１，３－ジメチル－ペルヒドロ－１，３，２－ジアザホスホリンまたはこれらの同等物と組み合わせて用いて，５’，３’－ジ－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルグアノシンまたは５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルグアノシンを得ることができる。

【０１８４】
好ましい態様においては，本発明の方法により企図される２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルシチジンヌクレオシドおよびヌクレオシドホスホルアミダイト，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルアデノシンヌクレオシドおよびヌクレオシドホスホルアミダイト，および２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルグアノシンヌクレオシドおよびヌクレオシドホスホルアミダイトの化学合成において，アシル化は，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドの５’－ヒドロキシルおよび３’－ヒドロキシル基を保護した後に行うことができる。

【０１８５】
さらに別の態様においては，本発明の方法において企図される２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルグアノシンヌクレオシドおよびヌクレオシドホスホルアミダイトおよびこれらの同等物の化学合成において，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルグアニンのＯ６保護は，Ｏ６保護基，例えば，ニトロフェニルまたはジフェニルカルバモイル基を用いて，アシル化の前に行っても後に行ってもよい。

【０１８６】
さらに別の態様においては，１－β－Ｄ－アラビノフラノシルグアニンのＮ２保護は，ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）保護を用いて行うことができる。

【０１８７】
好ましくは，上述の態様のいずれにおいても，置換フタルイミド求核基は，４，５－ジクロロフタルイミド，３，４，５，６－テトラクロロフタルイミド，３－ニトロフタルイミド，または４－ニトロフタルイミドである。

【０１８８】
本発明の別の観点においては，２’－Ｏ－シリル－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリルヌクレオシドホスホルアミダイトを製造する方法が提供される。該方法は，キログラムまたはそれ以上の量にスケールアップすることができる。

【０１８９】
１つの態様においては，２’－Ｏ－シリルヌクレオシドホスホルアミダイトを合成する方

法は以下の工程を含む：
（１）例えば，ジシリルアルキルビス（トリフルオロメタンスルホネート）を用いることにより，Ｄ－またはＬ－ヌクレオシドでありうるヌクレオシドに５’，３’－環状シリル保護基を導入して，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）ヌクレオシドを形成し；
（２）例えば，工程（１）の生成物を置換塩化シリルおよび／またはシリルトリフレート，例えば，塩化ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルおよびｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルトリフレートで処理することにより，２’－Ｏ－シリルエーテルを選択的に形成することにより２’－Ｏ－シリル保護基を導入して，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－シリルヌクレオシドを形成し；
（３）必要な場合には，例えば，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－シリルヌクレオシドを塩化アシルまたは無水アシルで処理することにより，工程（２）の生成物に核酸塩基保護を導入し；
（４）例えば，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－シリルヌクレオシドをフッ素イオン源，例えば，ピリジン／ＨＦで処理することにより，工程（３）の生成物からの５’，３’－環状シリルエーテルを選択的に脱シリル化して，２’－Ｏ－シリル－ヌクレオシド，例えば，２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルヌクレオシドを生成し；
（５）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルヌクレオシドを得るのに適した条件下で，工程（４）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；
（６）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルヌクレオシド３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（５）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。
【０１９０】
１つの態様においては，本発明は，２’－Ｏ－シリル－ヌクレオシドホスホルアミダイトを合成する方法を提供し，該方法は，以下の工程を含む：
（１）必要な場合には，例えば，ヌクレオシドを塩化アシルまたは無水アシルで処理することにより，ＤまたはＬヌクレオシドでありうるヌクレオシドに核酸塩基保護を導入し；
（２）例えば，ジシリルアルキルビス（トリフルオロメタンスルホネート）を用いることにより，工程（１）の生成物に５’，３’－環状シリル保護基を導入して，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）ヌクレオシドを形成し；
（３）例えば，工程（２）からの生成物を置換塩化シリルおよび／またはシリルトリフレート，例えば塩化ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルおよびｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルトリフレートで処理することにより，２’－Ｏ－シリルエーテルを選択的に形成することにより２’－Ｏ－シリル保護基を導入して，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－シリルヌクレオシドを生成し；
（４）例えば，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－シリルヌクレオシドをフッ素イオン源，例えばピリジン／ＨＦで処理することにより，工程（３）の生成物からの５’，３’－環状シリルエーテルを選択的に脱シリル化して，２’－Ｏ－シリル－ヌクレオシド，例えば２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルヌクレオシドを生成し；
（５）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いることにより，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルヌクレオシドを得るのに適した条件下で，工程（４）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして
（６）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロ

ホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルヌクレオシド３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（５）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０１９１】

好ましい態様においては，，本発明は，２’－Ｏ－シリルシチジンホスホルアミダイト，例えば，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）を合成する方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：

（１）アシル化試薬，例えば，無水酢酸を用いて，Ｎ４－アセチルシチジンを得るのに適した条件下で，シチジンのN^4位にアシル基を導入し；

（２）例えば，ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルビス（トリフルオロメタンスルホネート）による環状シリル化を用いて，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－Ｎ４－アセチルシチジンの単離に適した条件下で，工程（１）からの生成物の５’－ヒドロキシルおよび３’－ヒドロキシル基の保護を導入し；

（３）例えば，塩化ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルを用いて，イミダゾールおよび／または硝酸銀の存在下で，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジンを得るのに適した条件下で，工程（２）の生成物の２’－位にシリル保護基を導入し；

（４）５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル保護を選択的に除去するために，フッ素イオン源，例えば，フッ化水素－ピリジン，トリブチルアミン－フッ化水素またはこれらの同等物を用いて，２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジンの単離に適した条件下で，工程（３）の生成物を脱保護し；

（５）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いることにより，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジンを得るのに適した条件下で，工程（４）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして

（６）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（５）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０１９２】

別の態様においては，本発明は，２’－Ｏ－シリルシチジンホスホルアミダイト，例えば，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）を合成する方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：

（１）例えば，ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルビス（トリフルオロメタンスルホネート）による環状シリル化を用いて，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイルシチジンの単離に適した条件下で，シチジンの５’－ヒドロキシルおよび３’－ヒドロキシル基の保護を導入し；

（２）イミダゾールおよび／または硝酸銀の存在下で，例えば，ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルを用いて，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルシチジンを得るのに適した条件下で，工程（１）の生成物の２’－位にシリル保護基を導入し；

（３）５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジンを得るのに適した条件下で，アシル化試薬，例えば，塩化アセチルを用いて，工程（２）からの生成物のN^4位にアシル基を導入し；

（４）５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル保護を選択的に除去するために，フッ素イオン源，例えば，フッ化水素－ピリジン，トリブチルアミン－フッ化水素ま

たはこれらの同等物を用いて，２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジンの単離に適した条件下で，工程（３）の生成物を脱保護し；
（５）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いることにより，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジンを得るのに適した条件下で，工程（４）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして
（６）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（５）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０１９３】

別の態様においては，本発明は，２’－Ｏ－シリルウリジンホスホルアミダイト，例えば，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルウリジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）を合成する方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：
（１）例えば，ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルビス（トリフルオロメタンスルホネート）による環状シリル化を用いて，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイルウラシルの単離に適した条件下で，ウリジンの５’－ヒドロキシルおよび３’－ヒドロキシル基の保護を導入し；
（２）イミダゾールおよび／または硝酸銀の存在下で，例えば，塩化ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルを用いることにより，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルウリジンを得るのに適した条件下で，工程（１）の生成物の２’－位にシリル保護基を導入し；
（３）５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル保護を選択的に除去するために，フッ素イオン源，例えば，フッ化水素－ピリジン，トリブチルアミン－フッ化水素またはこれらの同等物を用いて，２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルウリジンの単離に適した条件下で，工程（２）の生成物を脱保護し；
（４）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いることにより，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルウリジンを得るのに適した条件下で，工程（３）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして
（５）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルウリジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（４）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０１９４】

別の態様においては，本発明は，２’－Ｏ－シリルアデノシンホスホルアミダイト，例えば，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）を合成する方法を提供し，該方法は以下の工程を含む：
（１）例えば，ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルビス（トリフルオロメタンスルホネート）による環状シリル化を用いて，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイルアデノシンの単離に適した条件下で，アデノシンの５’－ヒドロキシルおよび３’－ヒドロキシル基の保護を導入し；
（２）イミダゾールおよび／または硝酸銀の存在下で，例えば，塩化ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルを用いて，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルアデノシンを得るのに適した条件下で，工程（１）の生成物の２’－位にシリル保護基を導入し；

（３）アシル化試薬，例えば，塩化ベンゾイルを用いて，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシンを得るのに適した条件下で，工程（２）からの生成物のＮ６位にアシル基を導入し；
（４）５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル保護を選択的に除去するために，フッ素イオン源，例えば，フッ化水素－ピリジン，トリブチルアミン－フッ化水素またはこれらの同等物で，２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシンの単離に適した条件下で，工程（３）の生成物を脱保護し；
（５）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いることにより，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシンを得るのに適した条件下で，工程（４）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして
（６）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（５）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０１９５】

１つの態様においては，本発明は，２’－Ｏ－シリルグアノシンホスホルアミダイト，例えば，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）を合成する方法を特徴とし，該方法は以下の工程を含む：
（１）例えば，ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルビス（トリフルオロメタンスルホネート）による環状シリル化を用いて，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイルグアノシンの単離に適した条件下で，グアノシンの５’－ヒドロキシルおよび３’－ヒドロキシル基に保護を導入し；
（２）イミダゾールおよび／または硝酸銀の存在下で，例えば，塩化ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルを用いることにより，５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルグアノシンを得るのに適した条件下で，工程（１）の生成物の２’－位にシリル保護基を導入し；
（３）５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ２－イソブチリルグアノシンを得るのに適した条件下で，アシル化試薬，例えば，塩化イソブチリルを用いて，工程（２）からの生成物のＮ２位にアシル基を導入し；
（４）５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル保護を選択的に除去するために，フッ素イオン源，例えば，フッ化水素－ピリジン，トリブチルアミン－フッ化水素またはこれらの同等物を用いて，２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ２－イソブチリルグアノシンの単離に適した条件下で，工程（３）の生成物を脱保護し；
（５）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いることにより，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ２－イソブチリルグアノシンを得るのに適した条件下で，工程（４）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして
（６）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（５）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０１９６】

好ましい態様においては，本発明により企図される２’－デオキシ－２’－アミノおよび２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシド類似体の合成は，アデノシン，シチ

ジン，ウリジン，およびグアノシンヌクレオシドおよびその対応するＬ－異性体に限定されず，多数のヌクレオシドまたはＣ－ヌクレオシド類似体の任意のもの，例えば，限定されないが，リボチミジンヌクレオシド，イノシンヌクレオシド，プリンヌクレオシド，２，６－ジアミノプリンヌクレオシド，ピリジン－４－オンヌクレオシド，ピリジン－２－オンヌクレオシド，フェニルＣ－ヌクレオシド，シュードウラシルヌクレオシド，２，４，６－トリメトキシベンゼンＣ－ヌクレオシド，３－メチルウラシルヌクレオシド，ジヒドロウリジンヌクレオシド，ナフチルＣ－ヌクレオシド，アミノフェニルＣ－ヌクレオシド，５－アルキルシチジンヌクレオシド（例えば，５－メチルシチジン），５－アルキルウリジンヌクレオシド（例えば，リボチミジン），５－ハロウリジンヌクレオシド（例えば，５－ブロモウリジン），６－アザピリミジンヌクレオシド，６－アルキルピリミジンヌクレオシド（例えば６－メチルウリジン），プロピンヌクレオシド，４’－チオヌクレオシド，炭素環式ヌクレオシド，これらの対応するＬ異性体および他のものが包含される。

【０１９７】

さらに別の態様においては，本発明により企図される２－Ｏ－シリルヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリルＣ－ヌクレオシドの合成には，限定されないが，シチジン，ウリジン，アデノシン，グアノシン，イノシン，Ｌ－シチジン，Ｌ－ウリジン，Ｌ－アデノシン，Ｌ－グアノシン，Ｌ－イノシン，アラビノ－シチジン，アラビノ－ウリジン，アラビノ－アデノシン，アラビノ－グアノシン，アラビノ－イノシン，Ｌ－アラビノ－シチジン，Ｌ－アラビノ－ウリジン，Ｌ－アラビノ－アデノシン，Ｌ－アラビノ－グアノシン，Ｌ－アラビノ－イノシン，リボ－チミジン，アラビノ－チミジン，Ｌ－リボ－チミジン，およびＬ－アラビノ－チミジンからなる群より選択されるヌクレオシド；フェニル，ナフチル，アミノフェニル，および２，４，６－トリメトキシベンジルＣ－ヌクレオシドからなる群より選択されるＣ－ヌクレオシド，およびこれらの対応するＬおよびアラビノ異性体が含まれる。

【０１９８】

別の態様においては，２’－Ｏ－シリル－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－ヌクレオシドホスホルアミダイトを合成する方法を用いて，２’－Ｏ－シリル－Ｄ－リボフラノシルヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｄ－リボフラノシルヌクレオシドホスホルアミダイト，２’－Ｏ－シリル－Ｌ－リボフラノシルヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｌ－リボフラノシルヌクレオシドホスホルアミダイト，２’－Ｏ－シリル－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｄ－アラビノフラノシルヌクレオシドホスホルアミダイトおよび２’－Ｏ－シリル－Ｌ－アラビノフラノースヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｌ－アラビノフラノースヌクレオシドホスホルアミダイトの両方を合成する。

【０１９９】

本発明はまた，２’－Ｏ－シリル－Ｃ－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリルＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイトの製造のための合成方法を特徴とする。該方法は，キログラムまたはそれ以上の量にスケールアップすることができる。該方法は以下の工程を含む：（１）例えば，ジシリルアルキルビス（トリフルオロメタンスルホネート）を用いることにより，ＤまたはＬのＣ－ヌクレオシドでありうるＣ－ヌクレオシドに５’，３’－環状シリル保護基を導入して，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）Ｃ－ヌクレオシドを生成し；そして（２）例えば，工程（１）の生成物を置換塩化シリルおよび／またはシリルトリフレート，例えば，塩化ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルおよびｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルトリフレートで処理することにより，２’－Ｏ－シリルエーテルの選択的形成により２’－Ｏ－シリル保護基を導入して，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－シリルＣ－ヌクレオシドを生成し；そして（３）必要な場合には，例えば，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－シリルＣ－ヌクレオシドを塩化アシルまたは無水アシルで処理することにより，工程（２）の生成物に核酸塩基保護を導入し；そして（４）例えば，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジ

イル）－２’－Ｏ－シリルＣ－ヌクレオシドをフッ素イオン源，例えばピリジン／ＨＦで処理することにより，工程（３）の生成物からの５’，３’－環状シリルエーテルを選択的に脱シリル化して，２’－Ｏ－シリル－Ｃ－ヌクレオシド，例えば２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルＣ－ヌクレオシドを生成し；そして（５）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いることにより，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルＣ－ヌクレオシドを得るのに適した条件下で，工程（４）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして（６）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルＣ－ヌクレオシド３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（５）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０２００】

１つの態様においては，本発明は，２’－Ｏ－シリル－Ｃ－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｃ－ヌクレオシドホスホルアミダイトを化学的に合成する方法を特徴とする。該方法は，キログラムまたはそれ以上の量にスケールアップすることができる。該方法は，以下の各工程を含む：（１）必要な場合には，例えば，Ｃ－ヌクレオシドを塩化アシルまたは無水アシルで処理することにより，ＤまたはＬのＣ－ヌクレオシドでありうるＣ－ヌクレオシドに核酸塩基保護を導入し；（２）例えば，ジシリルアルキルビス（トリフルオロメタンスルホネート）を用いて，工程（１）の生成物に５’，３’－環状シリル保護基を導入して，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）Ｃ－ヌクレオシドを形成し；（３）例えば，工程（２）からの生成物を置換塩化シリルおよび／またはシリルトリフレート，例えば塩化ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルおよびｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルトリフレートで処理して，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－シリルＣ－ヌクレオシドを形成することにより，２’－Ｏ－シリルエーテルの選択的形成により２’－Ｏ－シリル保護基を導入し；（４）例えば，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－シリルＣ－ヌクレオシドをフッ素イオン源，例えばピリジン／ＨＦで処理することにより工程（３）の生成物から５’，３’－環状シリルエーテルを選択的に脱シリル化して，２’－Ｏ－シリル－Ｃ－ヌクレオシド，例えば２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルＣ－ヌクレオシドを生成し；（５）例えば，塩化４’－４’－ジメトキシトリチルを用いることにより，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルＣ－ヌクレオシドを得るのに適した条件下で，工程（４）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして（６）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルＣ－ヌクレオシド３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（５）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０２０１】

別の態様においては，２’－Ｏ－シリル－Ｃ－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｃ－ヌクレオシドホスホルアミダイトの合成方法を用いて，２’－Ｏ－シリル－Ｄ－リボフラノシルＣ－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｄ－リボフラノシルＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイト，２’－Ｏ－シリル－Ｌ－リボフラノシルＣ－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｌ－リボフラノシルＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイト，２’－Ｏ－シリル－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｄ－アラビノフラノシルＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイトおよび２’－Ｏ－シリル－Ｌ－アラビノフラノースＣ－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－Ｌ－アラビノフラノースＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイトの両方を合成する。

【０２０２】

本発明はまた，２’－Ｏ－メチルグアノシンヌクレオシドおよび２’－Ｏ－メチルグアノ

シンヌクレオシドホスホルアミダイトを製造するための実用的な合成方法を特徴とする。該方法は，キログラムまたはそれ以上の量にスケールアップすることができる。該方法は以下の工程を含む：（１）ジシリルアルキルビス（トリフルオロメタンスルホネート）を用いて，２，６－ジアミノ－９－（β－リボフラノシル）プリンに５’，３’－環状シリル保護基を導入して，２，６－ジアミノ－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－β－リボフラノシル］プリンを形成し；（２）例えば，工程（１）の生成物を水素化ナトリウムの存在下でヨウ化メチルで処理することにより，２，６－ジアミノ－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－β－リボフラノシル］プリンをメチル化して，２，６－ジアミノ－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－メチル－β－リボフラノシル］プリンを生成し；（３）例えば，２，６－ジアミノ－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－メチル－β－リボフラノシル］プリンを塩化アシルまたは無水アシル，例えば，塩化イソブチリルで処理することにより，工程（２）からの生成物のＮ２およびＮ６位にアシル保護を導入して，N^2－N^6－２，６－ジアミノ－ジアシル－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－メチル－β－リボフラノシル］プリンを生成し；（４）例えば，２，６－ジアミノ－N^2－N^6－ジアシル－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－メチル－β－リボフラノシル］プリンをＴＥＡ／ＭｅＯＨで処理することにより，工程（３）の生成物のN^6位を選択的に脱アシル化して，２，６－ジアミノ－N^2－アシル－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－メチル－β－リボフラノシル］プリンを生成し；（５）例えば，２，６－ジアミノ－N^2－アシル－９－［５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－メチル－β－リボフラノシル］プリンを亜硝酸ナトリウム／酢酸で処理し，次にフッ素イオン源，例えば，ＨＦ－ピリジンで処理することにより，工程（４）の生成物をＮ６－アミンを化学的に脱アミノ化し，脱シリル化して，N^2－アシル－２’－Ｏ－メチルグアノシンを生成し；（６）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いることにより，N^2－アシル－５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－メチルグアノシンを得るのに適した条件下で，工程（５）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして（７）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，N^2－アシル－５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－メチルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（６）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０２０３】

本発明はまた，２’－Ｏ－メチルアデノシンヌクレオシドおよび２’－Ｏ－メチルアデノシンヌクレオシドホスホルアミダイトを製造するための実用的な合成方法を特徴とする。該方法は，キログラムまたはそれ以上の量にスケールアップすることができる。該方法は以下の工程を含む：（１）ジシリルアルキルビス（トリフルオロメタンスルホネート）を用いてアデノシンに５’，３’－環状シリル保護基を導入して，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）アデノシンを形成し；（２）例えば，工程（１）の生成物を水素化ナトリウムの存在下でヨウ化メチルで処理することにより，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）アデノシンをメチル化して，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－メチルアデノシンを生成し；（３）例えば，５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－メチルアデノシンを塩化アシルまたは無水物，例えば塩化ベンゾイルで処理することにより，工程（２）からの生成物のＮ６位にアシル保護を導入して，N^6－アシル－５’，３’－Ｏ－（ジ－アルキルシランジイル）－２’－Ｏ－メチルアデノシンを生成し；（４）フッ素イオン源，例えばＨＦ－ピリジンで処理することにより，工程（３）の生成物を脱シリル化して，N^6－アシル－２’－Ｏ－メチルアデノシンを生成し；（５）例えば，４’－４’－塩化ジメトキシトリチルを用いることにより，N^6－アシル－５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－メチルアデノシンを得るのに適した条件下で，工程（４）の生成物にオリゴヌクレオチド合成に適合した５

’－ヒドロキシル保護基を導入し；そして（６）ホスフィチル化試薬，例えば，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイトを用いて，N^6－アシル－５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－メチルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）の単離に適した条件下で，工程（５）の生成物の３’－位にホスホルアミダイト成分を導入する。

【０２０４】

本発明はまた，１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールホスホルアミダイト，例えば，３－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール－５－Ｏ－ホスホルアミダイトを合成する実用的な方法を提供する。該方法は以下の工程を含む：（１）５－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールの単離に適した条件下で５’－Ｏ－保護チミジン誘導体を脱ピリミジン化し；（２）５－Ｏ－保護－３－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールの単離に適した条件下で，５－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールのＣ３ヒドロキシルに酸不安定性保護基を導入し；（３）３－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールの単離に適した条件下で，工程（２）の生成物を選択的に５－Ｏ－脱保護し；そして（４）３－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール－５－Ｏ－ホスホルアミダイトの単離に適した条件下で，工程（３）の生成物に５－Ｏ－ホスホルアミダイト成分を導入する。

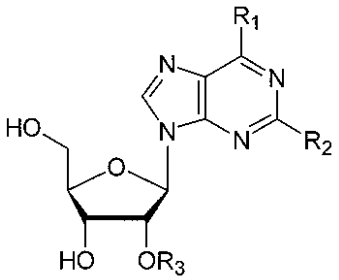
【０２０５】

本発明はまた，１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールスクシネート，例えば，３－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール－５－Ｏ－スクシネートを合成する実用的な方法を提供する。該方法は以下の工程を含む：（１）５－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールの単離に適した条件下で，５’－Ｏ－保護チミジン誘導体を脱ピリミジン化し；（２）５－Ｏ－保護－３－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールの単離に適した条件下で，５－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールのＣ３ヒドロキシルに酸不安定性保護基を導入し；（３）３－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールの単離に適した条件下で，工程（２）の生成物を選択的に５－Ｏ－脱保護し；そして（４）３－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール－５－Ｏ－スクシネートの単離に適した条件下で，工程（３）の生成物に５－Ｏ－スクシネート成分を導入する。

【０２０６】

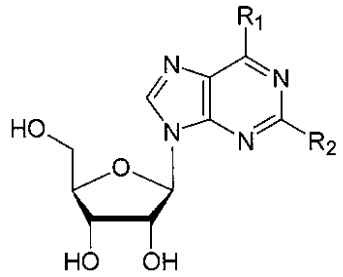
１つの態様においては，本発明は，式Ｉ：

【化２４】

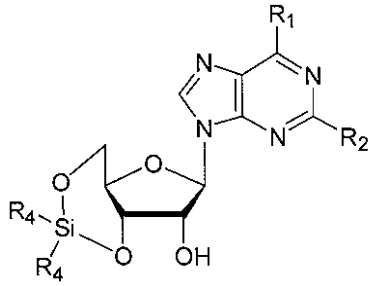


［式中，各R_1およびR_2は，独立して，水素，$NR_{10}R_{11}$，（$NR_{10}R_{11}$）アルキル，アルキル，またハロゲンを含み，ここで，R_{10}およびR_{11}は，独立して，水素，アルキル，アルカノイル，アシル，アルコキシ，または，ハロゲン，アルコキシ，ニトロ，およびアルキルを含む３個までの基で独立して置換されていてもよいアリールアルキルを含み，R_3は，独立して，アルキル，アルコキシアルキル，アルキル－チオ－アルキル，シアノアルキル，または，ハロゲン，アルコキシ，ニトロ，またはシアノアルキル

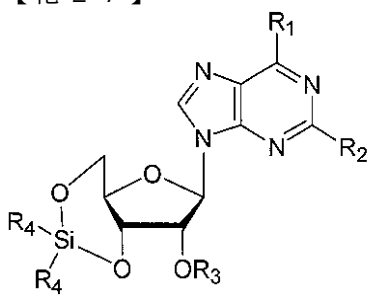
である３個までの基で独立して置換されていてもよいアリールアルキルを含む］
の化合物を合成する方法を特徴とし，該方法は，以下の工程を含む：（ａ）式ＩＩ：
【化２５】



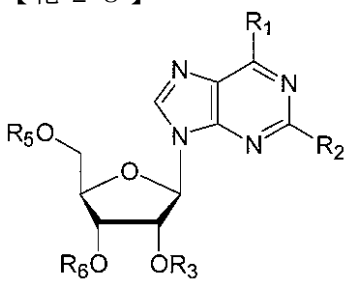
［式中，各R_1およびR_2は式Ｉにおいて記載したとおりである］
の化合物に５’，３’－架橋シリル保護基を導入して，式ＩＩＩ：
【化２６】



［式中，各R_1およびR_2は，式Ｉにおいて記載したとおりであり，各R_4は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキル成分を含む］
の化合物を生成し；（ｂ）工程（ａ）の生成物をアルキル化して，式ＩＶ：
【化２７】



［式中，各R_1，R_2およびR_3は，式Ｉにおいて定義したとおりであり，R_4は，式ＩＩにおいて定義したとおりである］
の化合物を生成し；そして（ｃ）工程（ｂ）の生成物を脱保護して，式Ｉの化合物を得る。
【０２０７】
別の態様においては，本発明は，式Ｖ：
【化２８】



［式中，R_1およびR_2は，独立して，水素，$NR_{10}R_{11}$，（$NR_{10}R_{11}$）アル

キル，アルキル，またはハロゲンを含み，ここで，R_{10}およびR_{11}は，独立して，水素，アルキル，アルカノイル，アシル，アルコキシ，または，ハロゲン，アルコキシ，ニトロ，およびアルキルを含む３個までの基で独立して置換されていてもよいアリールアルキルを含み，およびR_3は，独立して，アルキル，アルコキシアルキル，アルキル－チオ－アルキル，シアノアルキル，または，ハロゲン，アルコキシ，ニトロ，およびシアノアルキルを含む３個までの基で独立して置換されていてもよいアリールアルキルを含み，R_5は，酸不安定性保護成分を含み，およびR_6はリン含有成分を含む］
を有する化合物を合成する方法を特徴とし，該方法は以下の工程を含む：（ａ）式ＩＩの化合物に５’，３’－架橋シリル保護基を導入して式ＩＩＩの化合物を生成し；（ｂ）工程（ａ）の生成物をアルキル化して式ＩＶの化合物を生成し；（ｃ）工程（ｂ）におけるR_1またはR_2が独立してアミノ成分を含む場合には，工程（ｂ）の生成物に少なくとも１つの環外のアミン保護成分を導入し；（ｄ）工程（ｃ）の生成物を脱保護して式Ｉの化合物を生成し；そして（ｅ）工程（ｄ）の生成物に酸不安定性保護成分を，次にリン含有成分を導入して，式Ｖの化合物を生成する。

【０２０８】
別の態様においては，本発明の式ＩＩおよびＩＩＩのR_4はｔｅｒｔ－ブチル成分を含む。

【０２０９】
別の態様においては，本発明の式Ｉ－ＶのR_1はアミノ成分を含み，本発明の式Ｉ－ＶのR_2はＨを含む。

【０２１０】
別の態様においては，本発明の式Ｉ－ＶのR_1およびR_2は，それぞれアミノ成分を含む。

【０２１１】
別の態様においては，本発明の式Ｉ－ＶのR_1はクロロ成分を含み，本発明の式Ｉ－ＶのR_2はＨを含む。

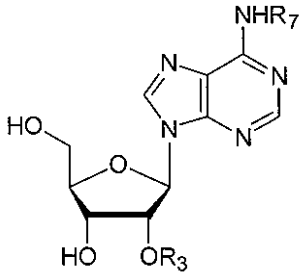
【０２１２】
１つの態様においては，式Ｉの化合物は，２’－Ｏ－メチルアデノシンを含む。

【０２１３】
別の態様においては，本発明の式Ｖの化合物は，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－メチル－Ｎ２－ベンゾイルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）を含む。

【０２１４】
別の態様においては，本発明のアルキル化は，ヨウ化メチルおよび水素化ナトリウムを用いるアルキル化を含む。

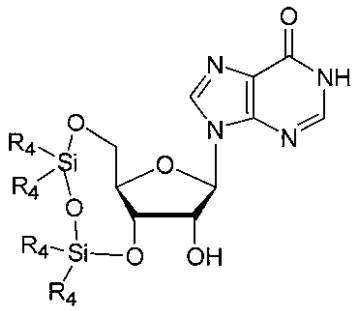
【０２１５】
１つの態様においては，本発明は，式ＶＩ：

【化２９】

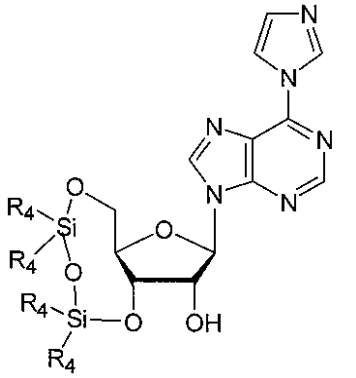


［式中，R_3は，アルキル，アルコキシアルキル，アリールアルキル，アルキル－チオ－アルキル，またはシアノアルキル成分を含み，およびR_7は，Ｈまたはアシル成分を含む］
を有する化合物を合成する方法を特徴とし，該方法は以下の工程を含む：（ａ）イノシン

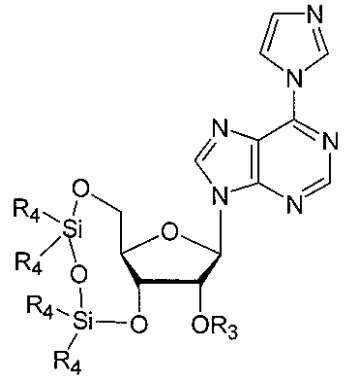
に５’，３’－架橋シリル保護基を導入して，式ＶＩＩ：
【化３０】



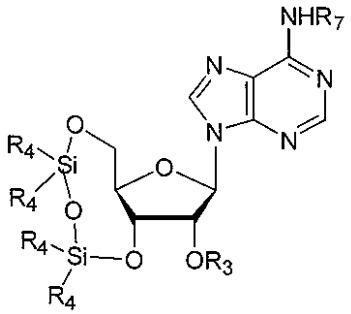
［式中，各R_4は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキル成分を含む］
の化合物を生成し；（ｂ）工程（ａ）の生成物にイミダゾール成分を導入して，式ＶＩＩＩ：
【化３１】



［式中，各R_4は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキル成分を含む］
の化合物を生成し；（ｃ）工程（ｂ）の生成物をアルキル化して，式ＩＸ：
【化３２】



［式中，各R_4は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキル成分を含み，およびR_3は，式ＶＩにおいて定義したとおりである］
の化合物を生成し；（ｄ）工程（ｃ）の生成物をアミノ化して，式Ｘ：
【化３３】

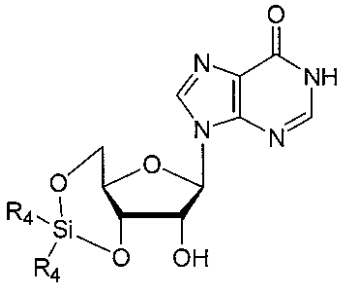


［式中，各Ｒ３およびＲ７は，式ＶＩにおいて定義したとおりである］
の化合物を生成し；そして（ｅ）工程（ｄ）の生成物を脱シリル化して，式ＶＩの化合物を得る。

【０２１６】

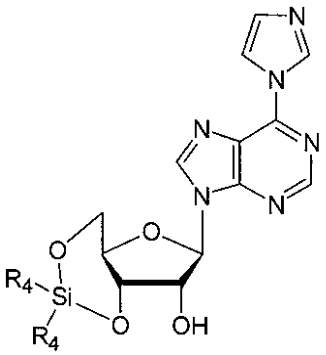
別の態様においては，本発明は，式ＶＩを有する２’－Ｏ－アルキルアデノシン誘導体を合成する方法を特徴とし，該方法は以下の工程を含む：（ａ）イノシンに５’，３’－架橋シリル保護基を導入して，式ＸＩ：

【化３４】



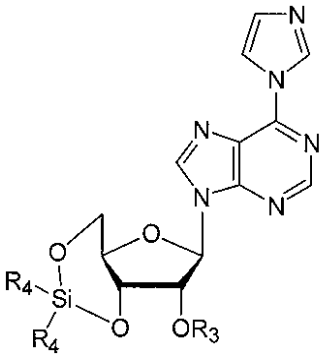
［式中，各Ｒ４は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキル成分を含む］
の化合物を生成し；（ｂ）工程（ａ）の生成物にイミダゾール成分を導入して，式ＸＩＩ：

【化３５】

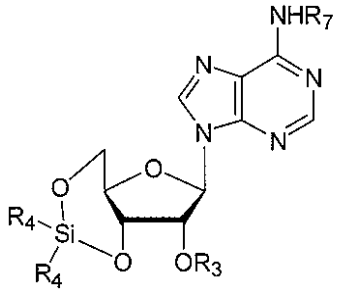


［式中，各Ｒ４は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキル成分を含む］
の化合物を生成し；（ｃ）工程（ｂ）の生成物をアルキル化して，式ＸＩＩＩ：

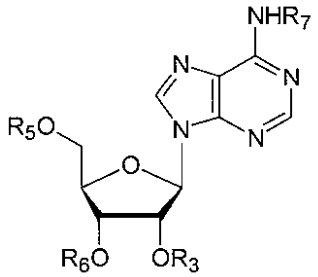
【化３６】



［式中，Ｒ３は，式ＶＩにおいて定義したとおりであり，各Ｒ４は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキル成分を含む］
の化合物を生成し；（ｄ）工程（ｃ）の生成物をアミノ化して，式ＸＩＶ：
【化３７】

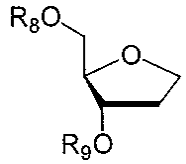


［式中，各Ｒ３およびＲ７は，式ＶＩにおいて定義したとおりである］
の化合物を生成し；および（ｅ）工程（ｄ）の生成物を脱シリル化して，式ＶＩの化合物を生成する。
【０２１７】
別の態様においては，本発明は，式ＸＶ：
【化３８】

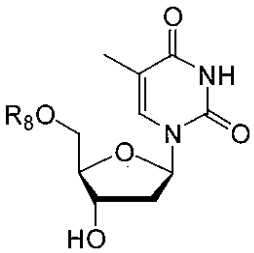


［式中，各Ｒ３およびＲ７は，式ＶＩにおいて定義したとおりであり，Ｒ５は，酸不安定性保護成分を含み，およびＲ６はリン含有成分を含む］
を有する化合物を合成する方法を特徴とし，該方法は，以下の工程を含む：（ａ）式ＶＩの化合物に酸不安定性保護成分を，次にリン含有成分を導入して，式ＸＶの化合物を得る。
【０２１８】
別の態様においては，本発明のＲ４はイソプロピル成分を含む。
【０２１９】
別の態様においては，本発明のＲ４はｔｅｒｔ－ブチル成分を含む。
【０２２０】
別の態様においては，本発明のＲ３はメチル成分を含む。
【０２２１】
別の態様においては，本発明の式ＶＩの化合物は２’－Ｏ－メチルアデノシンを含む。
【０２２２】

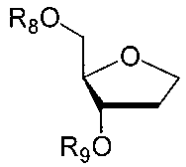
別の態様においては，本発明のＲ$_7$はベンゾイル成分を含む。
【０２２３】
別の態様においては，本発明のＲ$_7$はＨを含む。
【０２２４】
別の態様においては，本発明の式ＸＶの化合物は，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－メチル－Ｎ２－ベンゾイルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）を含む。
【０２２５】
１つの態様においては，本発明は，式ＸＶＩ：
【化３９】



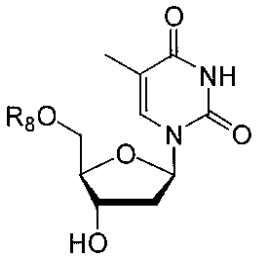
［式中，Ｒ$_8$は，スクシネート成分，シリルアルキル成分，またはＨを含み，Ｒ$_9$は，酸不安定性保護成分またはＨを含む］
を有する化合物を合成する方法を特徴とし，該方法は以下の工程を含む：（ａ）式ＸＶＩＩ：
【化４０】



［式中，Ｒ$_8$はシリルアルキル成分を含む］
の化合物を脱ピリミジン化して，式ＸＶＩ［式中，Ｒ$_8$はシリルアルキル成分を含み，Ｒ$_9$はＨを含む］の化合物を生成し；（ｂ）工程（ａ）の生成物に酸不安定性保護成分を導入して，式ＸＶＩ［式中，Ｒ$_8$はシリルアルキル成分を含み，Ｒ$_9$は酸不安定性保護成分を含む］の化合物を生成し；（ｃ）工程（ｂ）の生成物を脱保護して，式ＸＶＩ［式中，Ｒ$_8$はＨを含み，Ｒ$_9$は酸不安定性保護成分を含む］の化合物を生成し；そしておよび（ｄ）工程（ｃ）の生成物にスクシネート成分を導入して，式ＸＶＩ［式中，Ｒ$_8$はスクシネート成分を含み，Ｒ$_9$は酸不安定性保護成分を含む］の化合物を得る。
【０２２６】
別の態様においては，本発明は，式ＸＶＩ：
【化４１】



［式中，Ｒ$_8$は，リン含有成分，シリルアルキル成分，またはＨを含み，Ｒ$_9$は，酸不安定性保護成分またはＨを含む］
を有する化合物を合成する方法を特徴とし，該方法は以下の工程を含む：（ａ）式ＸＶＩＩ：
【化４２】



［式中，R_8はシリルアルキル成分を含む］
の化合物を脱ピリミジン化して，式ＸＶＩ［式中，R_8はシリルアルキル成分を含み，R_9はＨを含む］の化合物を生成し；（ｂ）工程（ａ）の生成物に酸不安定性保護成分を導入して，式ＸＶＩ［式中，R_8はシリルアルキル成分を含み，R_9は酸不安定性保護成分を含む］の化合物を生成し；（ｃ）工程（ｂ）の生成物を脱保護して，式ＸＶＩ［式中，R_8はＨを含み，R_9は酸不安定性保護成分を含む］の化合物を生成し；そして（ｄ）工程（ｃ）の生成物にリン含有成分を導入して，式ＸＶＩ［式中，R_8はリン含有成分を含み，R_9は酸不安定性保護成分を含む］の化合物を生成する。

【０２２７】

別の態様においては，本発明の式ＸＶＩおよびＸＶＩＩのシリルアルキル成分R_8は，ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル，ｔｅｒｔ－ブチルジフェニルシリル，またはトリイソプロピルシリル成分を含む。

【０２２８】

別の態様においては，本発明の脱ピリミジン化条件は，式ＸＶＩの化合物をシリル化試薬および触媒で処理し，次に水素化し，そして選択的に脱シリル化して，式ＸＶＩ［式中，R_8はシリルアルキル成分を含み，R_9はＨを含む］の化合物を生成することを含む。

【０２２９】

別の態様においては，脱ピリミジン化において用いられる本発明のシリル化試薬はヘキサメチルジシラザンを含む。

【０２３０】

別の態様においては，脱ピリミジン化において用いられる本発明の触媒は，硫酸，パラ－トルエンスルホン酸，および硫酸アンモニウムを含む。

【０２３１】

別の態様においては，脱ピリミジン化において用いられる本発明の触媒は，スルホン酸，ハロゲン化スルホニル，スルホネートまたはスルファミド，例えば，メタンスルホン酸，トリフルオロメタンスルホン酸，メタンスルファミド，スルファミド，塩化メタンスルホニル，またはトリメチルシリルメタンスルホネートを含む。

【０２３２】

別の態様においては，本発明の脱ピリミジン化反応において用いられる選択的脱シリル化反応は，ピリジニウムトリフルオロ酢酸による処理を含む。

【０２３３】

別の態様においては，本発明の方法の脱ピリミジン化工程において用いられる水素化反応は，水素ガスおよびパラジウム担持炭素を用いる触媒的水素化を含む。

【０２３４】

別の態様においては，R_8がシリルアルキル成分を含み，R_9が酸不安定性保護成分を含む本発明の式ＸＶＩの化合物の脱保護条件は，エタノール中水酸化ナトリウムによる処理を含む。

【０２３５】

別の態様においては，R_8がスクシネート成分を含み，R_9が酸不安定性保護成分を含む本発明の式ＸＶＩの化合物は，３－Ｏ－ジメトキシトリチル－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール－５－Ｏ－スクシネートを含む。

【０２３６】

別の態様においては，R_8がホスホルアミダイト成分を含み，R_9が酸不安定性保護成分

を含む本発明の式ＸＶＩの化合物は，３－Ｏ－ジメトキシトリチル－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール－５－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）を含む。

【０２３７】

１つの態様においては，本発明の酸不安定性保護成分は，ジメトキシトリチル，モノメトキシトリチル，またはトリチル成分を含む。

【０２３８】

別の態様においては，本発明のリン含有成分はホスホルアミダイト成分を含む。

【０２３９】

別の態様においては，本発明のリン含有成分は三リン酸成分を含む。

【０２４０】

別の態様においては，本発明のホスホルアミダイト成分は３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）成分を含む。

【０２４１】

別の態様においては，本発明の化合物のアミノ化は，アンモニアを用いるアミノ化を含む。

【０２４２】

別の態様においては，本発明の化合物のアミノ化は，アクリルアミドを用いるアミノ化を含む。

【０２４３】

別の態様においては，本発明のアクリルアミドはベンズアミドである。

【０２４４】

別の態様においては，本発明の５’，３’－架橋シリル保護基は，塩基の存在下でジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルビス（トリフルオロメタンスルホネート）を用いて導入する。

【０２４５】

別の態様においては，本発明の５’，３’－架橋シリル保護基は，塩基の存在下で１，３－ジクロロ－１，１，３，３－テトライソプロピルジシロキサンを用いて導入する。

【０２４６】

別の態様においては，本発明の５’，３’－架橋シリル保護基を導入するために用いられる塩基は，トリエチルアミン，ジイソプロピルエチルアミン，ピリジン，コリジン，ルチジン，１－メチルイミダゾール，イミダゾール，Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノピリジン，またはこれらの組み合わせを含む。

【０２４７】

別の態様においては，本発明のアルキル化は，アルキルハロゲン化物および塩基の存在下で行う。

【０２４８】

別の態様においては，本発明のアルキル化において用いられるアルキルハロゲン化物はヨウ化メチルを含み，および本発明のアルキル化において用いられる塩基は水素化ナトリウムを含む。

【０２４９】

別の態様においては，本発明の，例えば，ヌクレオシドの５’および３’ヒドロキシルのシリル脱保護は，酸，フッ素源，またはこれらの組み合わせ，例えば，ＨＦ／ピリジン，フッ化テトラブチルアンモニウム，水性ＨＦ溶液，ＨＦガス，またはＨＦ／トリエチルアミン付加物を含む試薬を用いて行う。

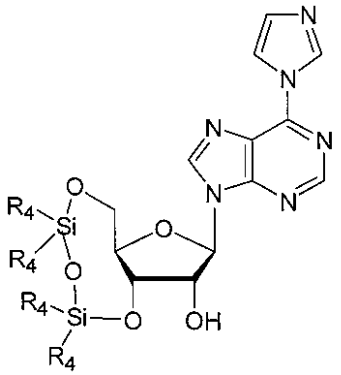
【０２５０】

１つの態様においては，本発明の反応工程は，独立して，約－２０（Ｃから約５０（Ｃの温度で実施する。

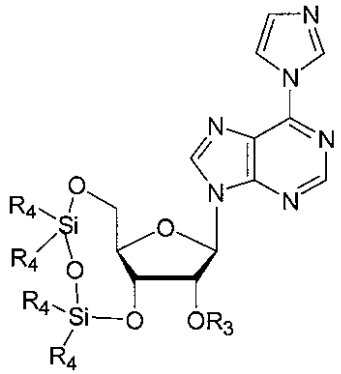
【０２５１】

別の態様においては，本発明のリン含有成分はクロロホスフィンおよび塩基を用いて導入する。

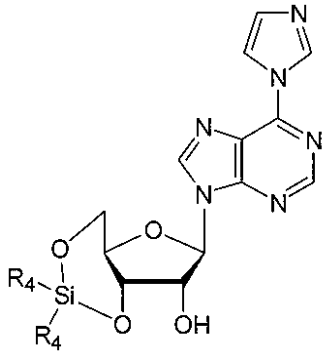
【０２５２】
別の態様においては，本発明のリン含有成分を導入するために用いられる塩基は，トリエチルアミン，ジイソプロピルエチルアミン，ピリジン，コリジン，ルチジン，１－メチルイミダゾール，イミダゾール，Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノピリジン，またはこれらの組み合わせを含む。
【０２５３】
１つの態様においては，本発明は，式ＶＩＩＩ：
【化４３】



［式中，各R_4は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキルを含む］の組成物を特徴とする。
【０２５４】
別の態様においては，本発明は，式ＩＸ：
【化４４】



［式中，R_4は，独立して，アルキル，アルコキシアルキル，アルキル－チオ－アルキル，シアノアルキル，または，ハロゲン，アルコキシ，ニトロおよびアルキルを含む３個までの基で独立して置換されていてもよいアリールアルキルを含み，各R_4は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキルを含む］
の組成物を特徴とする。
【０２５５】
１つの態様においては，本発明は，式ＸＩＩ：
【化４５】

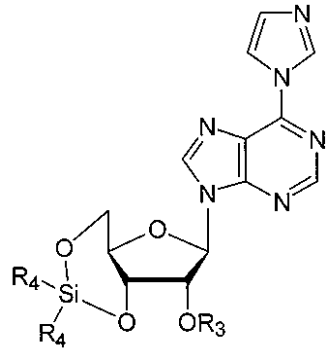


［式中，各Ｒ$_4$は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキルを含む］の組成物を特徴とする。

【０２５６】

別の態様においては，本発明は，式ＸＩＩＩ：

【化４６】



［式中，Ｒ$_4$は，独立して，アルキル，アルコキシアルキル，アルキル－チオ－アルキル，シアノアルキル，または，ハロゲン，アルコキシ，ニトロおよびアルキルを含む３個までの基で独立して置換されていてもよいアリールアルキルを含み，各Ｒ$_4$は，独立して，アルキル，アリールまたはイソアルキルを含む］

の組成物を特徴とする。

【０２５７】

１つの態様においては，本発明の式ＸＩＩＩおよびＩＸのＲ$_4$はイソプロピルを含む。

【０２５８】

別の態様においては，式ＸＩＩおよびＸＩＩＩのＲ$_4$はｔｅｒｔ－ブチルを含む。

【０２５９】

別の態様においては，式ＩＸおよびＸＩＩＩのＲ$_3$はメチルを含む。１つの態様においては，本発明の５－Ｏ－保護－３－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトールの選択的５－Ｏ－脱保護に適した条件は，水酸化ナトリウム，例えばエタノール中の還流水酸化ナトリウムの使用を含む。

【０２６０】

別の態様においては，本発明の３－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール－５－Ｏ－スクシネートは３－Ｏ－ジメトキシトリチル－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール－５－Ｏ－スクシネートである。

【０２６１】

別の態様においては，本発明の３－Ｏ－保護－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール－５－Ｏ－ホスホルアミダイトは３－Ｏ－ジメトキシトリチル－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール－５－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）である。

【０２６２】

さらに別の態様においては，本発明の方法を用いて，ＬおよびＤ－ヌクレオシドの両方，例えば，限定されないが２’－Ｏ－シリル－β－Ｌ－リボフラノシルヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－β－Ｌ－リボフラノシルヌクレオシドホスホルアミダイトを合成することができる。

【０２６３】

さらに別の態様においては，本発明の本発明を用いて，ＬおよびＤ－Ｃ－ヌクレオシドの両方，例えば，限定されないが，２’－Ｏ－シリル－β－Ｌ－リボフラノシルＣ－ヌクレオシドおよび２’－Ｏ－シリル－β－Ｌ－リボフラノシルＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイトを合成することができる。

【０２６４】

本発明の２’－デオキシ－２’－アミノ，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル，２’－Ｏ－メチル，Ｄ－リボ，およびＬ－リボヌクレオシドおよびＣ－ヌクレオシドおよび１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール誘導体は，核酸分子中への選択的取り込みのためのビルディングブロックとして，ヌクレオチド，Ｃ－ヌクレオチド，ヌクレオチド－三リン酸，Ｃ－ヌクレオチド三リン酸および／またはヌクレオシドホスホルアミダイトおよびＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイトの化学合成において用いることができる。２’－デオキシ－２’－アミノ，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル，２’－Ｏ－メチル，Ｄ－リボおよびＬ－リボヌクレオシド，Ｃ－ヌクレオシド，および１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール誘導体をオリゴヌクレオチド中に取り込ませることは，例えば，限定されないが，そのような基を有しない分子と比較して，ヌクレアーゼ耐性の付与，改良された触媒活性，および増加した機能性等の多くの目的に利用することができる。これらのヌクレオシドの使用はまた，追加の官能基，リンカー，生物分子，ペプチド，蛋白質，糖，オリゴヌクレオチド，固体支持体，小分子，化学的ヌクレアーゼ，および核酸分子の所望の活性を調節するのに有用な他の分子の共有結合のための有用な足場を提供することができる。さらに，これらの核酸分子は，酵素的核酸分子，アンチセンス核酸，２－５Ａアンチセンスキメラ，デコイ核酸分子，アプタマー核酸分子，トリプレックス形成オリゴヌクレオチド，キメラ核酸分子，アゴニスト核酸分子，アンタゴニスト核酸分子，または他の任意の核酸分子種として用いることができる。上述の用語は当該技術分野においてよく知られる構造および組成物を表すものであり，これに関するさらなる情報は以下に記載される。本発明の核酸分子はまた，例えば，限定されないが，治療剤，診断試薬，および研究試薬としての用途の目的のために用いることもできる。核酸分子の他の用途には，ＲＮＡまたはＤＮＡの合成および／またはシークエンシングのためのプローブまたはプライマーとしての使用が含まれる。

【０２６５】

さらに，２’－デオキシ－２’－アミノ，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル，２’－Ｏ－メチル，Ｄ－リボ，およびＬ－リボヌクレオシド，Ｃ－ヌクレオシドおよびヌクレオシドおよびＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイトおよび１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール誘導体は，酵素的核酸分子の合成において用いることができる。例えば，これらのヌクレオシドは，ハンマーヘッド，ＮＣＨ（イノザイム），Ｇ－切断剤，アンバーザイム，チンザイムおよび／またはＤＮＡザイムモチーフを有する酵素的核酸分子等の合成において用いることができる。

【０２６６】

本明細書において用いる場合，”核酸分子”との用語は，ヌクレオチドを有する分子を表す。核酸は，一本鎖，二本鎖，または多重鎖であることができ，修飾または未修飾ヌクレオチドまたは非ヌクレオチド，またはこれらの種々の混合物および組み合わせを含むことができる。

【０２６７】

本明細書において用いる場合，”アンチセンス核酸”との用語は，ＲＮＡ－ＲＮＡまたはＲＮＡ－ＤＮＡまたはＲＮＡ－ＰＮＡ（蛋白質核酸；Ｅｇｈｏｌｍ　ｅｔ　ａｌ．，１９９３，Ｎａｔｕｒｅ，３６５，５６６）相互作用により標的ＲＮＡに結合し，標的ＲＮＡ

の活性を変化させる非酵素的核酸分子を表す（概説として，Ｓｔｅｉｎ ａｎｄ Ｃｈｅｎｇ，１９９３，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２６１，１００４およびＷｏｏｌｆ ｅｔ ａｌ．，米国特許５，８４９，９０２を参照）。典型的には，アンチセンス分子は，アンチセンス分子の１つの連続する配列に沿って標的配列に相補的であろう。しかし，ある種の態様においては，アンチセンス分子は基質分子がループを形成するように基質に結合することができ，および／またはアンチセンス分子はアンチセンス分子がループを形成するように結合することができる。すなわち，アンチセンス分子は，２つ（またはさらにそれ以上）の非連続的な基質配列に相補的であってもよく，あるいは，アンチセンス分子の２つ（またはさらにそれ以上）の非連続的な配列部分が標的配列に相補的であってもよく，これらの両方であってもよい。現在のアンチセンス戦略の概説としては，Ｓｃｈｍａｊｕｋ ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２７４，２１７８３－２１７８９，Ｄｅｌｉｈａｓ ｅｔ ａｌ．，１９９７，Ｎａｔｕｒｅ，１５，７５１－７５３，Ｓｔｅｉｎ ｅｔ ａｌ．，１９９７，Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ Ｎ．Ａ．Ｄｒｕｇ Ｄｅｖ．，７，１５１，Ｃｒｏｏｋｅ，１９９８，Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｇｅｎｅｔ．Ｅｎｇ．Ｒｅｖ．，１５，１２１－１５７，Ｃｒｏｏｋｅ，１９９７，Ａｄ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．，４０，１－４９を参照されたい。さらに，アンチセンスＤＮＡを用いてＤＮＡ－ＲＮＡ相互作用によりＲＮＡをターゲティングし，このことにより，ＲＮａｓｅＨを活性化し，これがデュープレックス中の標的ＲＮＡを切断することができる。アンチセンスＤＮＡは，化学的に合成してもよく，あるいは，一本鎖ＤＮＡ発現ベクターまたはその同等物を用いて発現させてもよい。

【０２６８】

本明細書において用いる場合，”２－５Ａアンチセンスキメラ”との用語は，５’リン酸化２’－５’－結合アデニル酸残基を含有するアンチセンスオリゴヌクレオチドを表す。これらのキメラは配列特異的様式で標的ＲＮＡに結合し，細胞性２－５Ａ－依存性リボヌクレアーゼを活性化させ，次にこれは標的ＲＮＡを切断する（Ｔｏｒｒｅｎｃｅ ｅｔ ａｌ．，１９９３ Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０，１３００）。

【０２６９】

本明細書において用いる場合，”トリプレックス形成オリゴヌクレオチド”との用語は，配列特異的様式で二本鎖ＤＮＡに結合して，三本鎖ヘリックスを形成しうるオリゴヌクレオチドを表す。そのような三重ヘリックス構造の形成は，標的遺伝子の転写を阻害することが示されている（Ｄｕｖａｌ－Ｖａｌｅｎｔｉｎ ｅｔ ａｌ．，１９９２ Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８９，５０４）。

【０２７０】

本明細書において用いる場合，”酵素的核酸分子”との用語は，基質結合領域において特定の遺伝子標的に相補性を有し，さらに，標的ＲＮＡを特異的に切断する作用をする酵素的活性を有する核酸分子を表す。すなわち，酵素的核酸分子は，分子間でＲＮＡを切断し，このことにより標的ＲＮＡ分子を不活性化することができる。これらの相補的領域により，酵素的核酸分子が標的ＲＮＡに十分にハイブリダイズし，したがって切断をすることが可能である。相補性は高ければ高いほど，すなわち１００％であることが好ましいが，５０－７５％程度の相補性も本発明において有用でありうる。核酸は，塩基，糖，および／またはリン酸基で修飾されていてもよい。酵素的核酸との用語は，リボザイム，触媒的ＲＮＡ，酵素的ＲＮＡ，触媒的ＤＮＡ，アプタザイムまたはアプタマー結合リボザイム，制御可能リボザイム，触媒的オリゴヌクレオチド，ヌクレオザイム，ＤＮＡザイム，ＲＮＡ酵素，エンドリボヌクレアーゼ，エンドヌクレアーゼ，ミニザイム，リードザイム，オリゴザイムまたはＤＮＡ酵素等の用語と互換的に用いられる。これらの用語はすべて酵素的活性を有する核酸分子を記述する。本明細書に記載される特定の酵素的核酸分子は限定を意味するものではなく，当業者は，本発明の酵素的核酸分子において重要なことは，これが標的核酸領域の１またはそれ以上に相補的な特異的基質結合部位を有し，この基質結合部位中またはその周囲に分子に核酸切断活性を付与するヌクレオチド配列を有すること

であることを認識するであろう（Ｃｅｃｈ　ｅｔ　ａｌ．，米国特許４，９８７，０７１；Ｃｅｃｈ　ｅｔ　ａｌ．，１９８８，ＪＡＭＡ）。

【０２７１】

本明細書において用いる場合，”デコイＲＮＡ”との用語は，リガンドとの天然の結合ドメインを模倣するＲＮＡ分子を表す。したがって，デコイＲＮＡは，特定のリガンドの結合について天然の結合標的と競合する。例えば，ＨＩＶトランスアクチベーション応答（ＴＡＲ）ＲＮＡの過剰発現が”デコイ”として作用することができ，ＨＩＶ　ｔａｔ蛋白質に効率的に結合し，このことによりこれがＨＩＶ　ＲＮＡ中でコードされるＴＡＲ配列に結合することを妨害することが示されている（Ｓｕｌｌｅｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，１９９０，Ｃｅｌｌ，６３，６０１－６０８）。これは特定の例であることを意味する。当業者は，これが唯一の例ではなく，当該技術分野において一般に知られる手法を用いて他の態様を容易になしうることを理解するであろう。

【０２７２】

本明細書において用いる場合，”アゴニストＲＮＡ”との用語は，高い親和性をもって蛋白質レセプターに結合することができ，特定の細胞経路の刺激を引き起こすことができるＲＮＡ分子を表す。

【０２７３】

本明細書において用いる場合，”アンタゴニストＲＮＡ”との用語は，細胞蛋白質に結合することができ，これが正常な生物学的機能を発揮することを妨げることができるＲＮＡ分子を表す（例えば，Ｔｓａｉ　ｅｔ　ａｌ．，１９９２　Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８９，８８６４－８８６８を参照）。

【０２７４】

本発明のヌクレオシドを用いることができる酵素的核酸分子の例には，ハンマーヘッド，ＮＣＨまたはイノザイム，Ｇ－切断剤，チンザイム，および／またはアンバーザイムモチーフを有するもの，ならびにＤＮＡザイムが含まれる。これらの構造モチーフはすべて当該技術分野において記述され，したがって当業者にはよく知られている。しかし，構造および関連する技術について以下に簡単に説明する。

【０２７５】

”ハンマーヘッド”モチーフの例は，Ｕｓｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９９６，Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｏｐｉｎｉｏｎ　ｉｎ　Ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，１，５２７－５３３（図面を含めその全体を本明細書の一部としてここに引用する）に示される。

【０２７６】

”ＮＣＨ”または”イノザイム”モチーフの例は，Ｌｕｄｗｉｇ　ｅｔ　ａｌ．，米国特許出願．０９／４０６，６４３（１９９９年９月２７日出願，表題”ＣＯＭＰＯＳＩＴＩＯＮＳ　ＨＡＶＩＮＧ　ＲＮＡ　ＣＬＥＡＶＩＮＧ　ＡＣＴＩＶＩＴＹ”），および国際公開ＷＯ９８／５８０５８およびＷＯ９８／５８０５７（いずれも図面を含めその全体を本明細書の一部としてここに引用する）に示される。

【０２７７】

”Ｇ－切断剤”モチーフの例は，Ｅｃｋｓｔｅｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，国際公開Ｎｏ．ＷＯ９９／１６８７１（図面を含めその全体を本明細書の一部としてここに引用する）に見いだされる。

【０２７８】

”チンザイム”モチーフは，例えば，Ｂｅｉｇｅｌｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，国際公開Ｎｏ．ＷＯ９９／５５８５７（図面を含めその全体を本明細書の一部としてここに引用する）に記載されるようなモチーフを含むクラスＩＩ酵素的核酸分子である。チンザイムは，活性のためにはそれ自身の核酸配列中にリボヌクレオチド（２’－ＯＨ）基を必要としない酵素的核酸分子の非限定的例である。

【０２７９】

”アンバーザイム”モチーフは，例えば，Ｂｅｉｇｅｌｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，国際公開Ｎｏ．ＷＯ９９／５５８５７（図面を含めその全体を本明細書の一部としてここに引用す

る）に記載されるようなモチーフを含むクラスＩ酵素的核酸分子である。アンバーザイムは，活性のためにはそれ自身の核酸配列中にリボヌクレオチド（２’－ＯＨ）基を必要としない酵素的核酸分子の非限定的例である。

【０２８０】

’ＤＮＡザイム’との用語は，その活性のためにはＤＮＡザイム分子中にリボヌクレオチド（２’－ＯＨ）基の存在を必要としない酵素的核酸分子を表すことを意味する。特定の態様においては，酵素的核酸分子は，結合したリンカーまたは他の結合または付随した基，成分，または２’－ＯＨ基を有する１またはそれ以上のヌクレオチドを含有する鎖を有することができる。ＤＮＡザイムは，化学的に合成してもよく，あるいは一本鎖ＤＮＡベクターまたはそれらの同等物を用いてインビボで内生的に発現させてもよい。

【０２８１】

”・・を含む”とは，”・・を含む”の単語の前にあるものを含むがそれには限定されないことを意味する。すなわち，”・・を含む”との用語の使用は，挙げられる要素が必要または強制的なものであるが，他の要素は任意であり，存在しても存在しなくてもよいことを示す。”・・からなる”とは，”・・からなる”の語句の前にあるものをすべて含みかつそれに限定されることを意味する。すなわち，”・・からなる”との語句は，挙げられる要素が必要な要素から実質的に構成され，他の要素は実質的に存在しないことを示す。”本質的に・・からなる”とは，この語句の前に挙げられるすべての要素を含み，挙げられる要素についての開示において特定される活性または作用を妨害せずまたはそれに貢献する他の要素に限定されることを意味する。すなわち，”本質的に・・からなる”との語句は，挙げられる要素は必要な要素から実質的に構成されるが，他の要素は任意であり，それらが挙げられる要素の活性または作用に影響を及ぼすか否かによって，存在しても存在しなくてもよいことを示す。

【０２８２】

本発明の他の特徴および利点は，以下の本発明の好ましい態様の説明および特許請求の範囲から明らかとなるであろう。本発明の広範な範囲は，以下の実施例を参照することにより最もよく理解される。これらの実施例は，本発明を以下に記載される特定の態様に限定することを意図するものではない。

【０２８３】

実施例１：５’－Ｏ－ＤＭＴ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（８ａ，Ｒ＝アセチル）の合成，図３

１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アセチルシトシン（２，Ｒ＝アセチル）（Ｂｈａｔ，Ｖ；ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ ＆ Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ，８（２），１７９－８３を改変）

１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－シトシン（シタラビン）（１），（２５ｇ，１０２．７５ｍｍｏｌ，Ｐｆａｎｓｔｉｅｈｌ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｃａｔ．Ｎｏ．Ｃ－１２３，Ｌｏｔ＃２４１７Ｂ）をＤＭＦ（１２０－ｍｌ）で３回共蒸発させ，次に無水ＤＭＦ（２５０ｍｌ）に溶解した。無水酢酸（１１．６２ｍｌ，１２３．３０ｍｍｏｌ）を撹拌しながら滴加した。室温で２４時間撹拌した後，ＴＬＣ（２０％ＭｅＯＨ／CH_2Cl_2）は反応の完了を示した。反応を無水ＭｅＯＨ（２５ｍｌ）で急冷し，ＤＭＦを回転蒸発により除去し，トルエンと３回共蒸発させた。粗生成物である黄色泡状物をジエチルエーテル／メタノール（１０：１．）の混合物から結晶化した。結晶化生成物を濾過し，ジエチルエーテルで洗浄し，乾燥して，２７．５ｇ（９４％）の所望の生成物（２，Ｒ＝アセチル）を得た。

【０２８４】

５’，３’－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アセチルシトシン（３，Ｒ＝アセチル）

１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アセチルシトシン（２，Ｒ＝アセチル）（２７．００ｇ，９４．６７ｍｍｏｌ）を無水ピリジン（２５０ｍｌ）と２回共蒸発させ，無水

ピリジン（４００ｍｌ）に溶解し，氷／水浴中で０°Ｃに冷却した。１，３－ジクロロ－１，１，３，３－テトライソプロピルジシロキサン（３６．３４ｍｌ，１１３．６ｍｍｏｌ）を撹拌した０°Ｃの反応混合物に２時間かけて滴加した。反応液を室温に平衡化させ，２時間後，ピリジニウム塩酸塩の白色沈殿物が認められた。次に，５時間撹拌した後（ＴＬＣ１０％ＭｅＯＨ／CH_2Cl_2），反応を無水メタノール（１０ｍｌ）で急冷した。ピリジンを回転蒸発により除去し，黄色生成物をCH_2Cl_2（４００ｍｌ）に溶解し，$NaHCO_3$（４００ｍｌ）で２回洗浄し，硫酸ナトリウムで乾燥し，濾過し，蒸発乾固させた。生成物を水／ＥｔＯＨ（１：１，３００ｍｌ総容量，さらに数滴のＥｔＯＨを熱溶液に加えて曇りを除去する。フィルターは６０－１００ミクロンであるべきである）の混合物から結晶化した。結晶をP_2O_5で真空下で一夜乾燥した。この反応の総収量は４４．２ｇ（８９％）であった。

【０２８５】

５’，３’－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－トリフルオロメタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アセチルシトシン（４，Ｒ＝アセチル）

無水ジクロロメタン（３００ｍｌ）中の，５’，３’－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ－４－アセチルシトシン（３，Ｒ＝アセチル）（４４ｇ，８３．２３ｍｍｏｌ），ＤＭＡＰ（３０．５４ｇ，２５０．００ｍｍｏｌ）およびピリジン（２０．２２ｍｌ，２５０．００ｍｍｏｌ）の，０°Ｃでアルゴン下で撹拌した溶液に，無水トリフリル（１８．２０ｍｌ，１０８．２ｍｍｏｌ）をシリンジを用いて３０分間かけて滴加した。添加の間に発熱しないように，温度および無水トリフリルの添加の速度をモニターした。０°Ｃで４時間撹拌し，反応混合物が黄色味／橙色に変化し，ＴＬＣ（７０％ＥｔＯＡｃ／CH_2Cl_2）が反応の完了を示した後，反応を無水ＭｅＯＨ（２０ｍｌ）で急冷した。冷１．５％酢酸または水中クエン酸（２Ｘ１０００ｍｌ）で，次に水性炭酸水素ナトリウム（１０００ｍｌ）で洗浄することによりピリジンおよびＤＭＡＰを除去した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し，濾過し，濾液を真空下で蒸発させた。トリフレートはさらに精製することなく用いた。

【０２８６】

５’，３’－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジン（５ａ，Ｒ＝アセチル）

アルゴン下で無水アセトニトリル（２００ｍｌ）中で０°Ｃで撹拌した５’，３’－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－Ｎ４－アセチルシトシン－２’－Ｏ－トリフレート（４，Ｒ＝アセチル）（粗生成物，２９．３４ｇ，４４．４５ｍｍｏｌ）およびフタルイミド（７．８５ｇ，５３．３４ｍｍｏｌ）の溶液に，ＤＢＵ（７．９６ｍｌ，５３．３４ｍｍｏｌ）をシリンジによりゆっくり加えた。ＤＢＵを加えるまで沈殿物は溶解せず，加えたとき，反応液は橙色／赤色に変化し，白色沈殿物が形成された。反応混合物を室温で２４時間撹拌し，このとき，ＴＬＣ（７０％ＥｔＯＡｃ／CH_2Cl_2）は反応の完了を示した。白色沈殿物を濾過し，アセトニトリル（７５ｍｌ）で３回洗浄した。濾液を合わせ，蒸発乾固させた。残渣を２００ｍｌのジクロロメタンに溶解し，炭酸水素ナトリウム（３ｘ１５０）で３回洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し，濾過し，蒸発乾固させた。得られた泡状物を酢酸エチルに溶解し，シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した。次に残渣をトルエン／ヘキサン（１：２）から結晶化して，所望の生成物を灰白色固体として得た。１８．００ｇ，６４．５％，２工程。

【０２８７】

主要な競合副反応（１０－１５％）は，１’と２’炭素との間に二重結合を有する除去生成物の形成である（例えば，図１２を参照）。

【０２８８】

２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジン（６ａ，Ｒ＝アセチル）

アルゴン下で無水ＴＨＦ中で０°Ｃで撹拌した５’，３’－Ｏ－テトライソプロピルジシ

ロキサン－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジン（５ａ，Ｒ＝アセチル）（２７．００ｇ，４１．１ｍｍｏｌ）の溶液に，ＴＥＡ・３ＨＦ（１４．７ｍｌ，９０．４１ｍｍｏｌ）をシリンジにより滴加した。反応混合物を室温で平衡化させ，４時間撹拌した。ＴＬＣ（２０％ＭｅＯＨ／CH_2Cl_2）は反応の完了を示し，溶媒を真空下で除去し，反応混合物をＴＨＦ（２００ｍｌ）で２回共蒸発させた。得られた白色／黄色固体を少量のメタノールを含むCH_2Cl_2から結晶化して，１５．０ｇ（８８％）の６ａ，Ｒ＝アセチルを得た。

【０２８９】

５’－Ｏ－ＤＭＴ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジン（７ａ，Ｒ＝アセチル）

２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジン（６ａ，Ｒ＝アセチル）（１４．７ｇ，３５．５ｍｍｏｌ）を無水ピリジンとともに２回共蒸発させ，次に無水ピリジンに溶解した。４’，４’－塩化ジメトキシトリチル（１５．６２ｇ，４６．１０ｍｍｏｌ）を，０（Ｃで反応混合物に加えた。０（Ｃで一夜撹拌した後，ＴＬＣ（５％ＥｔＯＨ／ＥｔＯＡｃ）は反応の完了を示した。反応を１０ｍｌの無水ＭｅＯＨで急冷し，溶媒を真空下で除去した。残渣をジクロロメタン（５００ｍｌ）に溶解し，炭酸水素ナトリウム（５００ｍｌ）で２回洗浄し，有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し，濾過し，蒸発乾固させた。残渣をトルエンから結晶化して，所望の生成物（７ａ，Ｒ＝アセチル）を白色結晶固体として得た。２３．８ｇ（９４％）。

【０２９０】

５’－Ｏ－ＤＭＴ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（８ａ，Ｒ＝アセチル）

アルゴン下で無水ジクロロメタン（３５０ｍｌ）中で０°Ｃで撹拌した５’－ＤＭＴ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチルシチジン（７ａ，Ｒ＝アセチル）（２６．００ｇ，３６．３５ｍｍｏｌ）の溶液に，ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，１７．７３ｍｌ，１０１．７７ｍｍｏｌ）および１－メチルイミダゾール（１２．９０ｍｌ，３６．３５ｍｍｏｌ）を加えた。塩化Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルアミノシアノエチルホスホルアミジン（１０．５３ｍｌ，４７．２６ｍｍｏｌ）を反応混合物に滴加した。室温で４時間後，ＴＬＣ（１００％ＥｔＯＡｃ）は反応の完了を示した。反応を無水ＭｅＯＨ（３ｍｌ）で急冷し，蒸発乾固させた。残渣を６０％－１００％ＥｔＯＡｃ／ヘキサンの勾配を用いてフラッシュクロマトグラフィーにより精製して，９５％の収率を得た。

【０２９１】

実施例２：５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－ウリジン３’－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（１６ａ）の合成，図４

５’，３’－Ｏ－（テトライソプロピルジシロキサン－１，３－ジ－イル）－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－ウラシル（１１）の合成

１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－ウラシル（１０）（２．４４ｇ，１０ｍｍｏｌ）を，無水ピリジンと２回共蒸発させることにより乾燥し，次に無水ピリジン中に再溶解した。上述の溶液を冷却し（０（Ｃ），１０ｍＬの無水ジクロロメタン中の１，３－ジクロロ－１，１，３，３－テトライソプロピルシロキサン（３．５２ｍＬ，１１．０ｍｍｏｌ）の溶液を，撹拌しながら滴加した。添加が完了した後，反応混合物を室温まで暖め，さらに２時間撹拌した。次に反応をＭｅＯＨ（１０ｍＬ）で急冷し，蒸発乾固させた。残渣をジクロロメタンに溶解し，飽和$NaHCO_3$およびブラインで洗浄し，Na_2SO_4で乾燥し，濾過した。有機層を蒸発乾固させ，次にトルエンと共蒸発させて，痕跡量のピリジンを除去して，４．８ｇ（９８％）の化合物（１１）を得，これをさらに精製することなく用いた。

【０２９２】

５’，３’－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－デオキシ－２’－トリフルオロ

メタンスルホニル－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－ウラシル（１２）
無水ジクロロメタン中の５’，３’－Ｏ－（テトライソプロピルジシロキサン－１，３－ジ－イル）－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－ウラシル（１１）（４ｇ，８．２ｍｍｏｌ）の撹拌氷冷溶液に，無水トリフルオロメタンスルホン酸（１．６６ｍＬ，９．８６ｍｍｏｌ）を加え，反応混合物を－５°Ｃで３０分間撹拌した。次に反応液をジクロロメタンで希釈し，冷１％水性酢酸で，次に飽和水性炭酸水素ナトリウムおよびブラインで洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し，濾過し，真空下で蒸発乾固させた。残渣はさらに精製することなく次の工程（実施例１０）で用いた。

【０２９３】

５’，３’－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－ウリジン（１３ａ）
表題化合物は，実施例１の５’，３’－テトライソプロピルジシロキシ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチル－シチジンと同様に製造した。収率＝６５－７０％。

【０２９４】

２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－ウリジン（１４ａ）
表題化合物は，実施例１の２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチル－シチジンと同様に製造した。収率＝９０％。

【０２９５】

５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－ウリジン（１５ａ）の合成
表題化合物は，実施例１の５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ４－アセチル－シチジンと同様に製造し，フラッシュクロマトグラフィーにより５％－１０％アセトン／ジクロロメタンの勾配を溶出液として用いて精製した。収率＝９０％。この精製は，トルエンおよびヘキサンからの結晶化で置き換えることができる。

【０２９６】

５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－ウリジン３’－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（１６ａ）の合成
表題化合物は，標準的なホスフィチル化方法（実施例１において化合物（９）について記載したとおり）にしたがって製造した。シリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィーにより，６０％－１００％ＥｔＯＡｃ／ヘキサンの勾配を溶出液として用いて精製した。収率＝８５％。

【０２９７】

実施例３：５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ６－ｔｅｒｔブチルベンゾイルアデノシン－３’－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（２５ａ，Ｒ＝ｔ－ＢｕＢｚ）の合成，図５
５’，３’－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－アデニン（１９）
１－β－Ｄ－アラビノフラノシル－アデニンＨＣｌ（１８）（５ｇ，１６．４６ｍｍｏｌ，Ｐｆａｎｓｔｉｅｈｌ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）を無水ピリジンから２回共蒸発させ，無水ピリジン（５０ｍｌ）に懸濁し，氷水中で０°Ｃに冷却した。１，３－ジクロロ－１，１，３，３－テトライソプロピルジシロキサン（６．６ｍｌ，２０．２３ｍｍｏｌ）を，冷撹拌ヌクレオシド溶液に加えた。添加が完了した後，反応混合物を室温まで暖め，さらに２時間撹拌した。次に反応を１ｍｌのエタノールで急冷した。溶媒を真空下で除去し，残渣をジクロロメタンに溶解し，飽和炭酸水素ナトリウム溶液で洗浄し，硫酸ナトリウムで乾燥し，濾過し，蒸発乾固させて，８．５ｇの（１９）を白色泡状物（８．５ｇ）として得た。生成物（１９）はさらに精製することなく用いた。

【０２９８】

５’，３’－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－トリフルオロメタンスルホニル

－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニン（２０）

無水ジクロロメタン中の（１９）の冷溶液（－１０°Ｃ）を塩化トリフルオロメタンスルホニル（１．５３ｍＬ，１４．４ｍｍｏｌ）で２０分間処理した。得られた溶液を無水ジクロロメタンで希釈し，冷（０°Ｃ）１％水性酢酸で，次に飽和水性$NaHCO_3$およびブラインで洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し，濾過し，蒸発乾固させて，誘導体（２０）を得，これをさらに精製することなく用いた。

【０２９９】

５’，３’－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－アデノシン（２１ａ）

ＤＢＵ（２．８ｍｌ，１８．７ｍｍｏｌ）を，無水アセトニトリル中の５’，３’－テトライソプロピルジシロキシ－１－β－Ｄ－アラビノフラノシルアデニン－２’－トリフレート（２０）（１０ｇ）およびフタルイミド（２．５２ｇ，１７．２ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に正のアルゴン圧の下で滴加した。混合物を室温で一夜撹拌した。次に反応混合物を蒸発乾固させ，ジクロロメタンに溶解し，飽和水性炭酸水素ナトリウム溶液およびブラインで洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し，濾過し，真空下で蒸発乾固させた。粗生成物をフラッシュクロマトグラフィーにより精製して，５．４ｇ（１８から５１％）の２’－Ｎ－フタロイル誘導体（２１ａ）を得た。

【０３００】

５’，３’－Ｏ－テトライソプロピルジシロキシ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ６－ｔｅｒｔ－ブチルベンゾイルアデノシン（２２ａ，Ｒ＝ｔ－ＢｕＢｚ）

２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル誘導体（２１ａ）（５．４ｇ，８．４５ｍｍｏｌ）を無水ピリジンに溶解し，塩化４－ｔｅｒｔ－ブチルベンゾイル（１．２当量）を０°Ｃで加え，反応混合物を室温で一夜放置した。次に反応液をメタノール（１０ｍＬ）で急冷し，溶媒を真空下で除去し，残渣をトルエンに溶解し，蒸発乾固させた。得られた油状物をジクロロメタンに溶解し，飽和水性$NaHCO_3$およびブラインで洗浄し，硫酸ナトリウムで乾燥し，濾過し，蒸発乾固させた。残渣をシリカ上のフラッシュクロマトグラフィーでＥｔＯＡｃ－ヘキサン（１：２）混合物を溶出液として用いて精製して，５．０６ｇ（７５％）の完全に保護されたシントン（２２ａ，Ｒ＝ｔ－ＢｕＢｚ）を得た。

【０３０１】

２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ６－ｔｅｒｔ－ブチルベンゾイルアデノシン（２３ａ）の合成

５’，３’－テトライソプロピルジシロキシ－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ２－ｔｅｒｔ－ブチルベンゾイルアデノシン（２２ａ，Ｒ＝ｔ－ＢｕＢｚ）（２．４ｇ，３．０ｍｍｏｌ）を５０ｍｌの無水ＴＨＦに溶解した。トリエチルアンモニウムフッ化水素酸塩（１．４７ｍｌ，９．０ｍｍｏｌ）を加え，反応混合物を室温で一夜撹拌した。次に，撹拌しながら炭酸水素ナトリウム溶液を加えて反応を急冷し，塩化メチレンで抽出し，硫酸ナトリウムで乾燥し，濾過し，真空下で蒸発乾固させた。この物質をフラッシュクロマトグラフィーにより精製して，１．５２ｇ（９１％）の２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ２－ｔｅｒｔ－ブチルベンゾイルアデノシン（２３ａ，Ｒ＝ｔ－ＢｕＢｚ）を得た。

【０３０２】

５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ６－ｔｅｒｔ－ブチルベンゾイルアデノシン（２４ａ，Ｒ＝ｔ－ＢｕＢｚ）の合成　表題化合物は，標準的なジメトキシトリチル化方法（実施例１において記載したとおり）を用いて製造した。収率９０％。

【０３０３】

５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル－Ｎ６－ｔｅｒｔ－ブチルベンゾイルアデノシン－３’－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（２５ａ，Ｒ＝ｔ－ＢｕＢｚ）

表題化合物は，標準的なホスフィチル化方法（実施例１において化合物９について記載し

たとおり）にしたがって製造した。シリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィーにより，溶出液として６０％－１００％ＥｔＯＡｃ／ヘキサンの勾配を用いて精製して，（２５ａ），Ｒ＝ｔ－ＢｕＢｚを得た。収率９５％。

【０３０４】

実施例４：５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（４３）の合成，図７

５’，３’－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジン（４０）

ＤＭＦ（２０ｍｌ）中のシチジン（３８）（２．４３ｇ，１０ｍｍｏｌ）の懸濁液を，０°Ｃでメタンスルホン酸（０．７１ｍｌ，１１ｍｍｏｌ）で処理した。ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルジトリフレート（３．６ｍｌ，１１ｍｍｏｌ）を得られた溶液に加え，反応液を０°Ｃで３０分間撹拌した。次にイミダゾール（４．０８ｇ，６０ｍｍｏｌ）を加え，反応混合物を室温で３０分間撹拌した。塩化Ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル（１．８１ｇ，１２ｍｍｏｌ）を加え，得られた反応混合物を６０°Ｃで２時間加熱し，室温に冷却し，溶媒を真空下で除去した。残渣をジクロロメタンと水との間に分配した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し，濾過し，蒸発させて，粗生成物（３９）を黄色がかった油状物として得た。粗生成物（３９）を乾燥クロロホルム（２０ｍｌ）に溶解し，次に，ピリジン（２．５ｍｌ）および無水酢酸（１．４２ｍｌ，１５ｍｍｏｌ）を加えた。室温で一夜反応を進行させ，クロロホルム（２５ｍｌ）で希釈し，水で，次に炭酸水素ナトリウムで洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し，濾過し，溶媒を真空下で除去した。残渣を酢酸エチルから結晶化して，（４０）を無色結晶として得た。４．１２ｇ，収率７６％。

【０３０５】

５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジン（４２）

フッ化水素－ピリジン（Ａｌｄｒｉｃｈ，０．２ｍｌ，８ｍｍｏｌ）を冷却しながら注意深くピリジン（１．２ｍｌ）で希釈した。得られた溶液を，ジクロロメタン（１０ｍｌ）中の（４０）（１．０８ｇ，２ｍｍｏｌ）の０°Ｃの撹拌懸濁液にゆっくり加えた。０（Ｃで２時間反応を進行させた。反応混合物をジクロロメタンで希釈し，水，次に飽和炭酸水素ナトリウム溶液で希釈した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し，濾過し，蒸発させて，０．８６ｇの粗生成物（４１）を白色結晶として得た。これをピリジン（５ｍｌ）に溶解し，塩化ジメトキシトリチル（０．７４ｇ，２．２ｍｍｏｌ）で０°Ｃで処理した。反応混合物を０°Ｃで一夜保存し，無水メタノール（０．２ｍｌ）で急冷し，真空下で蒸発させた。残渣をジクロロメタンと水との間に分配した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム溶液で洗浄し，硫酸マグネシウムで乾燥し，濾過し，溶媒を真空下で除去した。フラッシュクロマトグラフィー（勾配４０－６０％アセトン－ヘキサン）により，（４２）を白色泡状物として得た。１．１ｇ，７８％。

【０３０６】

５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジン３’－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピル（シアノエチル）ホスホルアミダイト（４３）

化合物（４３）は，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイト（２．５当量），Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（４当量）および１－メチルイミダゾール（０．５当量）を用いて，標準的なホスフィチル化方法（実施例１において化合物９について記載したとおり）により，白色泡状物として得た。収率８４％。

【０３０７】

実施例５：５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルウリジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（４８）の合成，図８

５’，３’－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルウリジン（４５）

ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルジトリフレート（１．８ｍｌ，５．５ｍｍｏｌ）を，ＤＭＦ（１０ｍｌ）中のウリジン（４４）（１．２２ｇ，５ｍｍｏｌ）の溶液に加え，反応液を０°Ｃで３０分間撹拌した。イミダゾール（１．７ｇ，２５ｍｍｏｌ）を加え，反応混合物を室温で３０分間撹拌し，次に塩化ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル（０．９ｇ，６ｍｍｏｌ）で処理した。６０°Ｃで２時間撹拌した後，溶媒を真空下で除去し，残渣をジクロロメタンと水との間に分配した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し，濾過し，蒸発させた。残渣をアセトニトリルから結晶化して，（４５）を白色結晶として得た。１．９４ｇ，収率７７．９％。

【０３０８】

５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルウリジン（４７）

フッ化水素－ピリジン（Ａｌｄｒｉｃｈ，０．１ｍｌ，４ｍｍｏｌ）を冷却しながら注意深くピリジン（０．６ｍｌ）で希釈した。得られた溶液をジクロロメタン（５ｍｌ）中の（４５）（０．５ｇ，１ｍｍｏｌ）の０°Ｃの撹拌溶液にゆっくり加え，０°Ｃで１時間反応を進行させた。次に，反応混合物をジクロロメタンで希釈し，水で，次に飽和炭酸水素ナトリウム溶液で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し，濾過し，蒸発させて，粗生成物（４６）を白色結晶として得た。これをピリジン（３ｍｌ）に溶解し，塩化ジメトキシトリチル（０．３７ｇ，１．１ｍｍｏｌ）で０（Ｃで処理した。反応混合物を０°Ｃで一夜保存し，無水メタノール（０．２ｍｌ）で急冷し，真空下で蒸発させた。残渣をジクロロメタンと水との間に分配した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム溶液で洗浄し，硫酸マグネシウムで乾燥し，濾過し，溶媒を真空下で除去した。フラッシュクロマトグラフィー（勾配２０－４０％酢酸エチル－ヘキサン）により（４７）を黄色がかった泡状物として得た。０．６ｇ，９０．９％。

【０３０９】

５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジン３’－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピル（シアノエチル）ホスホルアミダイト（４８）

化合物（４８）は，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイト（２．５当量），Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（４当量）および１－メチルイミダゾール（０．５当量）を用いて，標準的なホスフィチル化方法（実施例１において化合物９について記載したとおり）により，灰白色泡状物として得た。収率８３％。

【０３１０】

実施例６：５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（５４）の合成，図９

５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルアデノシン（５０）

ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルジトリフレート（３．６ｍｌ，１１ｍｍｏｌ）を，無水ＤＭＦ（８０ｍｌ）中のアデノシン（１０．６９ｇ，４０ｍｍｏｌ）の撹拌懸濁液に０°Ｃで１５分間かけて滴加した。得られた溶液を０°Ｃで３０分間撹拌し，次にイミダゾール（１３．６ｇ，２００ｍｍｏｌ）を一度に加えた。混合物を０°Ｃで５分間，次に室温で２５分間撹拌した。得られた懸濁液をｔｅｒｔ－ブチルジメチルクロロシラン（７．２４ｇ，４８ｍｍｏｌ）で処理した。６０°Ｃで２時間反応を進行させた。約４５分後に沈殿物が消失し，１時間後に（５０）の結晶が形成された。化合物（５０）を濾過により回収し，冷アセトニトリルで洗浄し，次に真空下で乾燥した。収量１７．８９ｇ（８５．７％）。

【０３１１】

５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメ

チルシリル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシン（５１）

塩化ベンゾイル（８ｍｌ，６８．８６ｍｍｏｌ）を，無水ピリジン（１００ｍｌ）中の（５０）（１７．８９ｇ，３４．２８ｍｍｏｌ）の撹拌懸濁液に０°Ｃで滴加した。５分後，反応液を室温に暖め，２．５時間撹拌した。混合物を０°Ｃに冷却した後，撹拌しながらモルホリン（１２ｍｌ，１３７．９ｍｍｏｌ）をゆっくり加えた。０°Ｃで４５分後，反応混合物を蒸発させ，残渣を塩化メチレンと水との間に分配した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し，真空下で蒸発させた。アセトニトリル（１００ｍｌ）から結晶化して，（５１）を結晶物質として得た。収量１６．４７ｇ（７６．８％）。

【０３１２】

５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシン（５３）

フッ化水素－ピリジン（Ａｌｄｒｉｃｈ，２．７ｍｌ，１０５．３ｍｍｏｌ）を，ピリジン（１７ｍｌ）で注意深く希釈した。得られた溶液を，無水塩化メチレン（１３０ｍｌ）中の５１（１６．４７ｇ，２６．３ｍｍｏｌ）の撹拌溶液にゆっくり加え，０°Ｃで１時間反応を進行させた。次に反応混合物を水で，次に飽和炭酸水素ナトリウム溶液で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し，濾過し，真空下で蒸発させた。この物質のピリジン（５０ｍｌ）中の溶液に，塩化ジメトキシトリチル（９．８ｇ，２８．９３ｍｍｏｌ）を加え，反応混合物を０°Ｃで一夜撹拌した。次に無水メタノール（０．２５ｍｌ）を加えて反応を急冷し，真空下で蒸発させた。得られた残渣を塩化メチレンと水との間に分配した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム溶液で洗浄し，硫酸マグネシウムで乾燥し，濾過し，真空下で蒸発させた。シリカ上のフラッシュクロマトグラフィーにより，酢酸エチル／ヘキサン勾配（３０－５０％）を用いて，（５３）を白色泡状物として得た。収量１９．２ｇ（９４．８％）。

【０３１３】

５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシン３’－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピル（シアノエチル）ホスホルアミダイト（５４）

化合物（５４）は，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイト（２．５当量），Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（４当量）および１－メチルイミダゾール（０．５当量）を用いて，標準的なホスフィチル化方法（実施例１において化合物９について記載したとおり）により，白色泡状物として得た。収率８５％。

【０３１４】

実施例７：５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（６０）の合成，図１０

５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルグアノシン（５６）

無水グアノシン（５５，１１．３３ｇ，４０ｍｍｏｌ，一水和物を真空下で１００（Ｃで７時間乾燥することにより製造）を無水ＤＭＦ（８０ｍｌ）に懸濁し，０°Ｃで撹拌しながらジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルジトリフレート（１４．３ｍｌ，４４ｍｍｏｌ）を１５分間かけて滴加した。得られた溶液を０°Ｃで３０分間撹拌し，次にイミダゾール（１３．６ｇ，２００ｍｍｏｌ）を加えた。反応混合物を０°Ｃで５分間，次に室温で２５分間撹拌した。Ｔｅｒｔ－ブチルジメチルクロロシラン（７．２４ｇ，４８ｍｍｏｌ）を加え，反応を６０°Ｃで２時間進行させた。得られた（５６）の沈殿物を濾過により分離し，冷メタノールで洗浄し，真空下で乾燥した。収量１８．８１ｇ（８７．４％）。

【０３１５】

５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイルエノ－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン（５７）

塩化イソブチリル（１０．４ｍｌ，１００ｍｍｏｌ）を，０°Ｃで，無水塩化メチレン（１００ｍｌ）およびピリジン（３０ｍｌ）中の（５６）（２６．８９ｇ，５０ｍｍｏｌ）

の撹拌懸濁液に滴加した。室温で３時間反応させ，メタノール（４０ｍｌ）で希釈し，氷浴中で冷却した。メチルアミンのエタノール性溶液（８Ｍ，２５ｍｌ，２００ｍｍｏｌ）を反応混合物にゆっくり加えた。３０分後，反応混合物を蒸発させて，スラリーを得，これをメタノール（１００ｍｌ）で希釈し，０°Ｃで２時間放置した。得られた沈殿物を濾過し，冷メタノールで洗浄し，真空下で乾燥して，２９．２６ｇ（９６．２％）の化合物（５７）を得た。

【０３１６】

５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン（５９）

フッ化水素－ピリジン（Ａｌｄｒｉｃｈ，４ｍｌ，１５４ｍｍｏｌ）を，冷却しながらピリジン（２５ｍｌ）で注意深く希釈した。得られた溶液を，無水塩化メチレン（２００ｍｌ）中の（５７）（２４．３６ｇ，４０ｍｍｏｌ）の撹拌懸濁液に０°Ｃでゆっくり加え，０°Ｃで２時間反応を進行させた。得られた溶液を水で，次に飽和炭酸水素ナトリウム溶液で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し，濾過し，蒸発させて，粗生成物（５８）を半晶質物質として得た。これをピリジン（８０ｍｌ）に溶解し，塩化ジメトキシトリチル（１４．９１ｇ，４４ｍｍｏｌ）を０°Ｃで加えた。反応混合物を０°Ｃで一夜保存し，無水メタノール（０．５ｍｌ）で急冷し，真空下で蒸発させた。得られた残渣を塩化メチレンと水との間に分配した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム溶液で洗浄し，硫酸マグネシウムで乾燥し，濾過し，濃縮して，粗生成物（５９）を得，これをジクロロメタン（２０ｍｌ）およびエーテル（２００ｍｌ）から再結晶して，化合物（５９）を白色細粉末として得た。収率２４．１６ｇ（７８．４％）。

【０３１７】

５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（６０）

化合物６０は，２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルクロロホスホルアミダイト（２．５当量），Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（４当量）および１－メチルイミダゾール（０．５当量）を用いて，標準的なホスフィチル化方法（実施例１において化合物９について記載したとおり）により，白色泡状物として得た。収率８６％。

【０３１８】

実施例８：５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－メチル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（６９）の合成，図１１

２，６－ジアミノ－９－（３’，５’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－β－Ｄ－リボフラノシル）プリン（６２）

ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルビス（トリフルオロメタンスルホネート）（１７．８ｍｌ，５５ｍｍｏｌ）を，１００ｍｌ無水ＤＭＦ中の２，６－ジアミノプリンリボシド（６１）（１４．１１ｇ，５０ｍｍｏｌ）の撹拌懸濁液に０°Ｃでゆっくり加えた。得られた溶液を０°Ｃで３０分間撹拌し，次にイミダゾール（８．１６ｇ，１２０ｍｍｏｌ）を加えた。０°Ｃで５分間，次に室温で３０分間反応を進行させた。溶液を真空下で濃縮してスラリーとし，これをメタノール（１２０ｍｌ）で希釈した。化合物（６２）を濾過により回収し，冷メタノールで洗浄し，次に真空下で６０°Ｃで乾燥した。収量１７．２ｇ（８３．８％）。

【０３１９】

２，６－ジアミノ－９－（３’，５’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－メチル－β－Ｄ－リボフラノシル）プリン（６３）

無水ＤＭＦ（４０ｍｌ）中の（６２）（２．１１ｇ，５ｍｍｏｌ）の－２０°Ｃの撹拌溶液に，ヨウ化メチル（０．９３ｍｌ，１５ｍｍｏｌ）を加え，次に水素化ナトリウムを６０％ミネラルオイル懸濁液（０．３ｇ，７．５ｍｍｏｌ）として加えた。反応混合物を－２０°Ｃで１．５時間撹拌し，塩化アンモニウム（１．５ｇ）で急冷した。得られた懸濁

液をクロロホルム（７５ｍｌ）と水（５０ｍｌ）との間に分配した。水性層を追加のクロロホルムで洗浄した。合わせたクロロホルム抽出物を５０ｍｌの水で洗浄し，水性層をクロロホルムで逆抽出した。得られた有機溶液を硫酸マグネシウムで乾燥し，濾過し，溶媒を真空下で除去した。ジクロロメタン－ヘキサン混合物（１：１）から結晶化して，（６３）を無色結晶として得た。収量１．９２ｇ（８８％）。

【０３２０】

２，６－ジアミノ－Ｎ２，Ｎ６－ジ－イソブチリル－９－（３’，５’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－メチル－β－Ｄ－リボフラノシル）プリン（６４）

無水ピリジン（１０ｍｌ）中の（６３）（１．７５ｇ，４ｍｍｏｌ）の撹拌懸濁液に，０°Ｃで塩化イソブチリル（１．０４ｍｌ，２．５ｍｍｏｌ）を加えた。反応混合物を室温で２時間撹拌し，メタノール（０．５ｍｌ）で急冷し，真空下で蒸発させた。得られた残渣を塩化メチレンと水との間に分配した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウムで洗浄し，硫酸ナトリウムで乾燥し，濾過し，溶媒を真空下で除去した。アセトニトリルから結晶化して，１．９５ｇの（６４）を白色結晶として得た。収率８４．８％。

【０３２１】

２，６－ジアミノ－Ｎ２－イソブチリル－９－（３’，５’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－メチル－β－Ｄ－リボフラノシル）プリン（６５）

メタノール（５ｍｌ）およびトリエチルアミン（０．３ｍｌ）中の（６４）（１．１５ｇ，２ｍｍｏｌ）の溶液を室温で２４時間保存した。次に得られた沈殿物（６５）を濾過し，冷メタノールで洗浄し，真空下で乾燥した。収量０．９ｇ（８９％）。

【０３２２】

５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－メチル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン（６６）

酢酸（５ｍｌ），ＴＨＦ（５ｍｌ），ジクロロメタン（３ｍｌ）および水（１ｍｌ）の撹拌混合物中の（６５）（０．７６ｇ，１．５ｍｍｏｌ）の溶液に，亜硝酸ナトリウム（０．８３ｇ）を加えた。３時間後，追加の亜硝酸ナトリウムを加え，撹拌した反応混合物を室温で４８時間保存した。次に反応混合物を水とジクロロメタンとの間に分配し，有機層を飽和炭酸水素ナトリウム溶液で洗浄し，硫酸マグネシウムで乾燥し，濾過し，真空下で濃縮した。酢酸エチルから結晶化して，（６６）を僅かに黄色の結晶として得た。０．６５ｇ，収率８５％。

【０３２３】

２’－Ｏ－メチル－Ｎ２－イソブチリル－グアノシン（６７）

無水ジクロロメタン（５ｍｌ）中の（６６）（０．５１ｇ，１ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に，ピリジン（０．５ｍｌ）を，次にフッ化水素－ピリジン（３８．５Ｍ，０．１ｍｌ）を加えた。１５分後，溶媒を真空下で除去した。５－１０％メタノール／ジクロロメタンの勾配を用いるフラッシュクロマトグラフィーにより，（６７）を白色泡状物として得た。０．３４ｇ，収率９３％。

【０３２４】

５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－メチル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン（６８）

化合物（６８）は，標準的なジメトキシトリチル化方法（実施例１において記載したとおり）を用いて製造した。

【０３２５】

５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－メチル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（６９）

化合物（６９）は，標準的なホスフィチル化方法（実施例１において化合物９について記載したとおり）にしたがって製造した。シリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィーにより６０％－１００％のＥｔＯＡｃ／ヘキサンの勾配を溶出液として用いて精製し，真空下で蒸発させた後に，（６９）を白色泡状物として得た。

【０３２６】

実施例９：２’－Ｏ－メチル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシン（７５）の合成（図１３）

５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイルアデノシン（７２）

ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシリルジトリフレート（５０ｇ，１１３ｍｍｏｌ）を，ＤＭＦ（２００ｍｌ）中のアデノシン（７１）（２７．５ｇ，１０３ｍｍｏｌ）の撹拌懸濁液に０（Ｃで３０分間かけて滴加した。得られた溶液を０（Ｃで３０分間撹拌し，次にイミダゾール（１６．２ｇ，２３７ｍｍｏｌ）を一度に加えた。混合物を０（Ｃで４５分間撹拌し，（７２）の沈殿物を濾別し，メタノールで洗浄し，真空下で乾燥して，３１ｇの（７２）を白色細粉末として得た。母液を蒸発させ，残渣をメタノール中で砕いて，第２取得分の（７２）を得た。４．９ｇ。（７２）の合わせた収量は３５．９ｇ（８５．５％）であった。

【０３２７】

５’，３’－Ｏ－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルシランジイル－２’－Ｏ－メチルアデノシン（７３）

化合物（７２）（３５．９ｇ，８８．１ｍｍｏｌ）を１－メチル－２－ピロリジノン（６０ｍｌ）およびＤＭＦ（２４０ｍｌ）の混合物に８０（Ｃで溶解した。得られた溶液を－３５（Ｃに冷却し，硫酸ジメチル（２０．９ｍｌ，２２０．４ｍｍｏｌ）を加えた。水素化ナトリウム（５．９９ｇ，６０％懸濁液，ミネラルオイル中，１４９．８ｍｍｏｌ）を約７５ｍｌのトルエンで洗浄し，次にトルエンに懸濁した（約１５ｍｌ）。得られた懸濁液をシリンジを用いて撹拌しながら反応混合物に滴加した。ほぼすべての出発物質が消費されるまで－３５（Ｃで反応を進行させた（約４時間）。メタノール（２００ｍｌ），次に水（１００ｍｌ）を注意深く加えることにより反応を急冷した。得られた懸濁液を－２０から－３０（Ｃで３０分間撹拌した。（７３）の沈殿物を濾別し，フィルターベッド上でメタノールで２回洗浄し，次に真空下で乾燥して，約８５％の純度を有する２８．１ｇの粗生成物（７３）を得た。収率６０－６５％。

【０３２８】

２’－Ｏ－Ｍｅ－Ｎ６－ベンゾイルアデノシン（７５）

１７０ｍｌのピリジン中の粗生成物（７３）（２８．１ｇ，約５６ｍｍｏｌ）の懸濁液を０（Ｃで塩化ベンゾイル（１３ｍｌ，１１２ｍｍｏｌ）で処理し，反応液を室温で一夜撹拌した。モルホリン（２０．５ｍｌ，２５６ｍｍｏｌ）を０（Ｃで反応混合物に加え，混合物を０（Ｃで１．５時間撹拌し，次に真空下で濃縮した。残渣をジクロロメタンと水との間に分配した。有機層をさらに水で洗浄し，硫酸マグネシウムで乾燥し，濃縮して，粗生成物（７４）を無色泡状物として得た。後者をジクロロメタン（２１０ｍｌ）およびピリジン（１８ｍｌ）に溶解し，０（Ｃに冷却し，フッ化水素－ピリジン（Ａｌｄｒｉｃｈ，７０％，３．３ｍｌ，１２７ｍｍｏｌ）で処理した。混合物を０（Ｃで２時間撹拌し，得られた沈殿物を濾別し，ジクロロメタンで洗浄して，１９．０ｇの粗生成物（７５）を得た。母液を蒸発させ，残渣をアセトン（２０ｍｌ）およびメタノール（３ｍｌ）の混合物から結晶化して，第２取得分の粗生成物（７５）を得た。３．１ｇ。すべての粗生成物（７５）（２２．１ｇ）をメタノール（６０ｍｌ）から再結晶して，１５．９ｇの純粋な（７５）を得た。アデノシン（７１）出発物質に基づく合計収率は４０．１％であった。

【０３２９】

実施例１０：１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール誘導体の合成（図１５）

５－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール（８５ａ）

メタンスルホン酸（０．６５ｍｌ，１０ｍｍｏｌ）を３０ｍｌのＨＭＤＳに滴加し，得られた懸濁液を均一になるまでアルゴン雰囲気下で還流した（約４５分間）。得られた溶液に５’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルチミジン（８２ａ，３．５６ｇ，１０ｍｍｏｌ）を加え，混合物を３時間加熱還流した。この８３ａの反応溶液を室温にし，水素化フラスコに移し，Ｐｄ／Ｃ（１０％，０．３ｇ）で３５ｐｓｉの水素圧で室温で１時間水素化した。触媒を濾別し，濾液を蒸発させ，残渣を３５ｍｌのジクロロメタンに溶解した

。得られた溶液をリン酸ナトリウム一塩基（１５％，１５ｍｌ）の撹拌溶液にゆっくり加えた。混合物を１５分間激しく撹拌し，２ｇのセライトで処理し，チミンをセライトとともに濾別した。有機相を分離し，飽和炭酸水素ナトリウムで洗浄し，硫酸ナトリウムで乾燥し，蒸発乾固させた。粗生成物８４ａをメタノール（２０ｍｌ）に溶解し，溶液にピリジニウムトリフルオロ酢酸（０．１ｇ，０．５ｍｍｏｌ）を加えた。３０分後，メタノールを除去し，粗生成物８５ａをシリカゲルで２０－３０％酢酸エチル／ヘキサンの勾配を用いてカラムクロマトグラフィーにより精製して，１．８ｇ（７７．６％）の純粋な８５ａをわずかに黄色の油状物として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$）δ：４．４０（ｍ，１Ｈ，Ｈ３），４．０２（ｄｄ，２Ｈ，$J_{1a,1b}$＝８．２Ｈｚ，$J_{1,2}$＝５．４Ｈｚ，Ｈ１ａ，Ｈ１ｂ），３．８４（ｍ，２Ｈ，Ｈ４，Ｈ５ａ），３．６１（ｄｄ，１Ｈ，$J_{5a,5b}$＝１１．６Ｈｚ，$J_{5,4}$＝７．６Ｈｚ，Ｈ５ｂ），２．２４（ｍ，１Ｈ，Ｈ２ａ），１．９８（ｍ，１Ｈ，Ｈ２ｂ），１．９６（ｍ，１Ｈ，ＯＨ），０．９８（ｓ，９Ｈ，ｔ－Ｂｕ），０．１５（ｓ，６Ｈ，Ｍｅ）。異なる触媒を使用した８２から８３への変換は表ＩＩに示される。

【０３３０】

３－Ｏ－ジメトキシトリチル－５－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール（８６ａ）

５’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルチミジン（８２ａ，２８．５２ｇ，８０ｍｍｏｌ）を上述したように粗生成物８５ａに変換した。このようにして製造した粗生成物８５ａをピリジン（１００ｍｌ）と共蒸発させ，次にピリジン（８０ｍｌ）に溶解した。塩化ジメトキシトリチル（２４．４ｇ，７２ｍｍｏｌ）およびジメチルアミノピリジン（１ｇ，８．２ｍｍｏｌ）を加え，室温で一夜反応を進行させた。減圧下で濃縮した後，混合物をジクロロメタンと水との間に分配した。有機相を分離し，飽和炭酸水素ナトリウムで洗浄し，硫酸ナトリウムで乾燥し，蒸発させて，茶色残渣を得た。残渣をシリカゲルのカラムクロマトグラフィーで５－１０％酢酸エチル－ヘキサンの勾配を用いて精製して，８６ａを黄色がかった油状物として得た。収量２９．８ｇ（６９．６％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$）δ：７．４３（ｍ，９Ｈ，Ｐｈ），６．９２（ｍ，４Ｈ，Ｐｈ），４．２１（ｍ，１Ｈ，Ｈ３），４．０２（ｍ，１Ｈ，Ｈ４），３．９６（ｍ，２Ｈ，Ｈ１ａ，Ｈ１ｂ），３．８８（ｓ，６Ｈ，ＯＣＨ$_{3}$），３．５４（ｄｄ，１Ｈ，$J_{5a,5b}$＝１１．１Ｈｚ，$J_{5a,4}$＝３．２Ｈｚ，Ｈ５ａ），３．３８（ｄｄ，１Ｈ，$J_{5b,5a}$＝１１．１Ｈｚ，$J_{5b,4}$＝４．４Ｈｚ，Ｈ５ｂ），１．５４（ｍ，１Ｈ，Ｈ２ａ），１．３２（ｍ，１Ｈ，Ｈ２ｂ），０．８９（ｓ，９Ｈ，ｔ－Ｂｕ），０．０４（ｓ，３Ｈ，Ｍｅ），０．０２（ｓ，３Ｈ，Ｍｅ）。

【０３３１】

３－Ｏ－ジメトキシトリチル－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール（８７）

水酸化ナトリウム（１０Ｎ溶液，９ｍｌ）を，エタノール（１２０ｍｌ）中の８６ａ（１６．２ｇ，２９．６ｍｍｏｌ）の溶液に加え，反応混合物を６時間還流した。室温に冷却した後，反応混合物を減圧下で蒸発させ，ジクロロメタンと水との間に分配した。有機層を水で，次にリン酸ナトリウム一塩基溶液（１５％）で洗浄し，硫酸ナトリウムで乾燥し，蒸発させた。残渣をシリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィーで４０－６０％酢酸エチル－ヘキサンの勾配を用いて精製して，１１．６ｇ（９３．２％）の８７を白色泡状物として得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（ＤＭＳＯ－ｄ６）δ：７．３６（ｍ，９Ｈ，Ｐｈ），６．９６（ｍ，４Ｈ，Ｐｈ），４．５２（ｔ，１Ｈ，$J_{OH,5}$＝５．６Ｈｚ，ＯＨ），４．１０（ｍ，１Ｈ，Ｈ３），３．８１（ｓ，６Ｈ，ＯＣＨ$_{3}$），３．７５（ｍ，３Ｈ，Ｈ１ａ，Ｈ１ｂ，Ｈ４），３．１８（ｍ，１Ｈ，Ｈ５ａ），３．１３（ｍ，１Ｈ，Ｈ５ｂ），１．４８（ｍ，１Ｈ，Ｈ２ａ），１．１９（ｍ，１Ｈ，Ｈ２ｂ）。

【０３３２】

３－Ｏ－ジメトキシトリチル－１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール－５－スクシネート，トリエチルアンモニウム塩（８８）

無水コハク酸（３．０７ｇ，３０．７ｍｍｏｌ）およびＤＭＡＰ（０．３４ｇ，２．８ｍｍｏｌ）を，ピリジン（３０ｍｌ）中の８７（１１．６ｇ，２７．６ｍｍｏｌ）の溶液に加え，４０（Ｃで一夜反応を進行させた。減圧下で濃縮した後，残渣を酢酸エチルと水との間に分配した。有機層を分離し，冷１０％クエン酸で，次に水で洗浄し，硫酸マグネシウムで乾燥し，蒸発させた。残渣をジクロロメタン（６０ｍｌ）に溶解し，トリエチルアミン（５．８ｍｌ，４１．４ｍｍｏｌ）で処理し，混合物を，ジクロロメタン中２％ＭｅＯＨおよび２％トリエチルアミンの混合物で予め平衡化したシリカゲルカラムに負荷した。ジクロロメタン中３－１０％メタノールおよび０．５％トリエチルアミンの混合物で溶出した後，適当な画分を合わせ，蒸発させ，真空下で一夜乾燥して，８８を白色泡状物として得た。収量１４．９ｇ，８７％。^{1}Ｈ ＮＭＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$）δ：７．４０（ｍ，９Ｈ，Ｐｈ），６．９２（ｍ，４Ｈ，Ｐｈ），４．１６（ｍ，１Ｈ，Ｈ３），３．９８（ｍ，４Ｈ，Ｈ１ａ，Ｈ１ｂ，Ｈ４，Ｈ５ａ），３．８７（ｓ，６Ｈ，ＯＣＨ$_{3}$），３．６５（ｍ，１Ｈ，Ｈ５ｂ），３．０４（ｑ，６Ｈ，ＣＨ$_{3}$－ＣＨ$_{2}$－Ｎ），２．５８（ｍ，４Ｈ，ＣＯ－ＣＨ$_{2}$－ＣＨ$_{2}$－ＣＯ），１．６３（ｍ，１Ｈ，Ｈ２ａ），１．５３（ｍ，１Ｈ，Ｈ２ｂ），１．２７（ｔ，９Ｈ，ＣＨ$_{3}$－ＣＨ$_{2}$－Ｎ）。

【０３３３】

実施例１１：置換フタルイミドヌクレオシド

化合物５ｂ－ｅ（図３）は，それぞれ化合物４ｂ－ｅから，図３に示される条件下で合成した。４種類のシチジン５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－デオキシ－２’－フタルイミド（化合物７ｂ－ｅ，図３）を，異なる条件下で（４０％水性メチルアミン，メタノール性メチルアミン，およびメタノール性メチルアミンおよび１０％水），５’－Ｏ－ＤＭＴ－２’－アミノシチジンに変換した。すべての場合において，室温で２－３時間後に，薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）により判定して，５’－ＤＭＴ－２’－デオキシ－２’－アミノシチジンの形成において完全なフタロイル脱保護が認められた（表１を参照）。

【０３３４】

表１：種々のフタルイミドを用いるトリフレートの置換

【表１】

化合物	反応条件	3からのフタルイミド誘導体の収率	除去の収率
5a	60°C, 3h, 次にRt 一夜	60	10-20
5b	RT, 20h	56	10-20
5c	70-80°C, 3h	70	痕跡量
5d	RT, 20h	40	20
5e	RT, 20h	35	20

ＲＴ： 室温，ｈ：時間

【０３３５】

表２：種々の触媒を用いるチミジン誘導体の脱ピリミジン化

【表２】

出発物質 (mmol 量)	脱ピリミジン化触媒 (当量)	生成物	収量	
			g	%
76 a (10)	H_2SO_4 (0.1 当量)	81 a	1.61	69.3
76 a (10)	p-TsOH (0.3 当量)	81 a	1.72	74.0
76 a (10)	$(NH_4)_2SO_4$ (0.37 当量)	81 a	1.44	62.1
76 b (10)	MsOH (1 当量)	81 b	1.88	68.4
76 c (10)	MsOH (1 当量)	81 c	2.34	65.7

【０３３６】
これらの実施例は非限定的であることを意味し，当業者は，本発明において記載されるものと類似の戦略を他のヌクレオシドおよびヌクレオシド類似体，例えば，他の２’デオキシ－２’－Ｎ－フタロイル，２’－デオキシ－２’－アミノ，２’－Ｏ－メチル，ＬおよびＤリボヌクレオシド，Ｃ－ヌクレオシド，ヌクレオシド類似体およびＣ－ヌクレオシド類似体の合成に容易に適合させることができ，これらも本発明の範囲内であることを理解するであろう。

【０３３７】
本明細書において言及されるすべての特許および刊行物は，本発明の属する技術分野の技術者のレベルを示す。本明細書において引用されるすべての参考文献は，それぞれの参考文献が個々にその全体が本明細書の一部としてここに引用されることと同じ程度に，本明細書の一部として引用される。

【０３３８】
当業者は，本発明が，その目的を実施し，記載される結果および利点，ならびに本明細書に固有のものを得るためによく適合していることを容易に理解するであろう。本明細書に記載される方法および組成物は，現在のところ好ましい態様の代表的なものであり，例示的なものであって，本発明の範囲を限定することを意図するものではない。当業者は，特許請求の範囲において定義される本発明の精神の中に包含される変更および他の用途をなすであろう。

【０３３９】
当業者は，本発明の範囲および精神から逸脱することなく，本明細書に開示される本発明に対して種々の置換および改変をなすことが可能であることを容易に理解するであろう。すなわち，そのような追加の態様は，本発明および特許請求の範囲の範囲内である。

【０３４０】
本明細書に例示的に記載されている発明は，本明細書に特定的に開示されていない任意の要素または限定なしでも適切に実施することができる。本明細書において用いられる用語および表現は，説明の用語として用いるものであり，限定ではない。そのような用語および表現の使用においては，示されかつ記載されている特徴またはその一部の等価物を排除することを意図するものではなく，特許請求の範囲に記載される本発明の範囲中で種々の変更が可能であることが理解される。すなわち，好ましい態様および任意の特徴により本発明を特定的に開示してきたが，当業者には本明細書に記載される概念の変更および変種が可能であり，そのような変更および変種も，明細書および特許請求の範囲に定義される本発明の範囲内であると考えられることが理解されるべきである。

【０３４１】
さらに，発明の特徴および観点がマーカッシュグループまたは他の代替グループの用語で記載されている場合，当業者は，本発明が，マーカッシュグループまたは他のグループの

個々のメンバーまたはサブグループに関してもまた記載されていることを認識するであろう。

【０３４２】

本明細書に例示的に記載されている発明は，本明細書に特定的に開示されていない任意の要素または限定なしでも適切に実施することができる。本明細書において用いられる用語および表現は，説明の用語として用いるものであり，限定ではない。そのような用語および表現の使用においては，示されかつ記載されている特徴またはその一部の等価物を排除することを意図するものではなく，特許請求の範囲に記載される本発明の範囲中で種々の変更が可能であることが理解される。すなわち，好ましい態様および任意の特徴により本発明を特定的に開示してきたが，当業者には本明細書に記載される概念の変更および変種が可能であり，そのような変更および変種も，明細書および特許請求の範囲に定義される本発明の範囲内であると考えられることが理解されるべきである。

【０３４３】

当業者は，本発明の方法およびプロセスの使用が，本明細書に記載される化合物に限定されるものではなく，アミノ，および／またはＮ－フタロイル基を含有する多くの異なるヌクレオシドおよび非ヌクレオシド分子，ならびにＬ－リボース糖および／またはＤ－リボース糖官能基を含有する分子の合成に適用しうることを認識するであろう。本発明により企図される修飾ヌクレオシドの非限定的例は，以下の文献に概説されている：Ｕｓｍａｎ ａｎｄ Ｃｅｄｅｒｇｒｅｎ，１９９２，ＴＩＢＳ．１７，３４；Ｕｓｍａｎ ｅｔ ａｌ．，１９９４，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｓｙｍｐ．Ｓｅｒ．３１，１６３；Ｂｕｒｇｉｎ ｅｔ ａｌ．，１９９６，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，３５，１４０９０。

【０３４４】

他の態様も特許請求の範囲の範囲内である。

【図面の簡単な説明】

【図１】図１は，本発明の方法による，２’－デオキシ－２’－アミノヌクレオシド，２’－デオキシ－２’－アミノＣ－ヌクレオシド，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルヌクレオシド，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルＣ－ヌクレオシド，ヌクレオシドホスホルアミダイトおよびＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイトの合成を記述する一般的反応スキームの概略図である。

【図２】図２は，本発明の方法による，２’－Ｏ－シリルヌクレオシドホスホルアミダイトおよび２’－Ｏ－シリルＣ－ヌクレオシドホスホルアミダイトの合成を記述する一般的反応スキームの概略図である。

【図３】図３は，本発明の方法による，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルシチジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（８）および２’－デオキシ－２’－アミノシチジン（９）の合成に関連するスキームの概略図である。

【図４】図４は，本発明の方法による，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルウリジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（１６）および２’－デオキシ－２’－アミノウリジン（１７）の合成に関連するスキームの概略図である。

【図５】図５は，本発明の方法による，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（２５）および２’－デオキシ－２’－アミノアデノシン（２６）の合成に関連するスキームの概略図である。

【図６】図６は，本発明の方法による，２’－デオキシ－２’－Ｎ－フタロイルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（３６）および２’－デオキシ－２’－アミノグアノシン（３７）の合成に関連するスキームの概略図である。

【図７】図７は，本発明の方法による，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ４－アセチルシチジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－

Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（４３）の合成に関連するスキームの概略図である。

【図８】図８は，本発明の方法による，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリルウリジン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（４８）の合成に関与するスキームの概略図である。

【図９】図９は，本発明の方法による，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ６－ベンゾイルアデノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（５４）の合成に関連するスキームの概略図である。

【図１０】図１０は，本発明の方法による，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（６０）の合成に関連するスキームの概略図である。

【図１１】図１１は，本発明の方法による，５’－Ｏ－ジメトキシトリチル－２’－Ｏ－メチル－Ｎ２－イソブチリルグアノシン３’－Ｏ－（２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルホスホルアミダイト）（６９）および２’－Ｏ－メチルグアノシン（７０）の合成に関与するスキームの概略図である。

【図１２】図１２は，例えば，図３の工程ＩＶおよび図４および５の工程ＩＩＩにおいて生ずる競合的除去反応の概略図である。

【図１３】図１３は，本発明の方法による，２’－Ｏ－メチルアデノシン（７５）の合成に関連するスキームの概略図である。

【図１４】図１４は，Ｎ６－イミダゾールアデノシン中間体を用いる本発明の方法による，２’－Ｏ－メチルアデノシン（７５）の合成に関連するスキームの概略図である。

【図１５】図１５は，本発明の方法による１，４－アンヒドロ－２－デオキシ－Ｄ－エリスロ－ペンチトール誘導体の合成に関連するスキームの概略図である。

【図１】

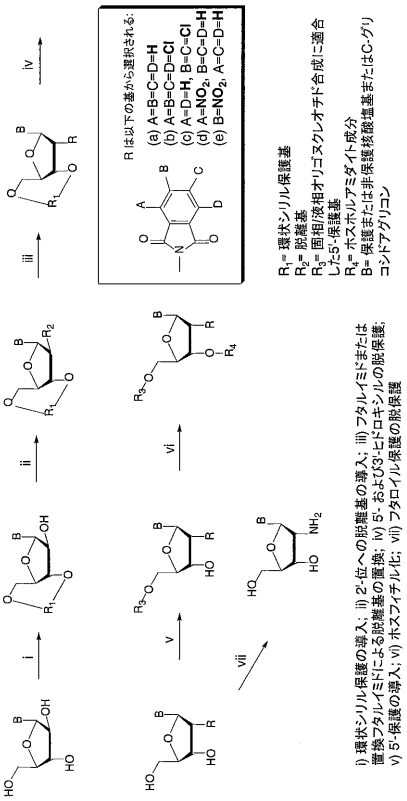


図 1: 2'-デオキシ-2'-アミノヌクレオシド, C-ヌクレオシド, および2'-デオキシ-2'-N-フタロイルヌクレオシドおよびC-ヌクレオシドホスホルアミダイトの合成

【図２】

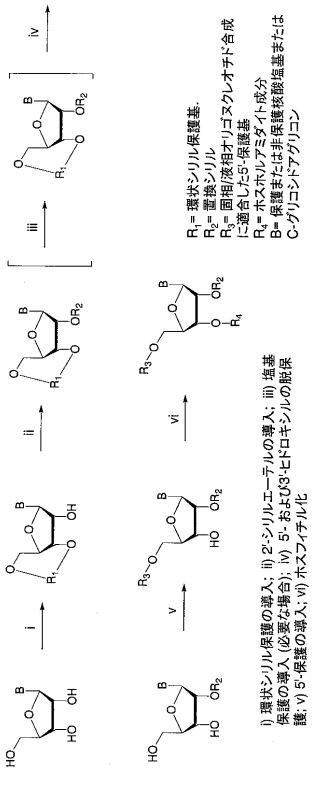


図 2: 2'-O-シリルヌクレオシドホスホルアミダイトおよび2'-O-シリルC-ヌクレオシドホスホルアミダイトの合成

【図３】

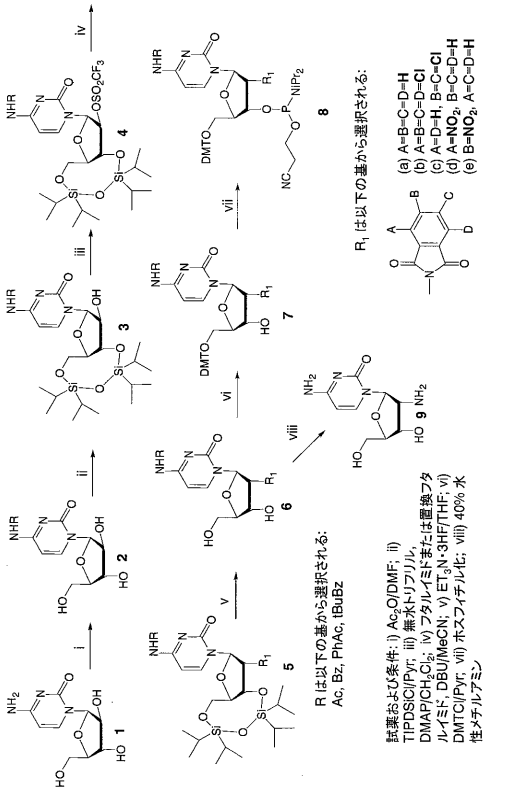


図３：２'-デオキシ-２'-N-フタロイルシチジンホスホルアミダイトの合成

【図４】

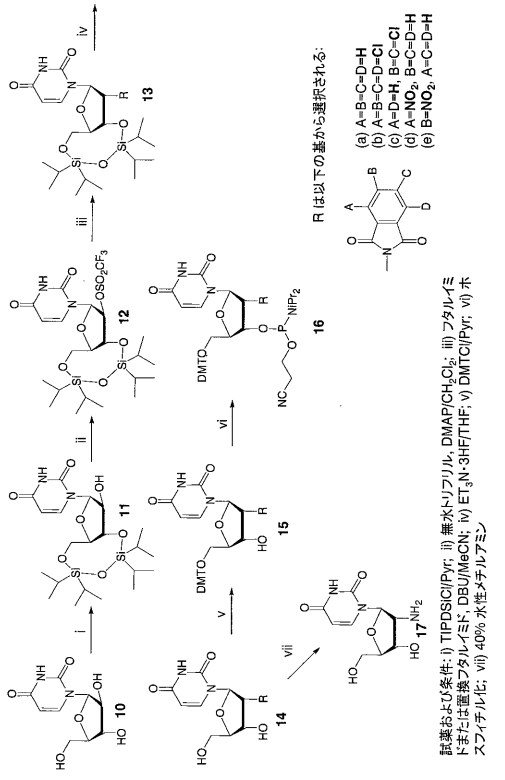


図４：２'-デオキシ-２'-N-フタロイルウリジンホスホルアミダイトの合成

【図５】

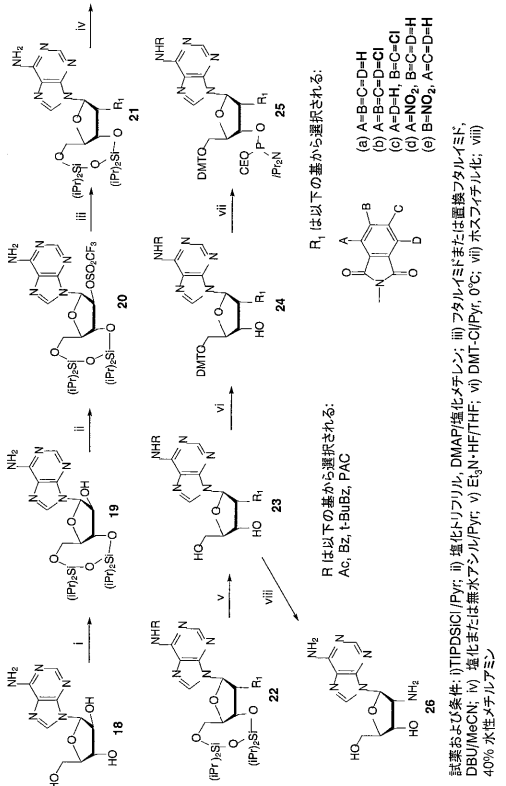


図５：２'-デオキシ-２'-N-フタロイルアデノシンホスホルアミダイトの合成

【図６】

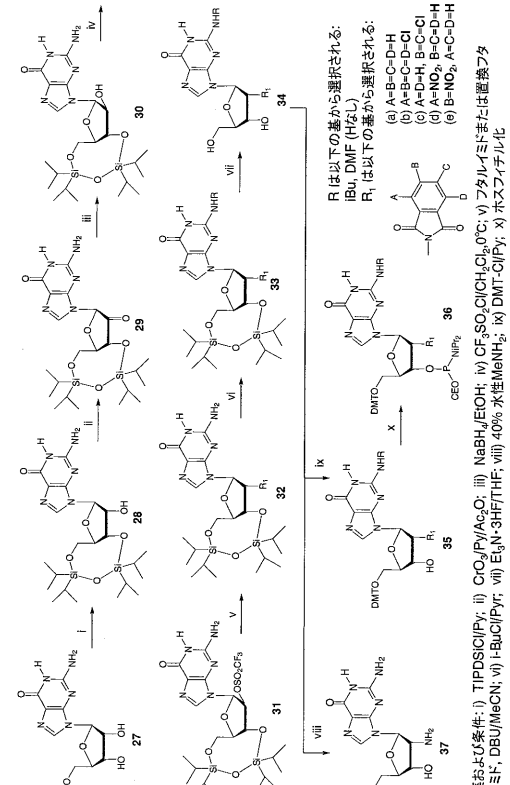


図６：２'-デオキシ-２'-N-フタロイルグアノシンホスホルアミダイトの合成

【図７】

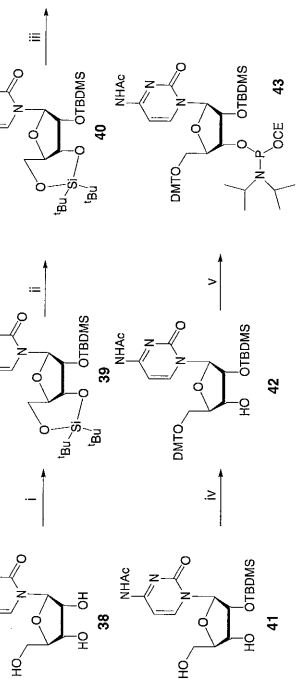


図 7: 5'-O-ジメトキシトリチル-2'-O-tert-ブチルジメチルシリル-N4-アセチルシチジン3'-O-(2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピルホスホルアミダイト)の合成

試薬および条件: i) a. $MeSO_3H$; b. tert-$Bu_2Si(OSO_2CF_3)_2$ / イミダゾール; c. tert-$BuMe_2SiCl$ / イミダゾール; ii) 無水酢酸/ピリジン; iii) HF-Pyr/CH_2Cl_2; iv) DMT-Cl / Pyr; v) ホスフィチル化

CE = 2-シアノエチル

【図８】

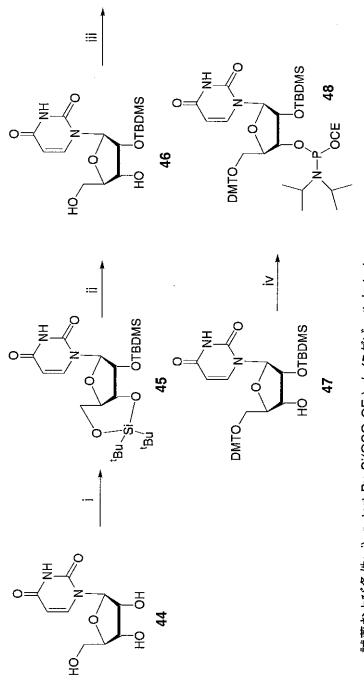


図 8: 5'-O-ジメトキシトリチル-2'-O-tert-ブチルジメチルシリル ウリジン 3'-O-(2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピルホスホルアミダイト)の合成

試薬および条件: i) a. tert-$Bu_2Si(OSO_2CF_3)_2$ / イミダゾール, b. tert-$BuMe_2SiCl$ / イミダゾール; ii) a. 塩化イソブチリル/Pyr, b. メチルアミン/EtOH; iii) HF-Pyr/CH_2Cl_2; iv) DMT-Cl / Pyr; v) ホスフィチル化

CE = 2-シアノエチル

【図９】

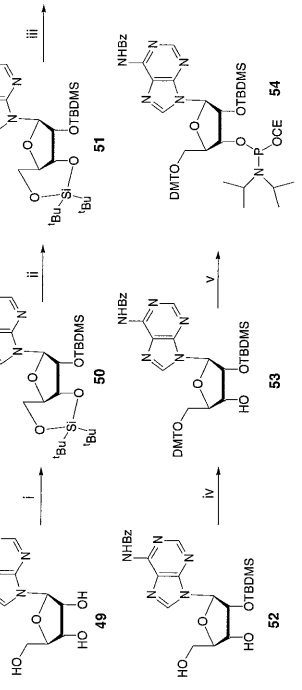


図 9: 5'-O-ジメトキシトリチル-2'-O-tert-ブチルジメチルシリル-N6-ベンゾイル アデノシン 3'-O-(2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピルホスホルアミダイト)の合成

試薬および条件: i) a. tert-$Bu_2Si(OSO_2CF_3)_2$ / イミダゾール, b. tert-$BuMe_2SiCl$ / イミダゾール; ii) a. 塩化ベンゾイル/Pyr b. モルホリン; iii) HF-Pyr/CH_2Cl_2; iv) DMT-Cl / Pyr; v) ホスフィチル化

CE = 2-シアノエチル

【図１０】

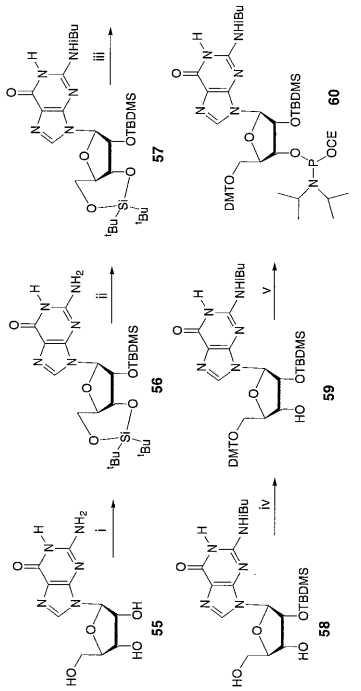


図 10: 5'-O-ジメトキシトリチル-2'-O-tert-ブチルジメチルシリル-N2-イソブチリル グアノシン 3'-O-(2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピルホスホルアミダイト)の合成

試薬および条件: i) a. tert-$Bu_2Si(OSO_2CF_3)_2$ / イミダゾール, b. tert-$BuMe_2SiCl$ / イミダゾール; ii) a. 塩化イソブチリル/Pyr, b. メチルアミン/EtOH; iii) HF-Pyr/CH_2Cl_2; iv) DMT-Cl / Pyr; v) ホスフィチル化

CE = 2-シアノエチル

【図１１】

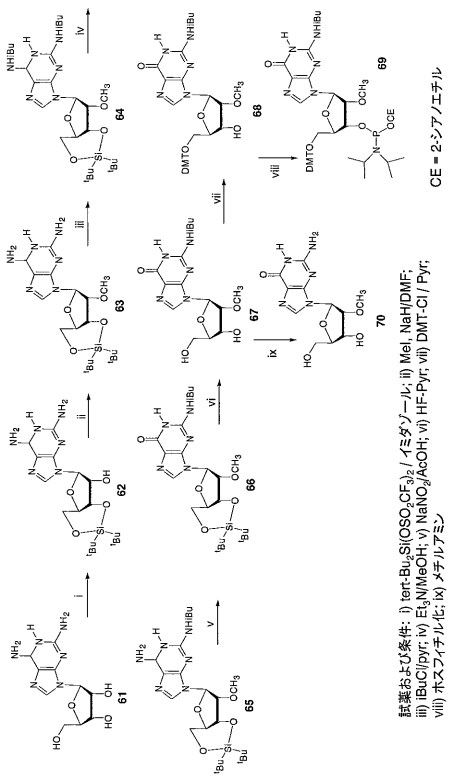


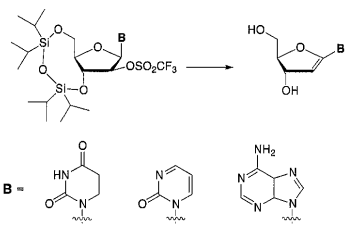
図 11: 2'-O-メチルグアノシンおよび5'-O-ジメトキシトリチル-2'-O-メチル-N2-イソブチリル グアノシン 3'-O-(2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピル)ホスホルアミダイト)の合成

試薬および条件: i) tert-$Bu_2Si(OSO_2CF_3)_2$ / イミダゾール; ii) MeI, NaH/DMF; iii) iBuCl/pyr; iv) Et_3N/MeOH; v) $NaNO_2$/AcOH; vi) HF-Pyr; vii) DMT-Cl / Pyr; viii) ホスフィチル化; ix) メチルアミン

CE = 2-シアノエチル

【図１２】

図 12. 除去反応



【図１３】

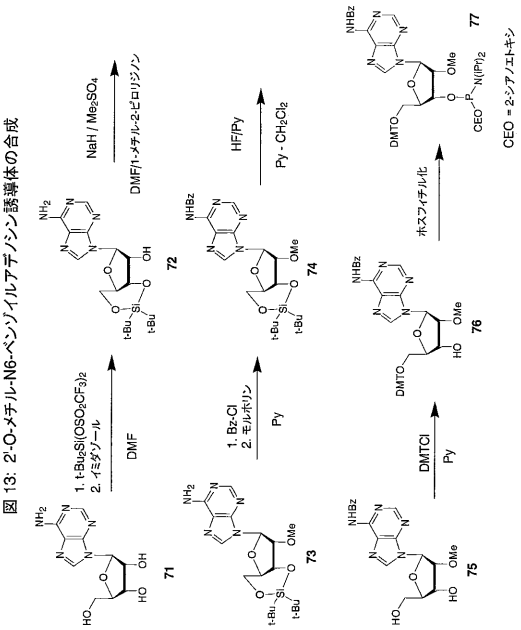


図 13: 2'-O-メチル-N6-ベンゾイルアデノシン誘導体の合成

CEO = 2-シアノエトキシ

【図１４】

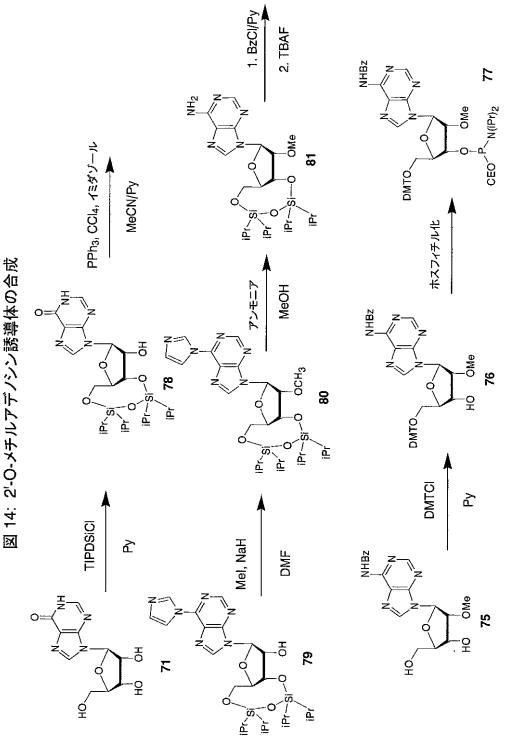
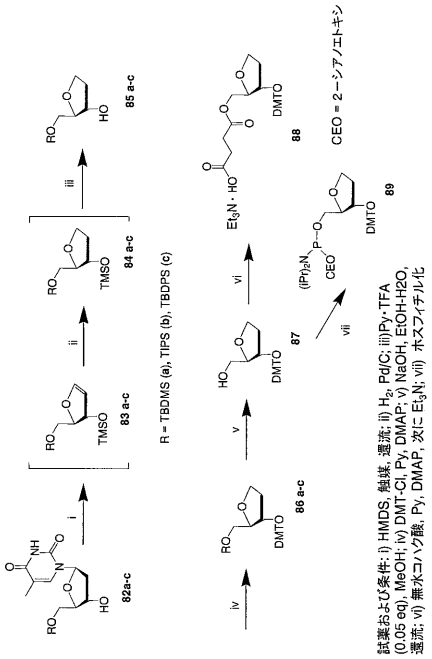


図 14: 2'-O-メチルアデノシン誘導体の合成

【図１５】

図 15: 1,4-アンヒドロ-2-デオキシ-D-エリスロ-ペンチトール誘導体の合成



【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
7 March 2002 (07.03.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/18405 A2

(51) International Patent Classification[7]: C07H 19/00

(21) International Application Number: PCT/US01/27116

(22) International Filing Date: 31 August 2001 (31.08.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/230,057 1 September 2000 (01.09.2000) US
60/286,571 25 April 2001 (25.04.2001) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **RIBOZYME PHARMACEUTICALS, INCORPORATED** [US/US]; 2950 Wilderness Place, Boulder, CO 80301 (US).

(72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **BEIGELMAN, Leonid** [US/US]; 5530 Colt Drive, Longmont, CO 80503 (US). **KARPEISKY, ALexander** [US/US]; 420 Vernier Avenue, Lafayette, CO 80026 (US). **SEREBRYANY, Vladimir** [RU/US]; 877 east Moorehead Circle, #A, Boulder, CO 80303 (US). **HAEBERLI, Peter** [US/US]; 705 7th Street, Berthond, CO 80513 (US). **SWEEDLER, David** [US/US]; 956 St. Andrews Lane, Louisville, CO 80027 (US).

(74) Agent: **TERPSTRA, Anita, J.**; McDonnell Boehnen Hulbert & Berghoff, Suite 3200, 300 South Wacker Drive, Chicago, IL 60606 (US).

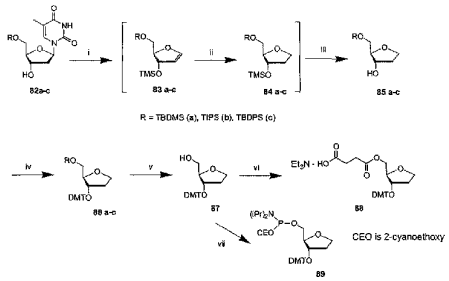
(81) Designated States *(national)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States *(regional)*: ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE,

[Continued on next page]

(54) Title: METHODS FOR SYNTHESIZING NUCLEOSIDES, NUCLEOSIDE DERIVATIVES AND NON-NUCLEOSIDE DERIVATIVES

Synthesis of 1,4-Anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol derivatives



Reagents & Conditions: i) HMDS, catalyst, reflux; ii) H_2, Pd/C; iii)Py·TFA (0.05 eq), MeOH; iv) DMT-Cl, Py, DMAP; v) NaOH, EtOH-H_2O, reflux; vi) succinic anhydride, Py, DMAP, then Et_3NH) phosphitylation

(57) Abstract: The present invention provides methods for the chemical synthesis of nucleosides and derivatives thereof, including 2'-amino, 2'-N-phthaloyl, 2'-O-methyl, 2'-O-silyl, 2'-OH nucleosides, C-nucleosides, nucleoside phosphoramidites, C-nucleoside phosphoramidites, and non-nucleoside derivatives.

WO 02/18405 A2

IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

Published:

— *without international search report and to be republished upon receipt of that report*

METHODS FOR SYNTHESIZING NUCLEOSIDES, NUCLEOSIDE DERIVATIVES AND NON-NUCLEOSIDE DERIVATIVES

TECHNICAL FIELD OF INVENTION

This invention relates to the chemical synthesis of nucleosides, non-nucleosides and derivatives thereof, including nucleoside and non-nucleoside phosphoramidites and succinates.

BACKGROUND OF THE INVENTION

This patent application claims benefit of Beigelman *et al.*, USSN (60/230,057), filed September 1, 2000, entitled "METHODS FOR SYNTHESIZING NUCLEOSIDES AND NUCLEOSIDE DERIVATIVES" and Beigelman *et al.*, USSN (60/286,571), filed April 25, 2001, entitled "METHODS FOR SYNTHESIZING NUCLEOSIDES, NUCLEOSIDE DERIVATIVES AND NON-NUCLEOSIDE DERIVATIVES". These applications are hereby incorporated by reference herein in their entirety including the drawings.

The following is a brief description of the synthesis of nucleosides. This summary is not meant to be complete but is provided only for understanding the invention that follows. This summary is not an admission that the work described below is prior art to the claimed invention.

Structural modifications of oligonucleotides are becoming increasingly important as their possible clinical applications emerge (Usman *et al.*, 1996, *Ed., Springer-Verlag,* Vol. 10, 243-264; Agrawal, 1996, *Trends Biotech.,* 14, 376-387; Christoffersen and Marr, 1995, *J. Med. Chem.,* 38, 2023-2037). The efficient synthesis of nucleic acids that are chemically modified to increase nuclease resistance while maintaining potency is of importance to the potential development of new therapeutic agents.

Research into the study of structure-function relationships in ribonucleic acids has, in the past, been hindered by limited means of producing such biologically relevant molecules (Cech, 1992, *Nucleic Acids Research,* 17, 7381-7393; Francklyn and Schimmel, 1989, *Nature,* 337, 478-481; Cook *et al.*, 1991, *Nucleic Acids Research,* 19, 1577-1583; Gold, 1988, *Annu. Rev. Biochemistry,* 57, 199-233). Although enzymatic methods existed, protocols that allowed one to probe structure function relationships were limited. Only uniform post-synthetic chemical modification (Karaoglu and Thurlow, 1991, *Nucleic Acids Research,* 19, 5293-5300) or site-directed mutagenesis (Johnson and Benkovic, 1990, *The*

Enzymes, Vol. 19, Sigman and Boyer, eds., 159-211) were available. In the latter case, researchers were limited to using natural bases. Fortunately, adaptation of the phosphoramidite protocol for RNA synthesis has greatly accelerated our understanding of RNA. Site-specific introduction of modified nucleotides at any position in a given RNA has now become routine. Furthermore, one is not confined to a single modification but can include many variations in each molecule.

While it is seemingly out of proportion that one small structural modification can have such an impact, the presence of a single hydroxyl at the 2'-position of the ribofuranose ring has been the major reason that research in the RNA field has lagged so far behind comparable DNA studies. Progress has been made in improving methods for DNA synthesis that have enabled the production of large amounts of antisense deoxyoligonucleotides for structural and therapeutic applications. Only recently have similar gains been achieved for RNA (Wincott *et al.*, 1995, *Nucleic Acids Research,* 23, 2677-2684; Sproat *et al.*, 1995, *Nucleosides and Nucleotides,* 14, 255-273; Vargeese *et al.*, 1998, *Nucleic Acids Research,* 26, 1046-1050).

The chasm between DNA and RNA synthesis is due to the difficulty of identifying orthogonal protecting groups for the 5'- and 2'-hydroxyls. Historically, two standard approaches have been taken by scientists attempting to solve the RNA synthesis problem, The first approach involves developing a method that seeks to adapt to state-of the-art DNA synthesis, while the second approach involves designing a method specifically suited for RNA. Although adaptation of the DNA process provides a more universal procedure in which non-RNA phosphoramidites can easily be incorporated into RNA oligomers, the advantage to the latter approach is that one can develop a process that is optimal for RNA synthesis and as a result, better yields can be realized. However, in both cases similar issues exist, including, for example, the identification of protecting groups that are both compatible with synthesis conditions and capable of being removed at the appropriate juncture. This problem does not refer only to the 2'- and 5'-OH groups, but includes the base and phosphate protecting groups as well. Consequently, the accompanying deprotection steps, in addition to the choice of ancillary agents, are critical. Another shared obstacle is the need for efficient synthesis of the monomer building blocks.

The most common paradigm has been to apply DNA synthesis methods to RNA. Consequently, it is critical to identify a 2'-hydroxyl protecting group that is compatible with DNA protecting groups yet can easily be removed once the oligomer is synthesized. Due to constraints placed by the existing amide protecting groups on the bases and the 5'-O-dimethoxytrityl (DMT) group (or in some cases the 9-(phenyl)xanthen-9-yl (Px) group), the 2'-blocking group must be stable to both acid and base. In addition, the 2' blocking group

must also be inert to the oxidizing and capping reagents. Although the most widely used 2'-hydroxyl protecting group is tert-butyldimethylsilyl (TBDMS) ether, many others have been explored. These alternative 2'-protecting groups include acetal groups, such as the tetrahydropyranyl (THP), methoxytetrahydropyranyl (mthp), 1-(2-fluorophenyl)-4-methoxypiperidin-4-yl (Fpmp), 1-(2-chloroethoxy)ethyl, 2-hydroxyisophthalate formaldehyde acetal, and 1-{4-[2-(4-nitrophenyl)ethoxycarbonyloxy]-3-fluorobenzyloxy}ethyl groups. In addition, photolabile groups, such as the o-nitrobenzyl, *o*-nitrobenzyloxymethyl, and *p*-nitrobenzyloxymethyl groups have been used. Other groups include the 1,1-dianisyl-2,2,2-trichloroethyl group, the *p*-nitrophenylethyl sulfonyl group, and the 2'-O-triisopropylsilyl-oxy-methyl group. Additional 2'-protecting groups that have been studied are reviewed in Gait *et al.*, 1991; *Oligonucleotide Synthesis,* In *Oligonucleotides and Analogues, A Practical Approach* (F. Eckstein, ed.), 25-48, and Beaucage and Iyer, 1992, *Tetrahedron, 48, 2223-2311.*

By far the most popular 2'-protecting group is the tert-butyldimethylsilyl group, developed principally by Ogilvie and co-workers (Usman *et al.*, 1987, *J.A.C.S.*, 109,7845-7854). Recent advances in silyl chemistry in both the synthesis (Wincott *et al.*, 1995, *Nucleic Acids Research,* 23, 2677-2684, Sproat *et al.*, 1995, *Nucleosides and Nucleotides,* 14, 255-273, Vargeese *et al.*, 1998, *Nucleic Acids Research,* 26, 1046-1050) and deprotection (Wincott et al., *supra*; Sproat et al., *supra*) arenas have made it's use an even more viable approach to the production of oligoribonucleotides.

The introduction of the tert-butyldimethylsilyl group at the 2'-position of a ribonucleotide is usually effected by the reaction of a 5'-O-dimethoxytrityl-nucleoside with tert-butyldimethylsilyl chloride in the presence of either silver nitrate or imidazole. The resulting mixture of 2'-O-tert-butyldimethylsilyl, 3'-O-tert-butyldimethylsilyl and bis-substituted (3',2'-di-O-tert-butyldimethylsilyl) products must be purified to isolate the desired 2'-O-tert-butyldimethylsilyl derivative, usually by column chromatography. Treatment of the isolated 3'-O-tert-butyldimethylsilyl derivative by equilibration in triethylamine/methanol or pyridine/water can effect migration of the silyl ether, resulting in the capability of isolating additional 2'-O-tert-butyldimethylsilyl product. Multiple re-equilibrations can be utilized to obtain smaller and smaller quantities of the desired 2'-O-tert-butyldimethylsilyl product, however, this process is time-consuming and requires a separate purification step after each equilibration. Therefore, even though formation of the 2'-O-tert-butyldimethylsilyl isomer is sometimes kinetically favored, the resulting isolated yield of the desired 2'-O-tert-butyldimethylsilyl isomer is generally diminished due to formation of the competing 3'-O-tert-butyldimethylsilyl and bis-substituted isomers. Accordingly, there exists a need for a

general method for nucleoside phosphoramidite synthesis useful in the selective introduction of silyl protection at the 2'-hydroxyl of a nucleoside.

The utilization of 2'-deoxy-2'-amino nucleotides has resulted in the *in vitro* selection of novel enzymatic nucleic acid molecules (Beaudry *et al.*, 2000, *Chemistry and Biology*, 7, 323-334). As such, there exists a need for methods suitable for the efficient synthesis of 2'-deoxy-2'-amino containing oligonucleotides. Beigelman *et al.*, 1995, *Nucleic Acids Res.*, 23, 4434-4442, have previously shown that the use of the phthaloyl protecting group for the 2'-amino function of a 2'-deoxy-2'-amino ribonucleotide phosphoramidite during oligonucleotide synthesis is preferable to trifluoroacetyl or Fmoc protecting groups. Beigelman *et al., supra,* also describe the synthesis of 2'-*N*-phthaloyluridine phosphoramidite starting from 2'-aminouridine using Nefkins' method (Nefkins *et al.*, 1960, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas.*, 79, 688-698). This procedure requires 2'-deoxy-2'-amino-nucleosides as starting materials.

The first preparation of 2'-aminouridine was described by Verheyden *et al.*, 1971, *J. Org. Chem.*, 36, 250-254. This procedure utilizes lithium azide in the opening of 2,2'-*O*-anhydrouridine in 50% yield followed by catalytic reduction to the corresponding amine. Several reports elaborating this approach with minor modifications have since been published. An approach utilizing intramolecular cyclization of the 3'-*O*-trichloroacetimidate of 2,2'-*O*-anhydrouridine, followed by acid hydrolysis has been published as an alternative to the use of azide ion (McGee *et al.*, 1996, *J. Org. Chem.*, 61, 781-785). Methods for the synthesis of the 2'-aminopurine nucleosides use the same general strategy of introducing a 2'-azido group with subsequent reduction to the amine. Alternatively, 2'-azidopurine nucleosides have been prepared by glycosylation with 2'-azido-2'-deoxy ribose derivatives (Hobbs and Eckstein, 1977, *J. Org., Chem.*, 42, 714-719), transglycosylation with 2'-amino-2'-deoxyuridine, (Imazawa and Eckstein, 1979, *J. Org. Chem.*, 44, 2039-2041), opening of 8,2-cyclopurine nucleosides with azide ion, (Ikehara *et al.*, 1977, *Chem. Pharm. Bull.*, 25, 754-760; Ikehara and Maruyama, 1978, *Chem. Pharm. Bull.*, 26, 240-244), and by displacement of the corresponding 2'-arabino triflates with azide ion (Robins *et al.*, 1992, *Nucleosides and Nucleotides,* 11, 821-834).

Other publications have described the preparation of nucleoside derivatives, including, for example, Karpeisky *et al.*, International PCT Publication No. WO 98/28317, which describes the synthesis of 2'-O-amino nucleosides, Beigelman *et al.*, US Patent No. 5,962,675, which describe the synthesis of 2'-O-methyl nucleosides, Furusawa, Japanese patent No. 6067492, which describes the synthesis of nucleoside cyclic silicon derivatives, Furusawa, Japanese patent No. 10226697, which describes the synthesis of 2'-O-silyl nucleosides, Usman *et al.*, US Patent No. 5,631,360, which describes N-phthaloyl protected

2'-amino nucleoside phosphoramidites, Usman *et al.*, US Patent No. 5,891,683, describe non-nucleoside containing enzymatic nucleic acid molecules, and Matulic-Adamic *et al.*, US Patent No. 5,998,203, describe enzymatic nucleic acid molecules containing 5' and/or 3'-cap structures.

BRIEF SUMMARY OF THE INVENTION

The invention provides a universal method for the synthesis of 2'-deoxy-2'-amino purine and pyrimidine nucleosides and C-nucleosides that employs fewer synthetic steps, avoids the use of azides, and which concomitantly introduces N-phthaloyl protection of the 2'-amine (see figure 1).

In one embodiment, the present invention provides a method for the preparation of 2'-deoxy-2'-amino and 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleosides. The method can be scaled up to kilogram or greater quantities. The method comprises the use of phthalimide and/or a substituted phthalimide as a nucleophile in the displacement of a leaving group present at the 2'-position of a 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside, to generate a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside. Subsequent cleavage of the phthaloyl protection with a suitable base results in the formation of a 2'-deoxy-2'-amino nucleoside.

The present invention provides a method for synthesizing a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside, comprising: (a) introducing a leaving group at the 2'-position of a 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside; an (b) displacing said leaving group from step (a) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile to yield 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside.

In another embodiment, the invention provides a method for synthesizing a 2'-deoxy-2'-amino nucleoside, comprising the steps of: (a) introducing a leaving group at the 2'-position of a 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside; (b) displacing said leaving group from step (a) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile to yield a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside; and (c) deprotecting said 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside to yield said 2'-deoxy-2'-amino nucleoside.

In another embodiment, the present invention provides a method for the preparation of 2'-deoxy-2'-amino and 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleosides. The method can be scaled up to kilogram or greater quantities. The method comprises the use of phthalimide and/or a substituted phthalimide as a nucleophile in the displacement of a leaving group present at the 2'-position of a 1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside, to generate a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl

C-nucleoside. Subsequent cleavage of the phthaloyl protection with a suitable base results in the formation of a 2'-deoxy-2'-amino C-nucleoside.

In another embodiment, the invention provides a method for synthesizing a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside, comprising the step of contacting a 2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile under conditions suitable for formation of said 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside.

In another embodiment, the invention provides a method for synthesizing a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleoside, comprising the step of contacting a 2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile under conditions suitable for formation of said 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleoside.

In another embodiment, the invention provides a method for the synthesis of a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside, comprising the step of contacting a 2'-methanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile under conditions suitable for formation of said 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside.

In another embodiment, the invention provides a method for the synthesis of a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleoside, comprising the step of contacting a 2'-methanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile under conditions suitable for formation of said 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleoside.

In another aspect, the invention also provides a method for the synthesis of nucleic acid base protected 2'-O-silyl nucleoside phosphoramidites and 2'-O-silyl C-nucleosides (Figure 2) that avoids formation of the competing 3'-O-silyl nucleoside isomer, thereby improving overall synthetic yield while avoiding the need for separation of 2'-O-silyl nucleoside and 3'-O-silyl nucleoside isomers. The method described herein avoids the practice of re-equilibration of the 3'-O-silyl nucleoside isomer to generate additional 2'-O-silyl nucleoside. Additionally, the present method avoids the need for transient protection of the furanosyl hydroxyls as a separate step in the protection of the nucleic acid base.

The present invention also provides a method for the preparation of 2'-O-silyl-nucleosides and 2'-O-silylnucleoside phosphoramidites. The method can be scaled up to kilogram or greater quantities. The method comprises the steps of (1) introducing a 5',3'-cyclic silyl protecting group to a nucleoside; (2) introducing a 2'-O-silyl protecting group to the product of step (1); (3) introducing nucleic acid base protection where necessary to the product of step (2); (4) selectively desilylating the product of step (3); (5) introducing a 5'-hydroxyl protecting group to the product of step (4), and (6) introducing a phosphoramidite

moiety at the 3'-position of the product of step (5) with a phosphitylating reagent to yield a 2'-O-silyl-nucleoside phosphoramidite.

In another embodiment, the invention provides a method for the synthesis of 2'-O-silyl-nucleosides and 2'-O-silyl-nucleoside phosphoramidites comprising the steps of (1) introducing nucleic acid base protection where necessary to a nucleoside; (2) introducing a 5',3'-cyclic silyl protecting group to the product of step (1); (3) introducing a 2'-O-silyl protecting group to the product of step (2); (4) selectively desilylating the product of step (3); (5) introducing a 5'-hydroxyl protecting group to the product of step (4); and (6) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (5) with a phosphitylating reagent to yield a 2'-O-silyl-nucleoside phosphoramidite.

In another embodiment, the method for synthesis of 2'-O-silyl-nucleosides and 2'-O-silyl-nucleoside phosphoramidites is used for the synthesis of 2'-O-silyl-D-ribofuranosyl nucleosides, 2'-O-silyl-D-ribofuranosyl nucleoside phosphoramidites, 2'-O-silyl-L-ribofuranosyl nucleosides, 2'-O-silyl-L-ribofuranosyl nucleoside phosphoramidites, 2'-O-silyl-D-arabinofuranosyl nucleosides, 2'-O-silyl-D-arabinofuranosyl nucleoside phosphoramidites and both 2'-O-silyl-L-arabinofuranose nucleosides and 2'-O-silyl-L-arabinofuranose nucleoside phosphoramidites.

The present invention also provides a method for the preparation of 2'-O-silyl-C-nucleosides and 2'-O-silyl-C-nucleoside phosphoramidites. The method can be scaled up to kilogram or greater quantities. The method includes the steps of (1) introducing a 5',3'-cyclic silyl protecting group to a C-nucleoside; (2) introducing a 2'-O-silyl protecting group to the product from step (1); (3) introducing nucleic acid base protection where necessary to the product of step (2); (4) selectively desilylating the product of step (3); (5) introducing a 5'-hydroxyl protecting group to the product of step (4); and (6) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (5) with a phosphitylating reagent.

In another embodiment, the invention provides a method for synthesizing 2'-O-silyl-C-nucleosides and 2'-O-silyl-C-nucleoside phosphoramidites comprising the steps of (1) introducing nucleic acid base protection where necessary to a C-nucleoside; (2) introducing a 5',3'-cyclic silyl protecting group to the product of step (1); (3) introducing a 2'-O-silyl protecting group to the product from step (2); (4) selectively desilylating the product of step (3); (5) introducing a 5'-hydroxyl protecting group to the product of step (4); and (6) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (5) with a phosphitylating reagent.

In another embodiment, the method for synthesis of 2'-O-silyl-C-nucleosides and 2'-O-silyl-C-nucleoside phosphoramidites is used for the synthesis of 2'-O-silyl-D-ribofuranosyl C-nucleosides and 2'-O-silyl-D-ribofuranosyl C-nucleoside phosphoramidites, 2'-O-silyl-L-ribofuranosyl C-nucleosides and 2'-O-silyl-L-ribofuranosyl C-nucleoside phosphoramidites, 2'-O-silyl-D-arabinofuranosyl C-nucleosides and 2'-O-silyl-D-arabinofuranosyl C-nucleoside phosphoramidites and both 2'-O-silyl-L-arabinofuranose C-nucleosides and 2'-O-silyl-L-arabinofuranose C-nucleoside phosphoramidites.

In yet another aspect of the invention, a method for the preparation of 2'-O-methyl guanosine nucleosides and 2'-O-methyl guanosine nucleoside phosphoramidites is provided. The 2'-O-methyl guanosine nucleosides and 2'-O-methyl guanosine nucleoside phosphoramidites are synthesized from a 2,6-diaminopurine nucleoside by selective methylation of the 2,6-diaminopurine nucleoside followed by selective deamination of the 2,6-diaminopurine nucleoside to afford a 2'-O-methyl guanosine nucleoside.

The present invention provides a practical method for the preparation of 2'-O-methyl guanosine nucleosides and 2'-O-methyl guanosine nucleoside phosphoramidites. The method can be scaled up to kilogram or greater quantities. The method includes the steps of (1) introducing a 5',3'-cyclic silyl protecting group to a 2,6-diamino-9-(β-ribofuranosyl)purine with a disilylalkyl bis(trifluoromethanesulfonate) to form a 2,6-diamino-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-methyl-β-ribofuranosyl]purine; (2) methylation of the product of step (1) under conditions suitable for the isolation of a 2,6-diamino-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-β-ribofuranosyl]purine; (3) introducing acyl protection at the N2 and N6 positions of the product from step (2) under conditions suitable for the isolation of N^2-N^6-2,6-diamino-diacyl-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-methyl-β-ribofuranosyl]purine; (4) selectively deacylating position N^6 of the product of step (3), under conditions suitable for the isolation of 2,6-diamino-N^2-acyl-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-methyl-β-ribofuranosyl]purine; (5) chemically deaminating the N6-amine and desilylating the product of step (4), under conditions suitable for the isolation of N^2-acyl-2'-O-methyl guanosine; (6) introducing a 5'-hydroxyl protecting group to the product of step (5), under conditions suitable for obtaining a N^2-acyl-5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-methyl guanosine; and (7) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (6) with a phosphitylating reagent under conditions suitable for isolating a N^2-acyl-5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-methyl guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In another embodiment, the present invention provides a method for the chemical synthesis of a 2'-O-methyl guanosine nucleoside comprising the steps of: (1) introducing a

5',3'-cyclic silyl protecting group to a 2,6-diamino-9-(β-ribofuranosyl)purine with a disilylalkyl bis(trifluoromethanesulfonate) to form a 2,6-diamino-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)- β-ribofuranosyl]purine; (2) methylation of the product of step (1) under conditions suitable for the isolation of a 2,6-diamino-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-methyl-β-ribofuranosyl]purine; (3) acylation of the N2 and N6 positions of the product from step (2) under conditions suitable for the isolation of a 2,6-diamino-N2-N6-diacyl-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-methyl-β-ribofuranosyl]purine; (4) selectively deacylating position N6 of the product of step (3), under conditions suitable for the isolation of a 2,6-diamino-N2-acyl-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-methyl-β-ribofuranosyl]purine; (5) deaminating the N6-amine and desilylating the product of step (4) under conditions suitable for the isolation of a N2-acyl-2'-O-methyl guanosine; and (6) deprotection of the N2-amine from the product of step (e) under conditions suitable for the isolation of said 2'-O-methyl guanosine nucleoside.

In yet another aspect of the invention, a method for the preparation of 2'-O-alkyl adenosine nucleosides and 2'-O-alkyl adenosine nucleoside phosphoramidites is provided. The 2'-O-alkyl adenosine nucleosides and 2'-O-alkyl adenosine nucleoside phosphoramidites are synthesized from a adenosine by selective alkylation of the 2'-hydroxyl of 5',3'-silanediyl protected adenosine nucleoside followed by selective deprotection of the 5',3'-silanediyl to afford a 2'-O-alkyl adenosine nucleoside. Protection of the N6 amine of adenosine if desired can take place after alkylation and before deprotection of the 5',3'-silanediyl to afford a N6-acyl-2'-O-alkyl adenosine. Acid labile protecting groups and phosphorous containing groups compatible with oligonucleotide synthesis can be introduced as is known in the art.

In one embodiment, the 2'-O-alkyl adenosine nucleosides and 2'-O-alkyl adenosine nucleoside phosphoramidites are synthesized from a inosine by introducing an imidazole or triazole moiety at the O6 position of a 5',3'-silanediyl protected inosine nucleoside as, followed by selective alkylation of the 2'-hydroxyl of the 5',3'-silanediyl protected adenosine N6-imidazole nucleoside followed by N6 amination and deprotection of the 5',3'-silanediyl and to afford a 2'-O-alkyl adenosine nucleoside. Alternately, the 5',3'-silanediyl protected 2'-O-alkyl adenosine N6-imidazole nucleoside is desilyated to a 2'-O-alkyl adenosine N6-imidazole nucleoside which is aminated with ammonia to provide 2'-O-alkyl adenosine. Acid labile protecting groups and phosphorous containing groups compatible with oligonucleotide synthesis can be introduced as is known in the art.

The present invention provides a practical method for the preparation of 2'-O-alkyl adenosine nucleosides and 2'-O-alkyl adenosine nucleoside phosphoramidites. The method can be scaled up to kilogram or greater quantities. The method includes the steps of (1)

introducing a 5',3'-cyclic silyl protecting group to adenosine with a disilylalkyl bis(trifluoromethanesulfonate) to form a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-adenosine; (2) alkylation of the product of step (1) under conditions suitable for the isolation of a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-alkyl adenosine; (3) introducing acyl protection at the N6 position of the product from step (2) under conditions suitable for the isolation of N^6-acyl-5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-alkyl adenosine; (4) desilylating the product of step (3), under conditions suitable for the isolation of N^2-acyl-2'-O-alkyl adenosine; (5) introducing a 5'-hydroxyl protecting group to the product of step (4), under conditions suitable for obtaining a N^6-acyl-5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-alkyl adenosine; and (6) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (5) with a phosphitylating reagent under conditions suitable for isolating a N^6-acyl-5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-alkyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In another embodiment, the present invention provides a method for the chemical synthesis of a 2'-O-alkyl adenosine nucleoside comprising the steps of: (1) introducing a 5',3'-cyclic silyl protecting group to adenosine with a disilylalkyl bis(trifluoromethanesulfonate) to form a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl) adenosine; (2) alkylation of the product of step (1) under conditions suitable for the isolation of a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-alkyl adenosine; (3) desilylating the product of step (2), under conditions suitable for the isolation of N^6-acyl-2'-O-alkyl adenosine.

The present invention provides a practical method for the preparation of 2'-O-alkyl adenosine nucleosides and 2'-O-alkyl adenosine nucleoside phosphoramidites. The method can be scaled up to kilogram or greater quantities. The method includes the steps of (1) introducing a 5',3'-cyclic silyl protecting group to inosine to form a 5',3'-protected-inosine; (2) introducing a N^6 imidazole moiety to the product of step (1) under conditions suitable for the isolation of a 5',3-protected-N^6-imidazole adenosine; (3) alkylation of the product of step (2) under conditions suitable for the isolation of a 5',3'-protected-2'-O-alkyl-N^6-imidazole adenosine; (4) introducing acyl protection at the N6 position of the product from step (3) under conditions suitable for the isolation of N^6-acyl-5',3'-protected-2'-O-alkyl adenosine; (5) desilylating the product of step (4), under conditions suitable for the isolation of N^6-acyl-2'-O-alkyl adenosine; (6) introducing a 5'-hydroxyl protecting group to the product of step (5), under conditions suitable for obtaining a N^6-acyl-5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-alkyl adenosine; and (7) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (6) with a phosphitylating reagent under conditions suitable for isolating a N^6-acyl-5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-alkyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In another embodiment, the present invention provides a method for the chemical synthesis of a 2'-O-alkyl adenosine nucleoside comprising the steps of: (1) introducing a 5',3'-cyclic silyl protecting group to inosine to form a 5',3'-protected inosine; (2) introducing a N^6 imidazole moiety to the product of step (1) under conditions suitable for the isolation of a N^6-imidazole-5',3'-protected adenosine; (3) alkylation of the product of step (2) under conditions suitable for the isolation of a N^6-imidazole-5',3'-protected-2'-O-alkyl adenosine; (4) aminating the N6 position of the product from step (3) under conditions suitable for the isolation of a N^6-acyl-5',3'-protected-2'-O-alkyl adenosine or 5',3'-protected-2'-O-alkyl adenosine; (5) desilylating the product of step (4), under conditions suitable for the isolation of N^6-acyl-2'-O-alkyl adenosine or 2'-O-alkyl adenosine.

In another embodiment, amination of the N^6-imidazole-5',3'-protected-2'-O-alkyl adenosine utilizes an acylamide, for example benzamide, to introduce exocyclic amine protection, either before or after desilylation.

The present invention also provides a practical method for the synthesis of 1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol derivatives, including 1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol succinates and phosphoramidites. The method includes the steps of (1) depyrimidination of a 5'-O-protected thymidine derivative under conditions suitable for the isolation of a 5-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol, (2) introduction of an acid-labile protecting group at the C3 hydroxyl of the 5-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol under conditions suitable for the isolation of a 5-O-protected-3-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol, (3) selective 5-O-deprotection of the product of step (2) under conditions suitable for the isolation of a 3-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol, and (4) introducing a chemical moiety comprising a succinate moiety or a phosphoramidite moiety at position 5 of the product of step (3) under conditions suitable for the isolation of a 5-O-succinyl-3-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol or a 3-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol-5-O-phosphoramidite.

BRIEF DESCRIPTION OF THE FIGURES

Figure 1 is a diagrammatic representation of a generalized reaction scheme describing the synthesis of 2'-deoxy-2'-amino nucleosides, 2'-deoxy-2'-amino C-nucleosides, 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleosides, 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleosides, nucleoside phosphoramidites and C-nucleoside phosphoramidites by the method of this invention.

Figure 2 is a diagrammatic representation of a generalized reaction scheme describing the synthesis of 2'-O-silyl nucleoside phosphoramidites and 2'-O-silyl C-nucleoside phosphoramidites by the method of this invention.

Figure 3 is a diagrammatic representation of a scheme involved in the synthesis of a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl cytidine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**8**) and 2'-deoxy-2'-amino cytidine (**9**) by the method of this invention.

Figure 4 is a diagrammatic representation of a scheme involved in the synthesis of a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl uridine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**16**) and 2'-deoxy-2'-amino uridine (**17**) by the method of this invention.

Figure 5 is a diagrammatic representation of a scheme involved in the synthesis of a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**25**) and 2'-deoxy-2'-amino adenosine (**26**) by the method of this invention.

Figure 6 is a diagrammatic representation of a scheme involved in the synthesis of a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**36**) and 2'-deoxy-2'-amino guanosine (**37**) by the method of this invention.

Figure 7 is a diagrammatic representation of a scheme involved in the synthesis of 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetyl cytidine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**43**) by the method of this invention.

Figure 8 is a diagrammatic representation of a scheme involved in the synthesis of 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl uridine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**48**) by the method of this invention.

Figure 9 is a diagrammatic representation of a scheme involved in the synthesis of 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N6-benzoyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**54**) by the method of this invention.

Figure 10 is a diagrammatic representation of a scheme involved in the synthesis of 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N2-isobutyryl guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**60**) by the method of this invention.

Figure 11 is a diagrammatic representation of a scheme involved in the synthesis of 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-methyl-N2-isobutyryl guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**69**) and 2'-O-methyl guanosine (**70**) by the method of this invention.

Figure 12 is a diagrammatic representation of a competing elimination reaction that occurs, for example, in step IV of figure 3 and in step III in figures 4 and 5.

Figure 13 is a diagrammatic representation of a scheme involved in the synthesis of 2'-O-methyl adenosine (**75**) by the method of this invention. The method of synthesis shown in Figure 13 can be used to synthesize 2'-O-methyl phosphoramidites for oligonucleotide synthesis and other 2'-O-methyl derivatives.

Figure 14 is a diagrammatic representation of a scheme involved in the synthesis of 2'-O-methyl adenosine (**75**) by the method of this invention using N6-imidazole adenosine intermediates. The method of synthesis shown in Figure 14 can be used to synthesize 2'-O-methyl phosphoramidites for oligonucleotide synthesis and other 2'-O-methyl derivatives.

Figure 15 is a diagrammatic representation of a scheme involved in the synthesis of 1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol derivatives by methods of this invention. The method of synthesis shown in Figure 15 can be used to synthesize 1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol phosphoramidites and 1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol succinates for use in oligonucleotide synthesis.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The term "nucleoside" as used herein refers to a heterocyclic nitrogenous base, particularly a purine or pyrimidine, in an N-glycosidic linkage with a sugar, particularly a pentose. Nucleosides include both L- and D- nucleoside isomers.

The term "C-nucleoside" as used herein refers to a heterocyclic or aromatic group or aglycon, in C-glycosidic linkage with a sugar, particularly a pentose. C-nucleosides include both L- and D- C-nucleoside isomers.

The term "ribofuranosyl nucleoside" as used herein refers to a nucleoside or nucleoside analog comprising a 2'-hydroxyl group in a L- or D-beta-ribofuranosyl configuration.

The term "arabinofuranosyl nucleoside" as used herein refers to a nucleoside or nucleoside analog comprising a 2'-hydroxyl group in a L- or D-beta-arabinofuranosyl configuration.

The term "nucleophile" as used herein refers to a basic, electron-rich reagent that contains a lone pair of electrons and forms a new bond to a carbon atom. Nucleophiles can be anions or neutrally charged. Examples include, but are not limited to, carbanions, oxygen anions, halide anions, sulfur anions, nitrogen anions, nitrogen bases, alcohols, water and thiols.

The term "leaving group" as used herein refers to a weakly basic chemical entity that readily releases carbon, and takes a lone pair of electrons from said carbon atom. Examples include, but are not limited to, triflates, nosylates, brosylates, p-toluene sulfonates, trifluoroacetates, and mesylates.

The term "hindered base" as used herein refers to a weakly nucleophilic, strongly basic amine base.

The term "protected 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside" as used herein refers to a 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside that comprises protecting groups. The protecting groups are used to prevent undesirable side reactions with reactive groups present in the nucleoside, thereby allowing selective reaction at the desired location within the nucleoside of interest. Protecting groups are readily introduced and removed; both reactions occurring in high yield. For example, protection of nucleic acid base exocyclic amines with acyl groups, or protection of nucleoside 5',3'-hydroxyls with a di-O-tetraisopropyldisiloxy or di-tert-butylsilanediyl group prevents undesirable reactions at these locations, thereby allowing selective reaction at the 2'-hydroxyl of the target nucleoside.

The term "protected 1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside" as used herein refers to a 1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside that comprises protecting groups. The protecting groups are used to prevent undesirable side reactions with reactive groups present in the nucleoside, thereby allowing selective reaction at the desired location within the nucleoside of interest. Protecting groups are readily introduced and removed; both reactions occurring in high yield. For example, protection of nucleic acid base exocyclic amines with acyl groups, or protection of nucleoside 5',3'-hydroxyls with a di-O-tetraisopropyldisiloxy or di-tert-butylsilanediyl group prevents undesirable reactions at these locations, thereby allowing selective reaction at the 2'-hydroxyl of the target C-nucleoside.

The terms "5',3'-cyclic silyl protecting group" or "5',3'-bridging silyl protecting group" or "simultaneous protection of 5' and 3' hydroxyls" as used herein refers to a protecting group that selectively protects both the 5' and 3' positions of a nucleoside or C-nucleoside via formation of a bridging intranucleoside silyl ether linkage between the 5'-hydroxyl and 3'-hydroxyl groups of the nucleoside or C-nucleoside. Such bridging groups include, but are not limited to di-O-tetraisopropyldisiloxy or di-tert-butylsilanediyl groups.

The term "2'-O-silyl" as used herein refers to a substituted silyl ether at the 2'-position of a nucleoside or C-nucleoside, for example, a 2'-O-tert-butyldimethylsilyl group.

The term "silylation" as used herein refers to the process of introducing a silyl, or silicon containing, group. Silyl groups include, but are not limited to tert-butyldimethylsilyl (TBDMS), triisopropylsilyl (TIPS), triethylsilyl (TES), trimethylsilyl (TMS), tert-butyldiphenylsilyl (TBDPS). The term "cyclic silylation" refers to the process of introducing a bridging silyl group, for example, a di-O-tetraisopropyldisiloxy or di-tert-butylsilanediyl group.

The term "desilylation" as used herein refers to the process of removing a silyl, or silicon containing, group.

The term "di-alkylsilanediyl" as used herein refers to a dialkyl-substituted silyl group, for example a di-*tert*-butylsilanediyl group.

The term "phosphitylating reagent" as used herein refers to a reagent used to introduce a phosphoramidite moiety.

The term "transient protection" as used herein refers to the practice of masking one or more sugar hydroxyl groups of a nucleoside or C-nucleoside with a protecting group, for example through formation of a trimethylsilyl ether, prior to the introduction of a nucleic acid

base protecting group, for example an acyl group, followed by the hydrolysis of the protecting group(s) to reveal the free hydroxyls.

The term "nucleic acid base protection" as used herein refers to the introduction of an exocyclic amine protecting group, for example an acyl or formamide group, on the nucleic acid base of a nucleoside.

The term "5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis" or "acid labile protecting moiety" refers to a protecting group, such as the dimethoxytrityl, monomethoxytrityl, and/or trityl groups or other protecting groups, that can be used in a solid phase or solution phase oligonucleotide synthesis.

The term "acyl group" as used herein refers to a chemical entity comprising the general formula R-C(O)- where R represents any aliphatic, alicyclic, or aromatic group and C(O) represents a carbonyl.

The term "acylation" as used herein refers to any process whereby an acid, acid halide or acid anhydride is used to convert a hydroxyl group into an ester, or an amine into an amide.

The term "depyrimidination" as used herein refers to cleavage of a nucleoside C-N glycosidic bond between a pyrimidine base and a nucleosidic sugar component.

The term "succinate moiety" as used herein refers to a chemical moiety comprising at one or more succinyl groups, including any salts thereof, for example triethylamine salts.

The term "phosphoramidite moiety" as used herein refers to a nitrogen containing trivalent phosphorous derivative, for example, a 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite.

The term "alkyl" as used herein refers to a saturated aliphatic hydrocarbon, including straight-chain, branched-chain "isoalkyl", and cyclic alkyl groups. The term "alkyl" also comprises alkoxy, alkyl-thio, alkyl-thio-alkyl, alkoxyalkyl, alkylamino, alkenyl, alkynyl, alkoxy, cycloalkenyl, cycloalkyl, cycloalkylalkyl, heterocycloalkyl, heteroaryl, C_1-C_6 hydrocarbyl, aryl or substituted aryl groups. Preferably, the alkyl group has 1 to 12 carbons. More preferably it is a lower alkyl of from 1 to 7 carbons, more preferably 1 to 4 carbons. The alkyl group can be substituted or unsubstituted. When substituted, the substituted group(s) preferably comprise hydroxy, oxy, thio, amino, nitro, cyano, alkoxy, alkyl-thio, alkyl-thio-alkyl, alkoxyalkyl, alkylamino, silyl, alkenyl, alkynyl, alkoxy, cycloalkenyl, cycloalkyl, cycloalkylalkyl, heterocycloalkyl, heteroaryl, C_1-C_6 hydrocarbyl, aryl or substituted aryl groups. The term "alkyl" also includes alkenyl groups containing at least one

carbon-carbon double bond, including straight-chain, branched-chain, and cyclic groups. Preferably, the alkenyl group has 2 to 12 carbons. More preferably. it is a lower alkenyl of from 2 to 7 carbons, even more preferably 2 to 4 carbons. The alkenyl group can be substituted or unsubstituted. When substituted, the substituted group(s) preferably comprise hydroxy, oxy, thio, amino, nitro, cyano, alkoxy, alkyl-thio, alkyl-thio-alkyl, alkoxyalkyl, alkylamino, silyl, alkenyl, alkynyl, alkoxy, cycloalkenyl, cycloalkyl, cycloalkylalkyl, heterocycloalkyl, heteroaryl, C_1-C_6 hydrocarbyl, aryl or substituted aryl groups. The term "alkyl" also includes alkynyl groups containing at least one carbon-carbon triple bond, including straight-chain, branched-chain, and cyclic groups. Preferably, the alkynyl group has 2 to 12 carbons. More preferably it is a lower alkynyl of from 2 to 7 carbons, more preferably 2 to 4 carbons. The alkynyl group can be substituted or unsubstituted. When substituted the substituted group(s) preferably comprise hydroxy, oxy, thio, amino, nitro, cyano, alkoxy, alkyl-thio, alkyl-thio-alkyl, alkoxyalkyl, alkylamino, silyl, alkenyl, alkynyl, alkoxy, cycloalkenyl, cycloalkyl, cycloalkylalkyl, heterocycloalkyl, heteroaryl, C_1-C_6 hydrocarbyl, aryl or substituted aryl groups. Alkyl groups or moieties of the invention can also include aryl, alkylaryl, carbocyclic aryl, heterocyclic aryl, amide and ester groups. The preferred substituent(s) of aryl groups are halogen, trihalomethyl, hydroxyl, SH, OH, cyano, alkoxy, alkyl, alkenyl, alkynyl, and amino groups. An "alkylaryl" group refers to an alkyl group (as described above) covalently joined to an aryl group (as described above). Carbocyclic aryl groups are groups wherein the ring atoms on the aromatic ring are all carbon atoms. The carbon atoms are optionally substituted. Heterocyclic aryl groups are groups having from 1 to 3 heteroatoms as ring atoms in the aromatic ring and the remainder of the ring atoms are carbon atoms. Suitable heteroatoms include oxygen, sulfur, and nitrogen, and include furanyl, thienyl, pyridyl, pyrrolyl, N-lower alkyl pyrrolo, pyrimidyl, pyrazinyl, imidazolyl and the like, all optionally substituted. An "amide" refers to an -C(O)-NH-R, where R is either alkyl, aryl, alkylaryl or hydrogen. An "ester" refers to an -C(O)-OR', where R is either alkyl, aryl, alkylaryl or hydrogen.

The term "alkanoyl" as used herein refers to an alkyl group attached to the parent molecular moiety through a carbonyl group.

The term "alkoxyalkyl" as used herein refers to an alkyl-O-alkyl ether, for example methoxyethyl or ethoxymethyl.

The term "alkyl-thio-alkyl" as used herein refers to an alkyl-S-alkyl thioether, for example methylthiomethyl or methylthioethyl.

The term "amino" as used herein refers to a nitrogen containing group as is known in the art derived from ammonia by the replacement of one or more hydrogen radicals by

organic radicals. For example, the terms "aminoacyl" and "aminoalkyl" refer to specific N-substituted organic radicals with acyl and alkyl substituent groups respectively.

The term "amination" as used herein refers to a process in which an amino group or substituted amine is introduced into an organic molecule.

The term "exocyclic amine protecting moiety" as used herein refers to a nucleobase amino protecting group compatible with oligonucleotide synthesis, for example an acyl or amide group.

The term "silylating reagent" as used herein refers to a chemical reagent used to introduce a silyl group to a compound.

The term "selective desilylation" as used herein refers to the selective removal of one silyl group from a compound in the presence of another silyl group.

The term "alkenyl" as used herein refers to a straight or branched hydrocarbon of a designed number of carbon atoms containing at least one carbon-carbon double bond. Examples of "alkenyl" include vinyl, allyl, and 2-methyl-3-heptene.

The term "alkoxy" as used herein refers to an alkyl group of indicated number of carbon atoms attached to the parent molecular moiety through an oxygen bridge. Examples of alkoxy groups include, for example, methoxy, ethoxy, propoxy and isopropoxy.

The term "alkynyl" as used herein refers to a straight or branched hydrocarbon of a designed number of carbon atoms containing at least one carbon-carbon triple bond. Examples of "alkynyl" include propargyl, propyne, and 3-hexyne.

The term "aryl" as used herein refers to an aromatic hydrocarbon ring system containing at least one aromatic ring. The aromatic ring may optionally be fused or otherwise attached to other aromatic hydrocarbon rings or non-aromatic hydrocarbon rings. Examples of aryl groups include, for example, phenyl, naphthyl, 1,2,3,4-tetrahydronaphthalene and biphenyl. Preferred examples of aryl groups include phenyl and naphthyl.

The term "cycloalkenyl" as used herein refers to a C_3-C_8 cyclic hydrocarbon containing at least one carbon-carbon double bond. Examples of cycloalkenyl include cyclopropenyl, cyclobutenyl, cyclopentenyl, cyclopentadiene, cyclohexenyl, 1,3-cyclohexadiene, cycloheptenyl, cycloheptatrienyl, and cyclooctenyl.

The term "cycloalkyl" as used herein refers to a C_3-C_8 cyclic hydrocarbon. Examples of cycloalkyl include cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl and cyclooctyl.

The term "cycloalkylalkyl," as used herein, refers to a C3-C7 cycloalkyl group attached to the parent molecular moiety through an alkyl group, as defined above. Examples of cycloalkylalkyl groups include cyclopropylmethyl and cyclopentylethyl.

The terms "halogen" or "halo" as used herein refers to indicate fluorine, chlorine, bromine, and iodine.

The term "heterocycloalkyl," as used herein refers to a non-aromatic ring system containing at least one heteroatom selected from nitrogen, oxygen, and sulfur. The heterocycloalkyl ring can be optionally fused to or otherwise attached to other heterocycloalkyl rings and/or non-aromatic hydrocarbon rings. Preferred heterocycloalkyl groups have from 3 to 7 members. Examples of heterocycloalkyl groups include, for example, piperazine, morpholine, piperidine, tetrahydrofuran, pyrrolidine, and pyrazole. Preferred heterocycloalkyl groups include piperidinyl, piperazinyl, morpholinyl, and pyrolidinyl.

The term "heteroaryl" as used herein refers to an aromatic ring system containing at least one heteroatom selected from nitrogen, oxygen, and sulfur. The heteroaryl ring can be fused or otherwise attached to one or more heteroaryl rings, aromatic or non-aromatic hydrocarbon rings or heterocycloalkyl rings. Examples of heteroaryl groups include, for example, pyridine, furan, thiophene, 5,6,7,8-tetrahydroisoquinoline and pyrimidine. Preferred examples of heteroaryl groups include thienyl, benzothienyl, pyridyl, quinolyl, pyrazinyl, pyrimidyl, imidazolyl, benzimidazolyl, furanyl, benzofuranyl, thiazolyl, benzothiazolyl, isoxazolyl, oxadiazolyl, isothiazolyl, benzisothiazolyl, triazolyl, tetrazolyl, pyrrolyl, indolyl, pyrazolyl, and benzopyrazolyl.

The term "C_1-C_6 hydrocarbyl" as used herein refers to straight, branched, or cyclic alkyl groups having 1-6 carbon atoms, optionally containing one or more carbon-carbon double or triple bonds. Examples of hydrocarbyl groups include, for example, methyl, ethyl, propyl, isopropyl, n-butyl, sec-butyl, tert-butyl, pentyl, 2-pentyl, isopentyl, neopentyl, hexyl, 2-hexyl, 3-hexyl, 3-methylpentyl, vinyl, 2-pentene, cyclopropylmethyl, cyclopropyl, cyclohexylmethyl, cyclohexyl and propargyl. When reference is made herein to C_1-C_6 hydrocarbyl containing one or two double or triple bonds it is understood that at least two carbons are present in the alkyl for one double or triple bond, and at least four carbons for two double or triple bonds.

The term "nitrogen protecting group," as used herein, refers to groups known in the art that are readily introduced on to and removed from a nitrogen. Examples of nitrogen protecting groups include Boc, Cbz, benzoyl, and benzyl. See also "Protective Groups in Organic Synthesis", 3rd Ed., Greene, T. W. and related publications.

Non-toxic pharmaceutically acceptable salts include, but are not limited to salts of inorganic acids such as hydrochloric, sulfuric, phosphoric, diphosphoric, hydrobromic, and nitric or salts of organic acids such as formic, citric, malic, maleic, fumaric, tartaric, succinic, acetic, lactic, methanesulfonic, p-toluenesulfonic, 2-hydroxyethylsulfonic, salicylic and stearic. Similarly, pharmaceutically acceptable cations include, but are not limited to sodium, potassium, calcium, aluminum, lithium and ammonium. Those skilled in the art will recognize a wide variety of non-toxic pharmaceutically acceptable addition salts. The present invention also encompasses prodrugs of the compounds of Formulae I-XVII.

The present invention also encompasses the acylated prodrugs of the compounds of Formulae I-XVII. Those skilled in the art will recognize various synthetic methodologies, which can be employed to prepare non-toxic pharmaceutically acceptable addition salts and acylated prodrugs of the compounds encompassed by Formulae I-XVII.

The present invention also provides tritium labeled probes derived from the compounds of Formulae I-XVII. Tritium labeled probe compounds are also conveniently prepared catalytically via platinum-catalyzed exchange in tritiated acetic acid, acid-catalyzed exchange in tritiated trifluoroacetic acid, or heterogeneous-catalyzed exchange with tritium gas. Such preparations are also conveniently carried out as a custom radiolabeling by any of the suppliers listed in the preceding paragraph. In addition, tritium can also be introduced by tritium-halogen exchange with tritium gas, transition metal catalyzed tritium gas reduction of unsaturated bonds, or sodium borohydride reduction of ketones, aldehydes, and imines.

The compounds of this invention can contain one or more asymmetric carbon atoms, so that the compounds can exist in different stereoisomeric forms. These compounds can be, for example, racemates, chiral non-racemic or diastereomers. In these situations, the single enantiomers, i.e., optically active forms, can be obtained by asymmetric synthesis or by resolution of the racemates. Resolution of the racemates can be accomplished, for example, by conventional methods such as crystallization in the presence of a resolving agent; chromatography, using, for example a chiral HPLC column; or derivatizing the racemic mixture with a resolving reagent to generate diastereomers, separating the diastereomers via chromatography, and removing the resolving agent to generate the original compound in

enantiomerically enriched form. Any of the above procedures can be repeated to increase the enantiomeric purity of a compound.

When the compounds described herein contain olefinic double bonds or other centers of geometric asymmetry, and unless otherwise specified, it is intended that the compounds include the cis, trans, Z- and E- configurations. Likewise, all tautomeric forms are also intended to be included.

The starting materials and various intermediates can be obtained from commercial sources, prepared from commercially available organic compounds, or prepared using well-known synthetic methods.The present invention also encompasses the prodrugs of the compounds of Formulae I-XVII. Those skilled in the art will recognize various synthetic methodologies that can be employed to prepare non-toxic pharmaceutically acceptable prodrugs of the compounds encompassed by Formulae I-XVII. Those skilled in the art will recognize a wide variety of non-toxic pharmaceutically acceptable solvates, such as water, ethanol, mineral oil, vegetable oil, and dimethylsulfoxide.

The compounds of general Formulae I-XVII can be administered orally, topically, parenterally, by inhalation or spray or rectally in dosage unit formulations containing conventional non-toxic pharmaceutically acceptable carriers, adjuvants and vehicles. The term parenteral as used herein includes percutaneous, subcutaneous, intravascular (e.g., intravenous), intramuscular, or intrathecal injection or infusion techniques and the like. In addition, there is provided a pharmaceutical formulation comprising a compound of general Formulae I-XVII and a pharmaceutically acceptable carrier. One or more compounds of general Formulae I-XVII can be present in association with one or more non-toxic pharmaceutically acceptable carriers and/or diluents and/or adjuvants, and if desired other active ingredients. The pharmaceutical compositions containing compounds of general Formulae I-XVII may be in a form suitable for oral use, for example, as tablets, troches, lozenges, aqueous or oily suspensions, dispersible powders or granules, emulsion, hard or soft capsules, or syrups or elixirs.

Compositions intended for oral use can be prepared according to any method known to the art for the manufacture of pharmaceutical compositions and such compositions may contain one or more such sweetening agents, flavoring agents, coloring agents or preservative agents in order to provide pharmaceutically elegant and palatable preparations. Tablets contain the active ingredient in admixture with non-toxic pharmaceutically acceptable excipients that are suitable for the manufacture of tablets. These excipients can be for example, inert diluents, such as calcium carbonate, sodium carbonate, lactose, calcium

phosphate or sodium phosphate; granulating and disintegrating agents, for example, corn starch, or alginic acid; binding agents, for example starch, gelatin or acacia, and lubricating agents, for example magnesium stearate, stearic acid or talc. The tablets can be uncoated or they can be coated by known techniques. In some cases such coatings can be prepared by known techniques to delay disintegration and absorption in the gastrointestinal tract and thereby provide a sustained action over a longer period. For example, a time delay material such as glyceryl monosterate or glyceryl distearate may be employed.

Formulations for oral use can also be presented as hard gelatin capsules wherein the active ingredient is mixed with an inert solid diluent, for example, calcium carbonate, calcium phosphate or kaolin, or as soft gelatin capsules wherein the active ingredient is mixed with water or an oil medium, for example peanut oil, liquid paraffin or olive oil.

Aqueous suspensions contain the active materials in admixture with excipients suitable for the manufacture of aqueous suspensions. Such excipients are suspending agents, for example, sodium carboxymethylcellulose, methylcellulose, hydropropyl-methylcellulose, sodium alginate, polyvinylpyrrolidone, gum tragacanth and gum acacia; dispersing or wetting agents may be a naturally-occurring phosphatide, for example, lecithin, or condensation products of an alkylene oxide with fatty acids, for example polyoxyethylene stearate, or condensation products of ethylene oxide with long chain aliphatic alcohols, for example, heptadecaethyleneoxycetanol, or condensation products of ethylene oxide with partial esters derived from fatty acids and a hexitol such as polyoxyethylene sorbitol monooleate, or condensation products of ethylene oxide with partial esters derived from fatty acids and hexitol anhydrides, for example polyethylene sorbitan monooleate. The aqueous suspensions may also contain one or more preservatives, for example ethyl, or n-propyl p-hydroxybenzoate, one or more coloring agents, one or more flavoring agents, and one or more sweetening agents, such as sucrose or saccharin.

Oily suspensions can be formulated by suspending the active ingredients in a vegetable oil, for example arachis oil, olive oil, sesame oil or coconut oil, or in a mineral oil such as liquid paraffin. The oily suspensions can contain a thickening agent, for example beeswax, hard paraffin or cetyl alcohol. Sweetening agents and flavoring agents can be added to provide palatable oral preparations. These compositions may be preserved by the addition of an anti-oxidant such as ascorbic acid.

Dispersible powders and granules suitable for preparation of an aqueous suspension by the addition of water provide the active ingredient in admixture with a dispersing or wetting agent, suspending agent and one or more preservatives. Suitable dispersing or wetting agents

or suspending agents are exemplified by those already mentioned above. Additional excipients, for example, sweetening, flavoring and coloring agents, can also be present.

Pharmaceutical compositions of the invention can also be in the form of oil-in-water emulsions. The oily phase can be a vegetable oil or a mineral oil or mixtures of these. Suitable emulsifying agents can be naturally-occurring gums, for example, gum acacia or gum tragacanth, naturally-occurring phosphatides, for example, soy bean, lecithin, and esters or partial esters derived from fatty acids and hexitol, anhydrides, for example, sorbitan monooleate, and condensation products of the said partial esters with ethylene oxide, for example polyoxyethylene sorbitan monooleate. The emulsions can also contain sweetening and flavoring agents.

Syrups and elixirs can be formulated with sweetening agents, for example, glycerol, propylene glycol, sorbitol, glucose or sucrose. Such formulations can also contain a demulcent, a preservative and flavoring and coloring agents. The pharmaceutical compositions can be in the form of a sterile injectable aqueous or oleaginous suspension. This suspension can be formulated according to the known art using those suitable dispersing or wetting agents and suspending agents that have been mentioned above. The sterile injectable preparation can also be a sterile injectable solution or suspension in a non-toxic parentally acceptable diluent or solvent, for example, as a solution in 1,3-butanediol. Among the acceptable vehicles and solvents that may be employed are water, Ringer's solution and isotonic sodium chloride solution. In addition, sterile, fixed oils are conventionally employed as a solvent or suspending medium. For this purpose any bland fixed oil may be employed including synthetic mono-or diglycerides. In addition, fatty acids such as oleic acid find use in the preparation of injectables.

The compounds of general Formulae I-XVII can also be administered in the form of suppositories, e.g., for rectal administration of the drug. These compositions can be prepared by mixing the drug with a suitable non-irritating excipient that is solid at ordinary temperatures but liquid at the rectal temperature and will therefore melt in the rectum to release the drug. Such materials include cocoa butter and polyethylene glycols.

Compounds of general Formulae I-XVII can be administered parenterally in a sterile medium. The drug, depending on the vehicle and concentration used, can either be suspended or dissolved in the vehicle. Advantageously, adjuvants such as local anesthetics, preservatives and buffering agents can be dissolved in the vehicle.

Dosage levels of the order of from about 0.1 mg to about 140 mg per kilogram of body weight per day are useful in the treatment of the above-indicated conditions (about 0.5 mg to

about 7 g per patient per day). The amount of active ingredient that can be combined with the carrier materials to produce a single dosage form will vary depending upon the host treated and the particular mode of administration. Dosage unit forms will generally contain between from about 1 mg to about 500 mg of an active ingredient.

It will be understood, however, that the specific dose level for any particular patient will depend upon a variety of factors including the activity of the specific compound employed, the age, body weight, general health, sex, diet, time of administration, route of administration, and rate of excretion, drug combination and the severity of the particular disease undergoing therapy.

For administration to non-human animals, the composition can also be added to the animal feed or drinking water. It may be convenient to formulate the animal feed and drinking water compositions so that the animal takes in a therapeutically appropriate quantity of the composition along with its diet. It may also be convenient to present the composition as a premix for addition to the feed or drinking water.

In one aspect of the present invention, a novel method for the synthesis of 2'-deoxy-2'-amino purine and pyrimidine nucleosides and C-nucleosides is provided. The novel method employs fewer synthetic steps, avoids the use of azides, and concomitantly introduces N-phthaloyl protection of the 2'-amine. In one embodiment, the present invention provides a method for synthesizing 2'-deoxy-2'amino and 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleosides. The method comprises the use of phthalimide and/or a substituted phthalimide as a nucleophile in the displacement of a leaving group present at the 2'-position of a 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside to generate a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside. Subsequent cleavage of the phthaloyl protection with a suitable base results in the formation of a 2'-deoxy-2'-amino nucleoside. The method can be scaled up to kilogram or greater quantities. In another embodiment, the present invention provides a method for the synthesis of 2'-deoxy-2'-amino and 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleosides. Similar to the above method, the synthesis comprises the use of phthalimide and/or a substituted phthalimide as a nucleophile in the displacement of a leaving group present at the 2'-position of a 1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside to generate a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleoside. Subsequent cleavage of the phthaloyl protection with a suitable base results in the formation of a 2'-deoxy-2'-amino C-nucleoside. The method can be scaled up to kilogram or greater quantities.

Thus, in a preferred embodiment, the invention provides a method for the synthesis of a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside, comprising the steps of:

(a) introducing a leaving group at the 2'-position of a 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside; and

(b) displacing the leaving group from step (a) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile to yield the 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside.

The 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside can be protected or unprotected.

Preferably, the leaving group at the 2' position of the 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside is introduced by contacting the 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside with a sulfonic anhydride or sulfonyl chloride. Suitable reagents include trifluoromethanesulfonic anhydride, trifluoromethanesulfonyl chloride, methanesulfonic anhydride, and methanesulfonyl chloride.

Also, the displacement step (step b) can occur in the presence of a hindered base. Preferably, the hindered base is DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), or 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine.

In another embodiment, the present invention provides a method for synthesizing a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside, comprising the step of contacting a 2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile under conditions suitable for formation of said 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside.

In yet another preferred embodiment, the invention provides a method for synthesizing a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside, comprising the step of contacting a 2'-methanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile under conditions suitable for formation of said 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside. In the above two methods, suitable conditions can include the use of a hindered base. Preferably, the hindered base is DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), and 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine hindered bases.

In any of the above described embodiments, preferred phthalimide or substituted phthalimide nucleophiles include phthalimide, 4,5-dichlorophthalimide, 3,4,5,6,-tetrachlorophthalamide, 3-nitrophthalamide, and 4-nitrophthalamide. Also, in any of the above described embodiments, preferred 1-β-D-arabinofuranosyl nucleosides include 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N4-acyl cytosine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl adenine, 5',3'-di-O-

tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl adenine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl uracil, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl guanine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-diphenylcarbamoyl guanine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-nitrophenyl guanine, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N4-acyl cytosine, 5',3'-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl uracil, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl adenine, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl adenine, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-nitrophenyl guanine, and 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-βD-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-diphenylcarbamoyl guanine.

In instances in which the 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside is protected by an acyl group (i.e., by exocyclic amine protection), the acyl group is acetyl, benzoyl, isobutyryl, phenoxyacetyl, phenylacetyl, tert-butylphenoxyacetyl, or tert-butylbenzoyl.

Also, in the synthesis of a guanosine nucleoside, preferably dimethylformamidine (DMF) protection is used to protect the N2 nitrogen.

Thus, in one embodiment, the present invention provides a method for synthesizing a phthaloyl protected 2'-deoxy-2'-amino nucleoside (2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside) including the steps of: (a) introducing a leaving group at the 2'-position of a 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside by contacting the 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside, which can be protected or unprotected, with a sulfonic anhydride or sulfonyl chloride such as trifluoromethanesulfonic anhydride, trifluoromethanesulfonyl chloride, methanesulfonic anhydride, or methanesulfonyl chloride, and (b) displacing the leaving group from step (a) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile such as 4,5-dichorophthalimide, 3,4,5,6-tetrachorophthalimide, 3-nitrophthalimide, and 4-nitrophthalimide, in the presence of a hindered base such as DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), and 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine or the equivalent thereof, to yield a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside.

In another embodiment of the present invention, a method for the synthesis of a 2'-deoxy-2'-amino nucleosides is provided. This method comprises the steps of:

(a) introducing a leaving group at the 2'-position of a 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside;

(b) displacing said leaving group from step (a) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile to yield a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside; and

(c) deprotecting said 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside to yield said 2'-deoxy-2'-amino nucleoside.

The 2'-position of the 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside can be protected or unprotected.

Preferably, the leaving group at the 2' position of the 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside is introduced by contacting the 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside with a sulfonic anhydride or sulfonyl chloride. Suitable reagents include trifluoromethanesulfonic anhydride, trifluoromethanesulfonyl chloride, methanesulfonic anhydride, and methanesulfonyl chloride.

The preferred phthalimide nucleophiles include phthalimide, or substituted phthalimide nucleophiles, such as 4,5-dichlorophthalimide, 3,4,5,6,-tetrachlorophthalamide, 3-nitrophthalamide, and 4-nitrophthalamide.

Also, preferred 1-β-D-arabinofuranosyl nucleosides include 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N4-acyl cytosine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl adenine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl adenine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl uracil, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl guanine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-diphenylcarbamoyl guanine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-nitrophenyl guanine, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N4-acyl cytosine, 5',3'-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl uracil, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl adenine, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl adenine, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-nitrophenyl guanine, and 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-βD-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-diphenylcarbamoyl guanine.

In instances in which the 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside is protected by an acyl group (i.e., by exocyclic amine protection), such as acetyl, benzoyl, isobutyryl, phenoxyacetyl, phenylacetyl, tert-butylphenoxyacetyl, or tert-butylbenzoyl.

Also, in the synthesis of guanosine nucleosides, preferably dimethylformamidine (DMF) protection is used to protect the N2 nitrogen.

The displacement of the leaving group can occur in the presence of a hindered base. Preferably, the hindered base is DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), or 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine.

The deprotection step of the inventive method can occur in the presence of a base. Preferably, the base is an alkylamine or hydrazine. Preferably, the alkylamine is methylamine, such as aqueous methylamine, ethanolic methylamine, methanolic methylamine. Preferably, the hydrazine is methyl hydrazine. Even more preferably, the methylamine is aqueous methylamine, such as about 30-40% aqueous methylamine.

The method can be used to synthesize nucleosides, nucleotides and oligonucleotides comprising at least one 2'-deoxy-2'amino nucleoside. In a preferred embodiment, the method for the synthesis of a 2'-deoxy-2'-amino nucleoside of the instant invention can be used to synthesize a 2'-deoxy-2'-amino nucleotide triphosphate.

In another embodiment, the invention provides a method for synthesizing a phthaloyl protected 2'-deoxy-2'-amino nucleoside phosphoramidite (2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside phosphoramidite) comprising the steps of:

(a) introducing a leaving group at the 2'-position of a 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside by contacting the 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside, which can be protected or unprotected, with a sulfonic anhydride or sulfonyl chloride,

(b) displacing the leaving group from step (a) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile in the presence of a hindered base to yield a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside,

(c) introducing a 5'-protecting group to provide selective protection of the 5'-hydroxyl, and

(d) introducing a phosphoramidite group at the 3'-position of the 5'-protected-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside with a phosphitylating reagent.

Suitable sulfonic anhydride or sulfonyl chloride reagents include trifluoromethanesulfonic anhydride, trifluoromethanesulfonyl chloride, methanesulfonic anhydride, and methanesulfonyl chloride.

Suitable phthalimide or substituted phthalimides include phthalimide, 4,5-dichorophthalimide, 3,4,5,6-tetrachorophthalimide, 3-nitrophthalimide, and 4-nitrophthalimide. Also, suitable hindered bases include DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), and 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine or the equivalent thereof, to yield a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside.

An example of a suitable 5'-protecting group is a dimethoxytrityl group or an equivalent thereof.

An example of a suitable phosphitylating reagent is 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite.

In a preferred embodiment of the inventive method, the 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside synthesized in step (b) is deprotected with a source of fluoride ion, such as TEA•3HF (triethylamine trihydrofluoride), TBAF or the equivalent thereof, for the selective removal of a silyl ether or disilyl ether protecting group, such as 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl or 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxane protection, which can be present or absent, prior to step (c).

Preferred 1-β-D-arabinofuranosyl nucleosides include 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N4-acyl cytosine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl adenine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl adenine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl uracil, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl guanine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-diphenylcarbamoyl guanine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-nitrophenyl guanine, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N4-acyl cytosine, 5',3'-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl uracil, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl adenine, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl adenine, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-nitrophenyl guanine, and 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-βD-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-diphenylcarbamoyl guanine.

In instances in which the 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside is protected by an acyl group (i.e., by exocyclic amine protection), such as acetyl, benzoyl, isobutyryl, phenoxyacetyl, phenylacetyl, tert-butylphenoxyacetyl, or tert-butylbenzoyl.

Also, in the synthesis of guanosine phosphoramidites, preferably dimethylformamidine (DMF) protection is used to protect the N2 nitrogen.

In other embodiments of the present invention, methods for synthesizing a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleoside, a 2'-deoxy-2'-amino C-nucleoside, and a phthaloyl protected 2'-deoxy-2'-amino C-nucleoside phosphoramidite are provided.

The method for synthesizing a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleoside comprises:

(a) introducing a leaving group at the 2'-position of a 1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside, and,

(b) displacing the leaving group from step (a) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile in the presence of a hindered base, to yield the 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleoside.

The 2'-position of the 1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside can be protected or unprotected.

Preferably, the leaving group at the 2' position of the 1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside is introduced by contacting the 1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside with a sulfonic anhydride or sulfonyl chloride. Suitable reagents include trifluoromethanesulfonic anhydride, trifluoromethanesulfonyl chloride, methanesulfonic anhydride, or methanesulfonyl chloride.

Also, the displacement step can occur in the presence of a hindered base. Preferably, the hindered base is DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), or 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine.

In another embodiment, the present invention provides a method for synthesizing a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleoside, comprising the step of contacting a 2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile under conditions suitable for formation of said 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleoside.

In yet another embodiment, the invention provides a method for synthesizing a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleoside, comprising the step of contacting a 2'-methanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile under conditions suitable for formation of said 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-

nucleoside. In the above two methods, suitable conditions can include the use of a hindered base. Preferably, the hindered base is DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), or 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine.

In another embodiment of the present invention, a method for the synthesis of a 2'-deoxy-2'-amino C-nucleoside is provided. This method comprises the steps of:

(a) introducing a leaving group at the 2'-position of a 1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside;

(b) displacing said leaving group from step (a) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile to yield a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleoside; and

(c) deprotecting said 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleoside to yield said 2'-deoxy-2'-amino C-nucleoside.

The 2'-position of the 1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside can be protected or unprotected. Preferably, the leaving group at the 2' position of the 1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside is introduced by contacting the 1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside with a sulfonic anhydride or sulfonyl chloride. Suitable reagents include trifluoromethanesulfonic anhydride, trifluoromethanesulfonyl chloride, methanesulfonic anhydride, and methanesulfonyl chloride.

The displacement can occur in the presence of a hindered base. Preferably, the hindered base is DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), or 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine.

The deprotection can occur in the presence of a base. Preferably, the base is an alkylamine or hydrazine. Preferably, the alkylamine is methylamine, such as aqueous methylamine, ethanolic methylamine, methanolic methylamine. Preferably, the hydrazine is methyl hydrazine. Even more preferably, the methylamine is aqueous methylamine, such as about 30-40% aqueous methylamine.

The method can be used to synthesize C-nucleosides, C-nucleotides and C-oligonucleotides comprising at least one 2'-deoxy-2'amino nucleoside. In a preferred embodiment, the method for the synthesis of a 2'-deoxy-2'-amino C-nucleoside of the instant invention can be used to synthesize a 2'-deoxy-2'-amino C-nucleotide triphosphate.

In another embodiment, the invention provides a method for synthesizing a phthaloyl protected 2'-deoxy-2'-amino C-nucleoside phosphoramidite (2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside phosphoramidite) comprising the steps of:

(a) introducing a leaving group at the 2'-position of a 1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside by contacting the 1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside, which can be protected or unprotected, with a sulfonic anhydride or sulfonyl chloride,

(b) displacing the leaving group from step (a) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile in the presence of a hindered base to yield a 2'deoxy-2'N-phthaloyl C-nucleoside',

(c) introducing a 5'-protecting group to provide selective protection of the 5'-hydroxyl, and

(d) introducing a phosphoramidite group at the 3'-position of the 5'-protected-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl C-nucleoside with a phosphitylating reagent. Suitable sulfonic anhydride or sulfonyl chloride reagents in step (a) include trifluoromethanesulfonic anhydride, trifluoromethanesulfonyl chloride, methanesulfonic anhydride, and methanesulfonyl chloride.

Preferred phthalimide and substituted phthalimides include phthalimide, 4,5-dichorophthalimide, 3,4,5,6-tetrachorophthalimide, 3-nitrophthalimide, and 4-nitrophthalimide. Also, suitable hindered bases include DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), and 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine or the equivalent thereof, to yield a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside,

An example of a suitable 5'-protecting group is a dimethoxytrityl group or an equivalent thereof.

An example of a suitable phosphitylating reagent is 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite.

In one embodiment of the inventive method, the 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside synthesized from step (b) is deprotected with a source of fluoride ion, such as TEA•3HF (triethylamine trihydrofluoride), TBAF or the equivalent thereof, for the selective removal of

a silyl ether or disilyl ether protecting group, such as 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl or 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxane protection, which can be present or absent, prior to step (c).

In any of the above described embodiments involving methods of synthesizing C-nucleosides, preferred phthalimide and substituted phthalimide nucleophiles include phthalimide, 4,5-dichlorophthalimide, 3,4,5,6,-tetrachlorophthalamide, 3-nitrophthalamide, and 4-nitrophthalamide.

Also, in any of the above described embodiments involving methods of synthesizing C-nucleosides, preferred 1-β-D-arabinofuranosyl nucleosides include 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N4-acyl cytosine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl adenine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl adenine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl uracil, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl guanine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-diphenylcarbamoyl guanine, 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-nitrophenyl guanine, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N4-acyl cytosine, 5',3'-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl uracil, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl adenine, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl adenine, 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-nitrophenyl guanine, and 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-βD-arabinofuranosyl-N2-acyl-O6-diphenylcarbamoyl guanine.

In instances in which the 1-β-D-arabinofuranosyl C-nucleoside is protected by an acyl group (i.e., by exocyclic amine protection), such as acetyl, benzoyl, isobutyryl, phenoxyacetyl, phenylacetyl, tert-butylphenoxyacetyl, or tert-butylbenzoyl.

Also, in the synthesis of guanosine and guanosine phosphoramidites, preferably dimethylformamidine (DMF) protection is used to protect the N2 nitrogen.

In another embodiment of the present invention, a method for synthesizing a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl cytidine phosphoramidite is provided. For example, the present invention provides a method for synthesizing 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite), comprising the steps of:

(1) introducing an acyl group at the N^4 position of 1-β-D-arabinofuranosyl cytosine with an acylating agent, for example using acetic anhydride under conditions suitable for obtaining 1-β-D-arabinofuranosyl-N4-acetyl cytosine,

(2) introducing a protecting group for the simultaneous protection of the 5'-hydroxyl and 3'-hydroxyl groups of the product from step (1), for example using 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxane or di-tert-butylsilyl bis(trifluoromethanesulfonate) under conditions suitable for the isolation of 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N4-acetyl cytosine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N4-acetyl cytosine,

(3) introducing a leaving group at the 2'-position of the product of step (2), for example using triflic anhydride or triflyl chloride in the presence of dimethylaminopyridine (DMAP) and/or pyridine under conditions suitable for obtaining 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N4-acetyl cytosine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N4-acetyl cytosine,

(4) displacing the leaving group from the product of step (3) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile,

(5) deprotecting the product of step (4) with a source of fluoride ion, for example TEA·3HF, TBAF or the equivalent thereof for the selective removal of 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxane or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl protection under conditions suitable for the isolation of 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine,

(6) introducing a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (5), for example by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine, and

(7) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (6) with a phosphitylating reagent, for example using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In one embodiment, displacement of the leaving group can occur in the presence of a hindered base. For example, phthalimide can be used in combination with DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), and/or 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine or the equivalent thereof to yield 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine

In another embodiment, the invention provides another method for synthesizing a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl cytidine phosphoramidite, for example 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite), comprising the steps of:

(1) introducing protection of the 5'-hydroxyl and 3'-hydroxyl groups of a 1-β-D-arabinofuranosyl cytosine, for example using cyclic silylation with 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxane or di-tert-butylsilylbis(trifluoromethanesulfonate) under conditions suitable for the isolation of 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl cytosine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl cytosine,

(2) introducing a leaving group at the 2'-position of the product of step (1), for example, using triflic anhydride or triflyl chloride in the presence of dimethylaminopyridine (DMAP) and/or pyridine under conditions suitable for obtaining 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl cytosine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl cytosine,

(3) displacing the leaving group from the product of step (2) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile,

(4) introducing an acyl group at the N^4 position of the product of step (3) with an acylating agent, for example using acetic anhydride under conditions suitable for obtaining 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine,

(5) deprotecting the product of step (4) with a source of fluoride ion, for example TEA·3HF, TBAF or the equivalent thereof for the selective removal of 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxane or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl protection under conditions suitable for the isolation of 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine,

(6) introducing a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (5), for example, by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine, and

(7) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (6) with a phosphitylating reagent, for example, using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating 5'-O-

dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In another embodiment, the displacement of the leaving group can occur in the presence of a hindered base. For example, phthalimide can be used in combination with DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), and/or 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine or the equivalent thereof to yield 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl cytidine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl cytidine

In another embodiment, the invention provides a method for the synthesis of a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl uridine phosphoramidite. For example, the present invention provides a method for synthesizing 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl uridine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite), comprising the steps of:

(1) introducing protection of the 5'-hydroxyl and 3'-hydroxyl groups of a 1-β-D-arabinofuranosyl uracil, for example, using cyclic silylation with 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxane or di-tert-butylsilylbis(trifluoromethanesulfonate) under conditions suitable for the isolation of 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl uracil or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl uracil,

(2) introducing a leaving group at the 2'-position of the product of step (1), for example using triflic anhydride or triflyl chloride in the presence of dimethylaminopyridine (DMAP) and/or pyridine under conditions suitable for obtaining 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl uracil or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl uracil,

(3) displacing the leaving group from the product of step (2) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile,

(4) deprotecting the product of step (3) with a source of fluoride ion, for example TEA·3HF, TBAF or the equivalent thereof for the selective removal of 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxane or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl protection under conditions suitable for the isolation of 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl uridine,

(5) introducing a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (4), for example, by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride

under conditions suitable for obtaining 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl uridine, and

(6) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (5) with a phosphitylating reagent, for example using -2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl uridine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In one embodiment, the displacement of the leaving group can occur in the presence of a hindered base. For example phthalimide can be used in combination with DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), and/or 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine or the equivalent thereof to yield 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl uridine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl uridine,

In another embodiment, the invention provides a method for the chemical synthesis of a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl adenosine phosphoramidite. For example, the present invention provides a method for synthesizing 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N6-benzoyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite), comprising the steps of:

(1) introducing an acyl group at the N^6 position of 1-β-D-arabinofuranosyl adenine with an acylating agent, for example, using benzoyl chloride under conditions suitable for obtaining 1-β-D-arabinofuranosyl-N6-benzoyl adenine,

(2) introducing protection of the 5'-hydroxyl and 3'-hydroxyl groups of the product from step (a), for example using cyclic silylation with 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxane or di-tert-butylsilylbis(trifluoromethanesulfonate) under conditions suitable for the isolation of 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N6-benzoyl adenine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N6-benzoyl adenine,

(3) introducing a leaving group at the 2'-position of the product of step (2), for example, using triflic anhydride or triflyl chloride in the presence of dimethylaminopyridine (DMAP) and/or pyridine under conditions suitable for obtaining 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N6-benzoyl

adenine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N6-benzoyl adenine,

(4) displacing the leaving group from the product of step (3) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile,

(5) deprotecting the product of step (4) with a source of fluoride ion, for example, TEA·3HF, TBAF or the equivalent thereof for the selective removal of 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxane or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl protection under conditions suitable for the isolation of 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N6-benzoyl adenosine,

(6) introducing a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (5), for example, by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N6-benzoyl adenosine, and

(7) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (6) with a phosphitylating reagent, for example, using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N6-benzoyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In one embodiment, the displacement of the leaving group can occur in the presence of a hindered base. For example, phthalimide can be used in combination with DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), and/or 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine or the equivalent thereof to yield 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N6-benzoyl adenosine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N6-benzoyl adenosine

In another embodiment, the invention provides another method for synthesizing a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl adenosine phosphoramidite, for example, 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N6-benzoyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite). This method comprises the steps of:

(1) introducing a protecting group on the 5'-hydroxyl and 3'-hydroxyl groups of a 1-β-D-arabinofuranosyl adenine, for example, using cyclic silylation with 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxane or di-tert-butylsilylbis(trifluoromethanesulfonate) under conditions

suitable for the isolation of 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl adenine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl adenine,

(2) introducing a leaving group at the 2'-position of the product of step (1), for example, using triflic anhydride or triflyl chloride in the presence of dimethylaminopyridine (DMAP) and/or pyridine under conditions suitable for obtaining 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl adenine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl adenine,

(3) displacing the leaving group from the product of step (2) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile,

(4) introducing an acyl group at the N6 position of the product from step (3) with an acylating agent, for example, using benzoyl chloride under conditions suitable for obtaining 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N6-benzoyl adenosine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N6-benzoyl adenosine,

(5) deprotecting the product of step (4) with a source of fluoride ion, for example TEA·3HF, TBAF or the equivalent thereof for the selective removal of 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxane or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl protection under conditions suitable for the isolation of 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N6-benzoyl adenosine,

(6) introducing a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (5), for example, by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N6-benzoyl adenosine, and

(7) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (6) with a phosphitylating reagent, for example, using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N6-benzoyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In one embodiment, the displacement of the leaving group can take place in the presence of a hindered base. For example, phthalimide can be used in combination with DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), and/or 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine or the equivalent thereof to yield 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-

deoxy-2'-N-phthaloyl adenosine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl adenosine

In another embodiment, the invention provides a method for synthesizing a 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl guanosine phosphoramidite. For example, the present invention provides a method for synthesizing 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N2-isobutyryl guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite), comprising the steps of:

(1) introducing an acyl group at the N^2 position of 1-β-D-arabinofuranosyl guanine with an acylating agent, for example, using isobutyryl chloride under conditions suitable for obtaining 1-β-D-arabinofuranosyl-N2-isobutyryl guanine,

(2) introducing a protecting group on the 5'-hydroxyl and 3'-hydroxyl groups of the product from step (a), for example, using cyclic silylation with 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxane or di-tert-butylsilylbis(trifluoromethanesulfonate) under conditions suitable for the isolation of 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-isobutyryl guanine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-isobutyryl guanine,

(3) introducing a leaving group at the 2'-position of the product of step (2), for example, using triflic anhydride or triflyl chloride in the presence of dimethylaminopyridine (DMAP) and/or pyridine under conditions suitable for obtaining 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-isobutyryl guanine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-isobutyryl guanine,

(4) displacing the leaving group from the product of step (3) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile,

(5) deprotecting the product of step (4) with a source of fluoride ion, for example, TEA·3HF, TBAF or the equivalent thereof, for the selective removal of 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxane or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl protection under conditions suitable for the isolation of 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N2-isobutyryl guanosine,

(6) reacting the product of step (5) with 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N2-isobutyryl guanosine, and

(7) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (6) with a phosphitylating reagent, for example, using 2-cyanoethyl-N,N-

diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N2-isobutyryl guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In one embodiment, the displacement of the leaving group can take place in the presence of a hindered base. For example, phthalimide can be used in combination with DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), and/or 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine or the equivalent thereof to yield 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N2-isobutyryl guanine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N2-isobutyryl guanine

In another embodiment, the invention provides another method for synthesizing a 2'-deoxy-2'N-phthanoyl guanosine phosphoramidite, for example, 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N2-isobutyryl guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite), comprising the steps of:

(1) introducing a protecting group on the 5'-hydroxyl and 3'-hydroxyl groups of a 1-β-D-arabinofuranosyl guanine, for example, using cyclic silylation with 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxane or di-tert-butylsilylbis(trifluoromethanesulfonate) under conditions suitable for the isolation of 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl guanine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-1-β-D-arabinofuranosyl guanine,

(2) introducing a leaving group at the 2'-position of the product of step (1), for example, using triflic anhydride or triflyl chloride in the presence of dimethylaminopyridine (DMAP) and/or pyridine under conditions suitable for obtaining 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl guanine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl guanine,

(3) displacing the leaving group from the product of step (2) with a phthalimide or substituted phthalimide nucleophile,

(4) introducing an acyl group at the N^2 position of the product from step (3) with an acylating agent, for example, using isobutyryl chloride under conditions suitable for obtaining 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-isobutyryl guanosine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N2-isobutyryl guanosine,

(5) deprotecting the product of step (4) with a source of fluoride ion, for example TEA·3HF, TBAF or the equivalent thereof for the selective removal of 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxane or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl protection under conditions suitable for the isolation of 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N2-isobutyryl guanosine,

(6) introducing a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (e), for example, by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N2-isobutyryl guanosine, and

(7) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (f) with a phosphitylating reagent, for example, using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N2-isobutyryl guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In one embodiment, the displacement of the leaving group can take place in the presence of a hindered base. For example, phthalimide can be used in combination with DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene), DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-ene), Dabco (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane), and/or 2-tert-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine or the equivalent thereof to yield 5',3'-di-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl guanosine or 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl guanosine

In preferred embodiments, acylation can follow protection of the 5'-hydroxyl and 3'-hydroxyl groups of the 1-β-D-arabinofuranosyl nucleoside in the chemical synthesis of 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl cytidine nucleosides and nucleoside phosphoramidites, 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl adenosine nucleosides and nucleoside phosphoramidites, and 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl guanosine nucleosides and nucleoside phosphoramidites contemplated by the methods of the instant invention.

In additional embodiments, O6 protection of 1-β-D-arabinofuranosyl guanine can be effected either prior to or after acylation in the chemical synthesis of 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl guanosine nucleosides and nucleoside phosphoramidites and equivalents thereof contemplated by the methods of the instant invention, by using an O6 protecting group, such as a nitrophenyl or diphenylcarbamoyl group.

In a further embodiment, N2 protection of 1-β-D-arabinofuranosyl guanine can be effected with dimethylformamide (DMF) protection.

Preferably, in any of the above embodiments, the substituted phthalimide nucleophile is 4,5-dichlorophthalimide, 3,4,5,6-tetrachlorophthalimide, 3-nitrophthalimide, or 4-nitrophthalimide.

In another aspect of the present invention, methods for the preparation of 2'-O-silyl-nucleosides and 2'-O-silylnucleoside phosphoramidites are provided. The methods can be scaled up to kilogram or greater quantities.

In one embodiment, the method for synthesizing a 2'-O-silylnucleoside phosphoramidite comprises the steps of:

(1) introducing a 5',3'-cyclic silyl protecting group to a nucleoside, which can be a D- or L- nucleoside, for example, by using a disilylalkyl bis(trifluoromethanesulfonate) to form a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl) nucleoside,

(2) introducing a 2'-O-silyl protecting group via selective formation of a 2'-O-silyl ether, for example, by treatment of the product from step (1) with a substituted silyl chloride and/or silyl triflate, such as tert-butyldimethylsilyl chloride and tert-butyldimethylsilyl triflate, to form a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-silyl nucleoside,

(3) introducing nucleic acid base protection where necessary to the product of step (2), for example, by treatment of a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-silyl nucleoside with an acyl-chloride or acyl-anhydride,

(4) selectively desilylating the 5',3'-cyclic silyl ether from the product of step (3), for example, by treating the 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-silyl nucleoside with a source of fluoride ion, such as pyridine/HF, to obtain a 2'-O-silyl-nucleoside, such as a 2'-O-tert-butyldimethylsilyl nucleoside,

(5) introducing a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (4), for example, by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining a 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl nucleoside,

(6) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (5) with a phosphitylating reagent, for example, using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating a 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl nucleoside 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In one embodiment, the invention provides a method for synthesizing a 2'-O-silyl-nucleoside phosphoramidite comprising the steps of

(1) introducing nucleic acid base protection where necessary to a nucleoside, which can be a D or L nucleoside, for example by treating the nucleoside with an acyl-chloride or acyl-anhydride,

(2) introducing a 5',3'-cyclic silyl protecting group to the product of step (1), for example by using a disilylalkyl bis(trifluoromethanesulfonate) to form a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl) nucleoside,

(3) introducing a 2'-O-silyl protecting group via selective formation of a 2'-O-silyl ether, for example by treatment of the product from step (2) with a substituted silyl chloride and/or silyl triflate such as tert-butyldimethylsilyl chloride and tert-butyldimethylsilyl triflate, to form a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-silyl nucleoside,

(4) selectively desilylating the 5',3'-cyclic silyl ether from the product of step (3), for example by treating the 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-silyl nucleoside with a source of fluoride ion, such as pyridine/HF, to obtain a 2'-O-silyl-nucleoside such as a 2'-O-tert-butyldimethylsilyl nucleoside,

(5) introducing a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (4), for example, by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining a 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl nucleoside, and

(6) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (5) with a phosphitylating reagent, for example, using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating a 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl nucleoside 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In a preferred embodiment, the invention provides a method for synthesizing a 2'-O-silyl cytidine phosphoramidite, for example, 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetyl cytidine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite), comprising the steps of:

(1) introducing an acyl group at the N^4 position of cytidine with an acylating agent, for example, using acetic anhydride under conditions suitable for obtaining N4-acetyl cytidine,

(2) introducing protection of the 5'-hydroxyl and 3'-hydroxyl groups of the product from step (1), for example, using cyclic silylation with di-tert-butylsilylbis(trifluoromethanesulfonate) under conditions suitable for the isolation of 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-N4-acetyl cytidine,

(3) introducing a silyl protecting group at the 2'-position of the product of step (2), for example, using tert-butyldimethylsilyl chloride in the presence of imidazole and/or silver nitrate under conditions suitable for obtaining 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetyl cytidine,

(4) deprotecting the product of step (3) with a source of fluoride ion, for example, hydrogen fluoride-pyridine, tributylamine-hydrogen fluoride or the equivalent thereof for the selective removal of 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl protection under conditions suitable for the isolation of 2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetyl cytidine,

(5) introducing a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (4), for example by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetyl cytidine, and

(6) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (5) with a phosphitylating reagent, for example using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetyl cytidine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In another embodiment, the invention provides a method for synthesizing a 2'-O-silyl cytidine phosphoramidite, for example 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetyl cytidine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite), comprising the steps of:

(1) introducing protection of the 5'-hydroxyl and 3'-hydroxyl groups of cytidine, for example using cyclic silylation with di-tert-butylsilylbis(trifluoromethanesulfonate) under conditions suitable for the isolation of 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl cytidine,

(2) introducing a silyl protecting group at the 2'-position of the product of step (1), for example, using tert-butyldimethylsilyl chloride in the presence of imidazole and/or silver nitrate under conditions suitable for obtaining 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl cytidine,

(3) introducing an acyl group at the N^4 position of the product from step (2) with an acylating agent, for example using acetyl chloride under conditions suitable for obtaining 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetyl cytidine,

(4) deprotecting the product of step (3) with a source of fluoride ion, for example hydrogen fluoride-pyridine, tributylamine-hydrogen fluoride or the equivalent thereof for the selective removal of 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl protection under conditions suitable for the isolation of 2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetyl cytidine,

(5) introducing a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (4), for example, by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetyl cytidine, and

(6) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (5) with a phosphitylating reagent, for example, using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetyl cytidine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In another embodiment, the invention provides a method for synthesizing a 2'-O-silyl uridine phosphoramidite, for example, 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl uridine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite), comprising the steps of:

(1) introducing protection of the 5'-hydroxyl and 3'-hydroxyl groups of uridine, for example, using cyclic silylation with di-tert-butylsilylbis(trifluoromethanesulfonate) under conditions suitable for the isolation of 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl uracil,

(2) introducing a silyl protecting group at the 2'-position of the product of step (1), for example, using tert-butyldimethylsilyl chloride in the presence of imidazole and/or silver nitrate under conditions suitable for obtaining 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl uridine,

(3) deprotecting the product of step (2) with a source of fluoride ion, for example, hydrogen fluoride-pyridine, tributylamine-hydrogen fluoride or the equivalent thereof for the selective removal of 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl protection under conditions suitable for the isolation of 2'-O-tert-butyldimethylsilyl uridine,

(4) introducing a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (3), for example, by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride

under conditions suitable for obtaining 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl uridine, and

(5) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (4) with a phosphitylating reagent, for example, using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl uridine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In another embodiment, the invention provides a method for synthesizing a 2'-O-silyl adenosine phosphoramidite, for example, 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N6-benzoyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite), including the steps of:

(1) introducing protection of the 5'-hydroxyl and 3'-hydroxyl groups of adenosine, for example using cyclic silylation with di-tert-butylsilylbis(trifluoromethanesulfonate) under conditions suitable for the isolation of 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl adenosine,

(2) introducing a silyl protecting group at the 2'-position of the product of step (1), for example, using tert-butyldimethylsilyl chloride in the presence of imidazole and/or silver nitrate under conditions suitable for obtaining 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl adenosine,

(3) introducing an acyl group at the N6 position of the product from step (2) with an acylating agent, for example, using benzoyl chloride under conditions suitable for obtaining 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N6-benzoyl adenosine,

(4) deprotecting the product of step (3) with a source of fluoride ion, for example, hydrogen fluoride-pyridine, tributylamine-hydrogen fluoride or the equivalent thereof for the selective removal of 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl protection under conditions suitable for the isolation of 2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N6-benzoyl adenosine,

(5) introducing a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (4), for example, by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N6-benzoyl adenosine, and

(6) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (5) with a phosphitylating reagent, for example, using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating 5'-O-

dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N6-benzoyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In one embodiment, the invention features a method for synthesizing a 2'-O-silyl guanosine phosphoramidite, for example, 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N2-isobutyryl guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite), comprising the steps of:

(1) introducing protection of the 5'-hydroxyl and 3'-hydroxyl groups of guanosine, for example, using cyclic silylation with di-tert-butylsilylbis(trifluoromethanesulfonate) under conditions suitable for the isolation of 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl guanosine,

(2) introducing a silyl protecting group at the 2'-position of the product of step (1), for example, using tert-butyldimethylsilyl chloride in the presence of imidazole and/or silver nitrate under conditions suitable for obtaining 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl guanosine,

(3) introducing an acyl group at the N2 position of the product from step (2) with an acylating agent, for example, using isobutyryl chloride under conditions suitable for obtaining 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N2-isobutyryl guanosine,

(4) deprotecting the product of step (3) with a source of fluoride ion, for example, hydrogen fluoride-pyridine, tributylamine-hydrogen fluoride or the equivalent thereof for the selective removal of 5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl protection under conditions suitable for the isolation of 2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N2-isobutyryl guanosine,

(5) introducing a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (4), for example by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N2-isobutyryl guanosine, and

(6) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (5) with a phosphitylating reagent, for example, using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N2-isobutyryl guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In preferred embodiments, the synthesis of 2'-deoxy-2'-amino and 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside analogs contemplated by the instant invention is not limited to adenosine, cytidine, uridine, and guanosine nucleosides and their corresponding L-isomers,

but can encompass any number of nucleoside or C-nucleoside analogs, including but not limited to ribothymidine nucleoside, inosine nucleoside, purine nucleoside, 2,6-diaminopurine nucleoside, pyridin-4-one nucleoside, pyridin-2-one nucleoside, phenyl C-nucleosides, pseudouracil nucleosides, 2,4,6-trimethoxy benzene C-nucleosides, 3-methyl uracil nucleosides, dihydrouridine nucleoside, naphthyl C-nucleosides, aminophenyl C-nucleosides, 5-alkylcytidine nucleosides (*e.g.*, 5-methylcytidine), 5-alkyluridine nucleosides (*e.g.*, ribothymidine), 5-halouridine nucleosides (*e.g.*, 5-bromouridine). 6-azapyrimidine nucleosides, 6-alkylpyrimidine nucleosides (*e.g.* 6-methyluridine), propyne nucleosides, 4'-thio nucleosides, carbocyclic nucleosides, their corresponding L isomers and others.

In additional embodiments, the synthesis of 2-O-silyl nucleosides and 2'-O-silyl C-nucleosides contemplated by the instant invention includes but is not limited to nucleosides selected from the group comprising cytidine, uridine, adenosine, guanosine, inosine, L-cytidine, L-uridine, L-adenosine, L-guanosine, L-inosine, arabino-cytidine, arabino-uridine, arabino-adenosine, arabino-guanosine, arabino-inosine, L-arabino-cytidine, L-arabino-uridine, L-arabino-adenosine, L-arabino-guanosine, L-arabino-inosine, ribo-thymidine, arabino-thymidine, L-ribo-thymidine, and L-arabino-thymidine; C-nucleosides selected from the group comprising phenyl, naphthyl, aminophenyl, and 2,4,6-trimethoxybenzyl C-nucleosides and their corresponding L and arabino isomers.

In another embodiment, the method for synthesis of 2'-O-silyl-nucleosides and 2'-O-silyl-nucleoside phosphoramidites is used for the synthesis of 2'-O-silyl-D-ribofuranosyl nucleosides and 2'-O-silyl-D-ribofuranosyl nucleoside phosphoramidites, 2'-O-silyl-L-ribofuranosyl nucleosides and 2'-O-silyl-L-ribofuranosyl nucleoside phosphoramidites, 2'-O-silyl-D-arabinofuranosyl nucleosides and 2'-O-silyl-D-arabinofuranosyl nucleoside phosphoramidites and both 2'-O-silyl-L-arabinofuranose nucleosides and 2'-O-silyl-L-arabinofuranose nucleoside phosphoramidites.

The present invention also features a synthetic method for the preparation of 2'-O-silyl-C-nucleosides and 2'-O-silylC-nucleoside phosphoramidites. The method can be scaled up to kilogram or greater quantities. The method includes the steps of (1) introducing a 5',3'-cyclic silyl protecting group to a C-nucleoside, which can be a D or L C-nucleoside, for example by using a disilylalkyl bis(trifluoromethanesulfonate) to form a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl) C-nucleoside, and (2) introducing a 2'-O-silyl protecting group via selective formation of a 2'-O-silyl ether, for example by treatment of the product from step (1) with a substituted silyl chloride and/or silyl triflate such as tert-butyldimethylsilyl chloride and tert-butyldimethylsilyl triflate, to form a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-silyl C-nucleoside, and (3) introducing nucleic acid base protection where necessary to the product of step (2), for

example by treatment of a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-silyl C-nucleoside with an acyl-chloride or acyl-anhydride, and (4) selectively desilylating the 5',3'-cyclic silyl ether from the product of step (3), for example by treating the 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-silyl C-nucleoside with a source of fluoride ion, such as pyridine/HF, to obtain a 2'-O-silyl-C-nucleoside such as a 2'-O-tert-butyldimethylsilyl C-nucleoside, and (5) introducing a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (4), for example by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining a 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl C-nucleoside, and (6) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (5) with a phosphitylating reagent, for example using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating a 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl C-nucleoside 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In one embodiment, the invention features a method for the chemical synthesis of 2'-O-silyl-C-nucleosides and 2'-O-silyl-C-nucleoside phosphoramidites. The method can be scaled up to kilogram or greater quantities. The method includes the steps of (1) introducing nucleic acid base protection where necessary to a C-nucleoside, which can be a D or L C-nucleoside, for example by treating the C-nucleoside with an acyl-chloride or acyl-anhydride; (2) introducing a 5',3'-cyclic silyl protecting group to the product of step (1), for example, by using a disilylalkyl bis(trifluoromethanesulfonate) to form a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl) C-nucleoside; (3) introducing a 2'-O-silyl protecting group via selective formation of a 2'-O-silyl ether, for example by treatment of the product from step (2) with a substituted silyl chloride and/or silyl triflate such as tert-butyldimethylsilyl chloride and tert-butyldimethylsilyl triflate, to form a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-silyl C-nucleoside; (4) selectively desilylating the 5',3'-cyclic silyl ether from the product of step (3), for example, by treating the 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-silyl C-nucleoside with a source of fluoride ion, such as pyridine/HF, to obtain a 2'-O-silyl-C-nucleoside such as a 2'-O-tert-butyldimethylsilyl C-nucleoside; (5) introducing a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (4), for example, by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining a 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl C-nucleoside; and (6) introducing a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (5) with a phosphitylating reagent, for example using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating a 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl C-nucleoside 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In another embodiment, the method for synthesis of 2'-O-silyl-C-nucleosides and 2'-O-silyl-C-nucleoside phosphoramidites is used for the synthesis of 2'-O-silyl-D-ribofuranosyl C-nucleosides and 2'-O-silyl-D-ribofuranosyl C-nucleoside phosphoramidites, 2'-O-silyl-L-ribofuranosyl C-nucleosides and 2'-O-silyl-L-ribofuranosyl C-nucleoside phosphoramidites, 2'-O-silyl-D-arabinofuranosyl C-nucleosides and 2'-O-silyl-D-arabinofuranosyl C-nucleoside phosphoramidites and both 2'-O-silyl-L-arabinofuranose C-nucleosides and 2'-O-silyl-L-arabinofuranose C-nucleoside phosphoramidites.

The present invention also features a practical synthetic method for the preparation of 2'-O-methyl guanosine nucleosides and 2'-O-methyl guanosine nucleoside phosphoramidites. The method can be scaled up to kilogram or greater quantities. The method includes the steps of (1) introducing a 5',3'-cyclic silyl protecting group to a 2,6-diamino-9-(β-ribofuranosyl)purine with a disilylalkyl bis(trifluoromethanesulfonate) to form a 2,6-diamino-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-β-ribofuranosyl]purine; (2) methylation of a 2,6-diamino-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-β-ribofuranosyl]purine, for example, by treating the product of step (1) with methyl iodide in the presence of sodium hydride to yield 2,6-diamino-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-methyl-β-ribofuranosyl]purine; (3) introducing acyl protection at the N2 and N6 positions of the product from step (2), for example, by treating 2,6-diamino-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-methyl-β-ribofuranosyl]purine with an acyl chloride or anhydride, such as, isobutyryl chloride, to provide a N^2-N^6-2,6-diamino-diacyl-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-methyl-β-ribofuranosyl]purine; (4) selectively deacylating position N^6 of the product of step (3), for example, by treating 2,6-diamino-N^2-N^6-diacyl-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-methyl-β-ribofuranosyl]purine with TEA/MeOH to obtain 2,6-diamino-N^2-acyl-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-methyl-β-ribofuranosyl]purine; (5) chemically deaminating the N6-amine and desilylating the product of step (4), for example by treating 2,6-diamino-N^2-acyl-9-[5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-methyl-β-ribofuranosyl]purine with sodium nitrite/acetic acid followed by treatment with a source of fluoride ion, such as HF-pyridine to yield a N^2-acyl-2'-O-methyl guanosine; (6) introduction of a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (5), for example, by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining a N^2-acyl-5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-methyl guanosine; and (7) introduction of a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (6) with a phosphitylating reagent, for example using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating a N^2-acyl-5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-methyl guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

The present invention also features a practical synthetic method for the preparation of 2'-O-methyl adenosine nucleosides and 2'-O-methyl adenosine nucleoside phosphoramidites.

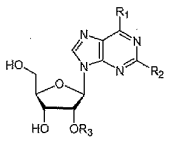
The method can be scaled up to kilogram or greater quantities. The method includes the steps of (1) introducing a 5',3'-cyclic silyl protecting group to adenosine with a disilylalkyl bis(trifluoromethanesulfonate) to form a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl) adenosine; (2) methylation of a 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl) adenosine, for example, by treating the product of step (1) with methyl iodide in the presence of sodium hydride to yield 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-methyl adenosine; (3) introducing acyl protection at the N6 position of the product from step (2), for example, by treating 5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-methyl adenosine with an acyl chloride or anhydride, such as, benzoyl chloride, to provide a N^6-acyl-5',3'-O-(di-alkylsilanediyl)-2'-O-methyl adenosine; (4) desilylating the product of step (3) by treatment with a source of fluoride ion, such as HF-pyridine to yield a N^6-acyl-2'-O-methyl adenosine; (5) introduction of a 5'-hydroxyl protecting group compatible with oligonucleotide synthesis to the product of step (4), for example, by using 4'-4'-dimethoxytrityl chloride under conditions suitable for obtaining a N^6-acyl-5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-methyl adenosine; and (6) introduction of a phosphoramidite moiety at the 3'-position of the product of step (5) with a phosphitylating reagent, for example using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite under conditions suitable for isolating a N^6-acyl-5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-methyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

The present invention also provides a practical method for the synthesis of 1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol phosphoramidites, including 3-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol-5-O-phosphoramidites. The method includes the steps of (1) depyrimidination of a 5'-O-protected thymidine derivative under conditions suitable for the isolation of a 5-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol; (2) introduction of an acid-labile protecting group at the C3 hyrdoxyl of the 5-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol under conditions suitable for the isolation of a 5-O-protected-3-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol; (3) selective 5-O-deprotection of the product of step (2) under conditions suitable for the isolation of a 3-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol; and (4) introducing a 5-O-phosphoramidite moiety to of the product of step (3) under conditions suitable for the isolation of a 3-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol-5-O-phosphoramidite.

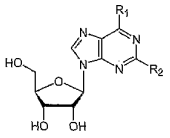
The present invention also provides a practical method for the synthesis of 1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol succinates, including 3-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol-5-O-succinates. The method includes the steps of (1) depyrimidination of a 5'-O-protected thymidine derivative under conditions suitable for the isolation of a 5-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol; (2) introduction of an acid-labile protecting group at the C3 hyrdoxyl of the 5-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-

pentitol under conditions suitable for the isolation of a 5-O-protected-3-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol; (3) selective 5-O-deprotection of the product of step (2) under conditions suitable for the isolation of a 3-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol; and (4) introducing a 5-O-succinate moiety to of the product of step (3) under conditions suitable for the isolation of a 3-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol-5-O-succinate.

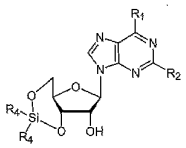
In one embodiment, the invention features a method for synthesizing a compound of Formula I,



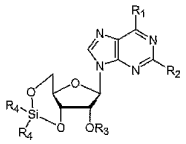
wherein each R_1 and R_2 independently comprise hydrogen, $NR_{10}R_{11}$, $(NR_{10}R_{11})$alkyl, alkyl, or halogen, wherein R_{10} and R_{11} independently comprise hydrogen, alkyl, alkanoyl, acyl, alkoxy, or arylalkyl optionally substituted with up to three groups independently comprising halogen, alkoxy, nitro, and alkyl, and R_3 independently comprises alkyl, alkoxyalkyl, alkyl-thio-alkyl, cyanoalkyl, or arylalkyl optionally substituted with up to three groups that are independently halogen, alkoxy, nitro, or cyanoalkyl, including the steps of: (a) introducing a 5',3'-bridging silyl protecting group to a compound of Formula II;



wherein each R_1 and R_2 is as described in Formula I, to yield a compound of Formula III;

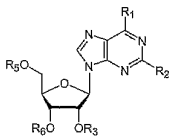


wherein each R_1 and R_2 is as described in Formula I and each R_4 independently comprises an alkyl, aryl or isoalkyl moiety; (b) alkylating the product of step (a) to yield a compound of Formula IV;



wherein each R_1, R_2 and R_3 is as defined in Formula I and R_4 is as defined in Formula III; and (c) deprotecting the product of step (b) to yield a compound of Formula I.

In another embodiment, the invention features a method for synthesizing a compound having Formula V,



R_1 and R_2 independently comprise hydrogen, $NR_{10}R_{11}$, $(NR_{10}R_{11})$alkyl, alkyl, or halogen, wherein R_{10} and R_{11} independently comprise hydrogen, alkyl, alkanoyl, acyl, alkoxy, or arylalkyl optionally substituted with up to three groups independently comprising halogen, alkoxy, nitro, and alkyl, and R_3 independently comprises alkyl, alkoxyalkyl, alkyl-thio-alkyl, cyanoalkyl, or arylalkyl optionally substituted with up to three groups independently comprising halogen, alkoxy, nitro, and cyanoalkyl, R_5 comprises an acid labile protecting moiety and R_6 comprises a phosphorous containing moiety including the steps of: (a)

introducing a 5',3'-bridging silyl protecting group to a compound of Formula II to yield a compound of Formula III; (b) alkylating the product of step (a) to yield a compound of Formula IV; (c) introducing at least one exocyclic amine protecting moiety to the product of step (b) if R_1 or R_2 in step (b) independently comprises an amino moiety; (d) deprotecting the product of step (c) to yield a compound of Formula I; and (e) introducing an acid labile protecting moiety followed by a phosphorous containing moiety to the product of step (d) to yield a compound of Formula V.

In another embodiment, R_4 of Formulae II and III of the invention comprises a *tert*-butyl moiety.

In another embodiment, R_1 of Formulae I-V of the invention comprises an amino moiety and R_2 of Formulae I-V of the invention comprises H.

In another embodiment, R_1 and R_2 of Formulae I-V of the invention each comprise an amino moiety.

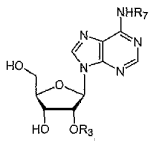
In another embodiment, R_1 of Formulae I-V of the invention comprises a chloro moiety and R_2 of Formulae I-V of the invention comprises H.

In one embodiment, the compound of Formula I comprises 2'-O-methyl adenosine.

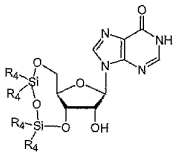
In another embodiment, the compound of Formula V of the invention comprises 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-methyl-N2-benzoyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In another embodiment, alkylation of the instant invention comprises alkylation with methyl iodide and sodium hydride.

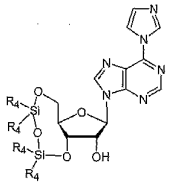
In one embodiment, the invention features method for synthesizing a compound having Formula VI,



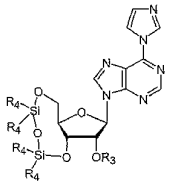
wherein R_3 comprises an alkyl, alkoxyalkyl, arylalkyl, alkyl-thio-alkyl, or cyanoalkyl moiety, and R_7 comprises an H or acyl moiety, including the steps of: (a) introducing a 5',3'-bridging silyl protecting group to inosine to yield a compound of Formula VII;



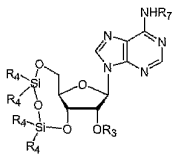
wherein each R_4 independently comprises an alkyl, aryl or isoalkyl moiety; (b) introducing an imidazole moiety to the product of step (a) to yield a compound of Formula VIII;



wherein each R_4 independently comprises an alkyl, aryl or isoalkyl moiety; (c) alkylating the product of step (b) to yield a compound of Formula IX;

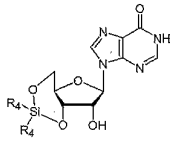


wherein each R_4 independently comprises an alkyl, aryl or isoalkyl moiety and R_3 is as defined in Formula VI; (d) aminating the product of step (c) to yield a compound of Formula X;

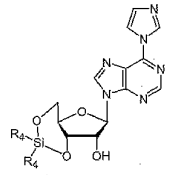


wherein each R_3 and R_7 is as defined in Formula VI; and (e) desilylating the product of step (d) to yield a compound of Formula VI.

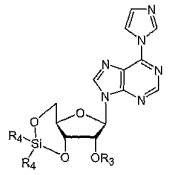
In another embodiment, the invention features a method for synthesizing a 2'-O-alkyl adenosine derivative having Formula VI, including the steps of: (a) introducing a 5',3'-bridging silyl protecting group to inosine to yield a compound of Formula XI;



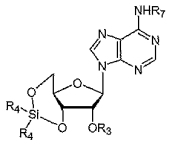
wherein each R_4 independently comprises an alkyl, aryl or isoalkyl moiety; (b) introducing an imidazole moiety to the product of step (a) to yield a compound of Formula XII;



wherein each R_4 independently comprises an alkyl, aryl or isoalkyl moiety; (c) alkylating the product of step (b) to yield a compound of Formula XIII;

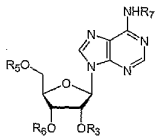


wherein R_3 is as defined in Formula VI and each R_4 independently comprises an alkyl, aryl or isoalkyl moiety; (d) aminating the product of step (c) to yield a compound of Formula XIV;



wherein each R_3 and R_7 is as defined in Formula VI; and (e) desilylating the product of step (d) to yield a compound of Formula VI.

In another embodiment, the invention features a method for the synthesis of a compound having formula XV,



wherein each R_3 and R_7 is as defined in Formula VI, R_5 comprises an acid labile protecting moiety and R_6 comprises a phosphorous containing moiety including the step of (a) introducing an acid labile protecting moiety followed by a phosphorous containing moiety to a compound of Formula VI to yield a compound of Formula XV.

In another embodiment, R_4 of the instant invention comprises an isopropyl moiety.

In another embodiment, R_4 of instant invention comprises a *tert*-butyl moiety.

In another embodiment, R_3 of the instant invention comprises a methyl moiety.

In another embodiment, the compound of Formula VI of the instant invention comprises 2'-O-methyl adenosine.

In another embodiment, R_7 of the invention comprises a benzoyl moiety.

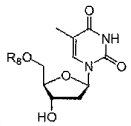
In another embodiment, R_7 of the invention comprises H.

In another embodiment, the compound of Formula XV of the invention comprises 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-methyl-N2-benzoyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In one embodiment, the invention features a method for synthesizing a compound having Formula XVI,



wherein R_8 comprises a succinate moiety, silylalkyl moiety, or H, and R_9 comprises an acid labile protecting moiety or H, including the steps of: (a) depyrimidination of compound of Formula XVII;

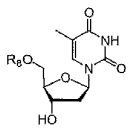


wherein R_8 comprises an silylalkyl moiety to yield a compound of Formula XVI, wherein R_8 comprises an silylalkyl moiety and R_9 comprises H; (b) introducing an acid labile protecting moiety to the product of step (a) to yield a compound of Formula XVI, wherein R_8 comprises an silylalkyl moiety and R_9 comprises an acid labile protecting moiety; (c) deprotecting the product of step (b) to yield a compound for Formula XVI, wherein R_8 comprises H and R_9 comprises an acid labile protecting moiety; and (d) introducing a succinate moiety to the product of step (c) to yield a compound of Formula XVI, wherein R_8 comprises a succinate moiety and R_9 comprises an acid labile protecting moiety.

In another embodiment, the invention features a method for synthesizing a compound having Formula XVI,



wherein R_8 comprises a phosphorous containing moiety, silylalkyl moiety, or H, and R_9 comprises an acid labile protecting moiety or H, including the steps of: (a) depyrimidination of compound of Formula XVII;



wherein R_8 comprises an silylalkyl moiety to yield a compound of Formula XVI, wherein R_8 comprises an silylalkyl moiety and R_9 comprises H; (b) introducing an acid labile protecting moiety to the product of step (a) to yield a compound of Formula XVI, wherein R_8 comprises an silylalkyl moiety and R_9 comprises an acid labile protecting moiety; (c) deprotecting the product of step (b) to yield a compound for Formula XVI, wherein R_8 comprises H and R_9 comprises an acid labile protecting moiety; and (d) introducing a phosphorous containing moiety to the product of step (c) to yield a compound of Formula XVI, wherein R_8 comprises a phosphorous containing moiety and R_9 comprises an acid labile protecting moiety.

In another embodiment, the silylalkyl moiety R_8 of Formulae XVI and XVII of the invention comprises a *tert*-butyldimethylsilyl, *tert*-butyldiphenylsilyl, or triisopropylsilyl moiety.

In another embodiment, depyrimidination conditions of the invention comprise treatment of the compound of Formula XVI with a silylating reagent and a catalyst followed by hydrogenation and selective desilyation to yield a compound of Formula XVI, wherein R_8 comprises an silylalkyl moiety and R_9 comprises H.

In another embodiment, the silylating reagent of the invention used in depryimidination comprises hexamethyldisilazane.

In another embodiment, the catalyst of the invention used in depryimidination comprises sulfuric acid, para-toluene sulfonic acid, and ammonium sulfate.

In another embodiment, the catalyst of the invention used in depryimidination comprises a sulfonic acid, sulfonyl halide, sulfonate or sulfamide, for example, methanesulfonic acid, trifluoromethanesulfonic acid, methanesulfamide, sulfamide, methanesulfonylchloride, or trimethylsilylmethane sulfonate.

In another embodiment, the selective desilylation reaction used in the depyrimidination reaction of the invention comprises treatment with pyridinium trifluoroacetate.

In another embodiment, the hydrogenation reaction used in the depyrimidination step of the method of the invention comprises catalytic hydrogenation with hydrogen gas and palladium on carbon.

In another embodiment, the deprotection conditions of the compound of Formula XVI of the invention, wherein R_8 comprises an silylalkyl moiety and R_9 comprises an acid labile protecting moiety, comprise treatment with sodium hydroxide in ethanol.

In another embodiment, the compound of Formula XVI of the invention, wherein R_8 comprises a succinate moiety and R_9 comprises an acid labile protecting moiety, comprises 3-O-dimethoxytrityl-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol-5-O-succinate.

In another embodiment, the compound of Formula XVI of the invention, wherein R_8 comprises a phosphoramidite moiety and R_9 comprises an acid labile protecting moiety, comprises 3-O-dimethoxytrityl-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol-5-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In one embodiment, the acid labile protecting moiety of the invention comprises a dimethoxytrityl, monomethoxytrityl, or trityl moiety.

In another embodiment, the phosphorous containing moiety of the invention comprises a phosphoramidite moiety.

In another embodiment, the phosphorous containing moiety of the invention comprises a triphosphate moiety.

In another embodiment, the phosphoramidite moiety of the invention comprises a 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) moiety.

In another embodiment, the amination of compounds of the invention comprises amination with ammonia.

In another embodiment, the amination of compounds of the invention comprises amination with an acylamide.

In another embodiment, the acylamide of the invention is benzamide.

In another embodiment, the 5',3'-bridging silyl protecting group of the invention is introduced using di-tert-butylsilylbis(trifluoromethanesulfonate) in the presence of a base.

In another embodiment, the 5',3'-bridging silyl protecting group of the invention is introduced using 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxane in the presence of a base.

In another embodiment, the base used in introducing the 5',3'-bridging silyl protecting group of the invention comprises triethylamine, diisopropylethylamine, pyridine, collidine, lutidine, 1-methylimidazole, imidazole, N,N-dimethylaminopyridine, or combinations thereof.

In another embodiment, the alkylation of the invention is conducted in the presence of an alkyl halide and a base.

In another embodiment, the alkyl halide used in alkylation of the invention comprises methyl iodide and the base used in alkylation of the invention comprises sodium hydride.

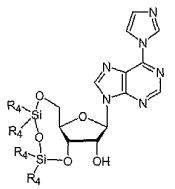
In another embodiment, silyl deprotection of the invention, for example of the 5' and 3' hydroxyls of a nucleoside, is performed using a reagent that comprises an acid, a fluoride source, or a combination thereof, for example HF/pyridine, tetrabutylammonium fluoride, aqueous HF solution, HF gas, or HF/triethylamine adduct.

In one embodiment, the reaction steps of the instant invention are independently performed at a temperature of about –20 °C to about 50 °C.

In another embodiment, the phosphorous containing moiety of the invention is introduced with a chlorophosphine and a base.

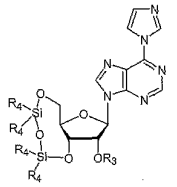
In another embodiment, the base used in introducing the phosphorous containing moiety of the invention comprises triethylamine, diisopropylethylamine, pyridine, collidine, lutidine, 1-methylimidazole, imidazole, N,N-dimethylaminopyridine, or combinations thereof.

In one embodiment, the invention features a composition of Formula VIII;



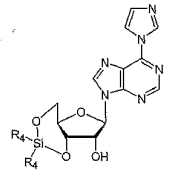
wherein each R_4 independently comprises alkyl, aryl or isoalkyl.

In another embodiment, the invention features a composition of Formula IX;



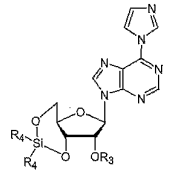
wherein R_4 independently comprises alkyl, alkoxyalkyl, alkyl-thio-alkyl, cyanoalkyl, or arylalkyl optionally substituted with up to three groups independently comprising halogen, alkoxy, nitro, and alkyl and each R_4 independently comprises alkyl, aryl or isoalkyl.

In one embodiment, the invention features a composition of Formula XII;



wherein each R_4 independently comprises alkyl, aryl or isoalkyl.

In another embodiment, the invention features a composition of Formula XIII;



wherein R_4 independently comprises alkyl, alkoxyalkyl, alkyl-thio-alkyl, cyanoalkyl, or arylalkyl optionally substituted with up to three groups independently comprising halogen, alkoxy, nitro, and alkyl and each R_4 independently comprises alkyl, aryl or isoalkyl.

In one embodiment, R_4 of Formulae XIII and IX of the invention comprises isopropyl.

In another embodiment, R_4 of Formulae XII and XIII comprises tert-butyl.

In another embodiment, R_3 of Formulae IX and XIII comprises methyl. In one embodiment, the conditions suitable for the selective 5-O-deprotection of the 5-O-protected-3-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol of the invention comprise the use of sodium hydroxide, for example sodium hydroxide at reflux in ethanol.

In another embodiment, the 3-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol-5-O-succinate of the invention is 3-O-dimethoxytrityl-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol-5-O-succinate.

In another embodiment, the 3-O-protected-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol-5-O-phosphoramidite of the invention is 3-O-dimethoxytrityl-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol-5-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

In additional embodiments, the methods of the instant invention can be used to synthesize both L and D nucleosides, including but not limited to 2'-O-silyl-β-L-ribofuranosyl nucleosides and 2'-O-silyl-β-L-ribofuranosyl nucleoside phosphoramidites

In additional embodiments, the methods of the instant invention can be used to synthesize both L and D C-nucleosides, including but not limited to 2'-O-silyl-β-L-ribofuranosyl C-nucleosides and 2'-O-silyl-β-L-ribofuranosyl C-nucleoside phosphoramidites

The 2'-deoxy-2'-amino, 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl, 2'-O-methyl, D-ribo, and L-ribo nucleosides and C-nucleosides and 1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol derivatives of the instant invention can be used for chemical synthesis of nucleotides, C-nucleotides, nucleotide-tri-phosphates, C-nucleotide triphosphates and/or nucleoside phosphoramidites and C-nucleoside phosphoramidites as building blocks for selective incorporation into nucleic acid molecules. The incorporation of 2'-deoxy-2'-amino, 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl, 2'-O-methyl, D-ribo and L-ribo nucleosides, C-nucleosides, and 1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol derivatives into oligonucleotides can serve many purposes, including but not limited to, providing nuclease resistance, improved catalytic activity, and increased functionality compared to molecules lacking such groups. The use of these nucleosides can also provide a useful scaffold for the covalent attachment of additional functional groups, linkers, biomolecules, peptides, proteins, sugars, oligonucleotides, solid supports, small molecules, chemical nucleases and other molecules useful in modulating the desired activity of a nucleic acid molecule. In addition, these nucleic acid molecules can be used as an enzymatic nucleic

acid molecule, antisense nucleic acid, 2-5A antisense chimera, decoy nucleic acid molecule, aptamer nucleic acid molecule, triplex forming oligonucleotide, chimeric nucleic acid molecule, agonist nucleic acid molecule, antagonist nucleic acid molecule, or any other nucleic acid molecule species. The forgoing terminology refer to structures and compositions which are well known in the art, and as to which further information is set forth below. Nucleic acid molecules of the instant invention can also be used for purposes including, but not limited to, use as therapeutic agents, diagnostic reagents, and research reagents. Other uses for the nucleic acid molecules include their useas probes or primers for synthesis and/or sequencing of RNA or DNA.

In addition, the 2'-deoxy-2'-amino, 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl, 2'-O-methyl, D-ribo, and L-ribo nucleosides, C-nucleosides and nucleoside and C-nucleoside phosphoramidites and 1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol derivatives can be used in the synthesis of an enzymatic nucleic acid molecule. For example, these nucleosides can be use in the synthesis of such enzymatic nucleic acid molecules as those having hammerhead, NCH (Inozyme), G-cleaver, amberzyme, zinzyme and/or DNAzyme motifs.

The term "nucleic acid molecule" as used herein refers to a molecule having nucleotides. The nucleic acid can be single, double, or multiple stranded and can comprise modified or unmodified nucleotides or non-nucleotides or various mixtures and combinations thereof.

The term "antisense nucleic acid" as used herein refers to a non-enzymatic nucleic acid molecule that binds to target RNA by means of RNA-RNA or RNA-DNA or RNA-PNA (protein nucleic acid; Egholm *et al.*, 1993 *Nature* 365, 566) interactions and alters the activity of the target RNA (for a review, see Stein and Cheng, 1993 *Science* 261, 1004 and Woolf *et al.*, US patent No. 5,849,902). Typically, antisense molecules will be complementary to a target sequence along a single contiguous sequence of the antisense molecule. However, in certain embodiments, an antisense molecule can bind to substrate such that the substrate molecule forms a loop, and/or an antisense molecule can bind such that the antisense molecule forms a loop. Thus, the antisense molecule can be complementary to two (or even more) non-contiguous substrate sequences or two (or even more) non-contiguous sequence portions of an antisense molecule can be complementary to a target sequence or both. For a review of current antisense strategies, see Schmajuk *et al.*, 1999, *J. Biol. Chem.*, 274, 21783-21789, Delihas *et al.*, 1997, *Nature,* 15, 751-753, Stein *et al.*, 1997, *Antisense N. A. Drug Dev.*, 7, 151, Crooke, 1998, *Biotech. Genet. Eng. Rev.*, 15, 121-157, Crooke, 1997, *Ad. Pharmacol.*, 40, 1-49. In addition, antisense DNA can be used to target RNA by means of DNA-RNA interactions, thereby activating RNase H, which digests the target RNA in the

duplex. Antisense DNA can be synthesized chemically or expressed via the use of a single stranded DNA expression vector or equivalent thereof.

The term "2-5A antisense chimera" as used herein refers to an antisense oligonucleotide containing a 5' phosphorylated 2'-5'-linked adenylate residue. These chimeras bind to target RNA in a sequence-specific manner and activate a cellular 2-5A-dependent ribonuclease which, in turn, cleaves the target RNA (Torrence *et al.*, 1993 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 1300).

The term "triplex forming oligonucleotide" as used herein refers to an oligonucleotide that can bind to a double-stranded DNA in a sequence-specific manner to form a triple-strand helix. Formation of such triple helix structure has been shown to inhibit transcription of the targeted gene (Duval-Valentin *et al.*, 1992 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 504).

The term "enzymatic nucleic acid molecule" as used herein refers to a nucleic acid molecule which has complementarity in a substrate binding region to a specified gene target, and also has an enzymatic activity which is active to specifically cleave target RNA. That is, the enzymatic nucleic acid molecule is able to intermolecularly cleave RNA and thereby inactivate a target RNA molecule. These complementary regions allow sufficient hybridization of the enzymatic nucleic acid molecule to the target RNA and thus permit cleavage. Complementarity is preferred to be as high as possible, i.e., up to 100%, but complementarity as low as 50-75% can also be useful in this invention. The nucleic acids can be modified at the base, sugar, and/or phosphate groups. The term enzymatic nucleic acid is used interchangeably with phrases such as ribozymes, catalytic RNA, enzymatic RNA, catalytic DNA, aptazyme or aptamer-binding ribozyme, regulatable ribozyme, catalytic oligonucleotides, nucleozyme, DNAzyme, RNA enzyme, endoribonuclease, endonuclease, minizyme, leadzyme, oligozyme or DNA enzyme. All of these terminologies describe nucleic acid molecules with enzymatic activity. The specific enzymatic nucleic acid molecules described in the instant application are not meant to be limiting and those skilled in the art will recognize that all that is important in an enzymatic nucleic acid molecule of this invention is that it have a specific substrate binding site which is complementary to one or more of the target nucleic acid regions, and that it have nucleotide sequences within or surrounding that substrate binding site which impart a nucleic acid cleaving activity to the molecule (Cech *et al.*, U.S. Patent No. 4,987,071; Cech *et al.*, 1988, JAMA).

The term "decoy RNA" as used herein refers to an RNA molecule that mimics the natural binding domain for a ligand. The decoy RNA therefore competes with natural binding target for the binding of a specific ligand. For example, it has been shown that over-

expression of HIV trans-activation response (TAR) RNA can act as a "decoy" and efficiently binds HIV *tat* protein, thereby preventing it from binding to TAR sequences encoded in the HIV RNA (Sullenger *et al.*, 1990, *Cell*, 63, 601-608). This is meant to be a specific example. Those in the art will recognize that this is but one example, and other embodiments can be readily generated using techniques generally known in the art.

The term "agonist RNA" as used herein refers to an RNA molecule that can bind to protein receptors with high affinity and cause the stimulation of specific cellular pathways.

The term "antagonist RNA" as used herein refers to an RNA molecule that can bind to cellular proteins and prevent it from performing its normal biological function (for example, see Tsai *et al.*, 1992 *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 89, 8864-8868).

Examples of enzymatic nucleic acid molecules in which the instant nucleosides can be used include those having hammerhead, NCH or Inozyme, G-cleaver, zinzyme, and/or amberzyme motifs, as well as DNAzymes. All of these structural motifs are described in the art and are thus well-known to skilled artisans. However, a brief description of the structure and relevant art is provided below.

Examples of a "hammerhead" motif are shown in Usman *et al.*, 1996, *Current Opinion in Structural Biology*, 1, 527-533, which is incorporated by reference herein in its entirety including the drawings.

Examples of an "NCH" or "Inozyme" motif are shown in Ludwig *et al.*, USSN No. 09/406,643, filed September 27, 1999, entitled "COMPOSITIONS HAVING RNA CLEAVING ACTIVITY", and International PCT publication Nos. WO 98/58058 and WO 98/58057, all incorporated by reference herein in their entirety including the drawings.

Examples of a "G-cleaver" motif are shown in Eckstein *et al.*, International PCT publication No. WO 99/16871, incorporated by reference herein in its entirety including the drawings.

A "zinzyme" motif is a class II enzymatic nucleic acid molecule comprising a motif such as that described in Beigelman *et al.*, International PCT publication No. WO 99/55857, incorporated by reference herein in its entirety including the drawings. Zinzymes represent a non-limiting example of an enzymatic nucleic acid molecule that does not require a ribonucleotide (2'-OH) group within its own nucleic acid sequence for activity.

An "amberzyme" motif is a class I enzymatic nucleic acid molecule comprising a motif such as that described in Beigelman *et al.*, International PCT publication No. WO 99/55857,

incorporated by reference herein in its entirety including the drawings. Amberzymes represent a non-limiting example of an enzymatic nucleic acid molecule that does not require a ribonucleotide (2'-OH) group within its own nucleic acid sequence for activity.

The term 'DNAzyme' is meant to refer to an enzymatic nucleic acid molecule that does not require the presence of a ribonucleotide (2'-OH) group within the DNAzyme molecule for its activity. In particular embodiments the enzymatic nucleic acid molecule can have an attached linker(s) or other attached or associated groups, moieties, or chains containing one or more nucleotides with 2'-OH groups. DNAzyme can be synthesized chemically or expressed endogenously *in vivo*, by means of a single stranded DNA vector or equivalent thereof.

By "comprising" is meant including, but not limited to, whatever follows the word "comprising". Thus, use of the term "comprising" indicates that the listed elements are required or mandatory, but that other elements are optional and may or may not be present. By "consisting of" is meant including, and limited to, whatever follows the phrase "consisting of". Thus, the phrase "consisting of" indicates that the listed elements are substantially made of the required elements, and that substantially no other elements may be present. By "consisting essentially of" is meant including any elements listed after the phrase, and limited to other elements that do not interfere with or contribute to the activity or action specified in the disclosure for the listed elements. Thus, the phrase "consisting essentially of" indicates that the listed elements are substantially made of the required elements, but that other elements are optional and may or may not be present depending upon whether or not they affect the activity or action of the listed elements.

Other features and advantages of the invention will be apparent from the following description of the preferred embodiments thereof, and from the claims. The broad scope of this invention is best understood with reference to the following examples, which are not intended to limit the invention to the specific embodiments described below.

Example 1: Synthesis of 5'-O-DMT-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**8a**, R=acetyl), **Figure 3**

1-β-D-arabinfuranosyl-N4-acetyl cytosine (**2**, R=acetyl) (modified from Bhat, V; *et al.*, 1989, *Nucleosides&Nucleotides*, 8(2), 179-83)

1-β-D-arabinofuranosyl-cytosine (Cytarabine) (**1**), (25g, 102.75 mmol, Pfanstiehl Laboratories, Cat. No. C-123, Lot # 2417 B) was co-evaporated with three portions of DMF (120-ml) and then dissolved in anhydrous DMF (250 ml). Acetic anhydride (11.62 ml, 123.30 mmol) was added dropwise with stirring. After stirring for 24 hours at room temperature, TLC (20% MeOH/CH_2Cl_2) indicated a complete reaction. The reaction was

quenched with anhydrous MeOH (25 ml) and DMF was removed by rotary evaporation and co-evaporation three times with toluene. The crude yellow foam was crystallized from a mixture of diethyl ether/methanol (10:1.) The crystallized product was filtered, washed with diethyl ether and dried to give 27.5 g (94%) of desired product (**2**, R=acetyl).

5',3'-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinfuranosyl-N4-acetyl cytosine (**3**, R=acetyl)

1-β-D-arabinfuranosyl-N4-acetyl cytosine (**2**, R=acetyl) (27.00g, 94.67 mmol) was co-evaporated twice with anhydrous pyridine (250 ml), dissolved in anhydrous pyridine (400 ml) and cooled to 0°C in an ice/water bath. 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxane (36.34 ml, 113.6 mmol) was added dropwise over 2 hours to the stirred 0°C reaction mixture. The reaction was equilibrated to room temperature and after two hours a white precipitate of pyridinium hydrochloride was observed. The reaction was subsequently quenched with anhydrous methanol (10 ml) after stirring for five hours (TLC 10% MeOH/CH_2Cl_2). Pyridine was removed by rotary evaporation and the yellow product was dissolved in CH_2Cl_2 (400 ml) and washed twice with $NaHCO_3$ (400 ml), dried over sodium sulfate, filtered and evaporated to dryness. The product was crystallized from a mixture of water/EtOH (1:1, 300 ml total volume, plus a few extra drops of EtOH was added to the hot solution to remove cloudiness, the filter should be 60-100 microns). The crystals were dried in vacuum over P_2O_5 overnight. The total yield of this reaction was 44.2 g (89%).

5',3'-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N4-acetyl cytosine (**4**, R=acetyl)

To a solution of 5',3'-O-tetraisopropyldisiloxyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N-4-acetyl cytosine (**3**, R=acetyl) (44 g, 83.23 mmol), DMAP (30.54g, 250.00 mmol) and pyridine (20.22 ml, 250.00 mmol) stirring at 0°C under argon in anhydrous dichloromethane (300 ml) was added triflic anhydride (18.20 ml, 108.2 mmol) dropwise via syringe over a 30 minute period. The temperature and speed of addition of triflic anhydride was monitored so as not to allow any exotherm during addition. After stirring at 0°C for four hours the reaction mixture turned yellowish/orange, TLC (70% EtOAc/CH_2Cl_2) indicated a complete reaction and the reaction was quenched with anhydrous MeOH (20 ml). Pyridine and DMAP were removed by washing with cold 1.5% acetic acid or citric acid in water (2 X 1000 ml) followed by aqueous sodium bicarbonate (1000 ml). The organic layer was dried over sodium sulfate, filtered, and the filtrate evaporated *in vacuo*. The triflate was used without further purification.

5',3'-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine (**5a**, R=acetyl)

To a solution of 5',3'-O-tetraisopropyldisiloxyl-1-β-D-arabinofuranosyl-N4-acetyl cytosine-2'-O-triflate (**4**, R=acetyl) (crude, 29.34 g, 44.45 mmol) and phthalimide (7.85 g, 53.34 mmol) stirring at 0°C under argon in anhydrous acetonitrile (200 ml) was added DBU (7.96 ml, 53.34 mmol) slowly via syringe. The precipitate does not dissolve until the addition of DBU upon which the reactions turns orange/red with the formation of a white precipitate. The reaction mixture was stirred at room temperature for 24 hours at which time TLC (70% EtOAc/CH_2Cl_2) indicated complete reaction. The white precipitate was filtered and washed with three portions of acetonitrile (75 ml). The filtrates were combined and evaporated to dryness. The residue was dissolved in 200 ml of dichloromethane and washed with three portions of sodium bicarbonate (3x150). The organic layer was dried over sodium sulfate, filtered, and evaporated to dryness. The resulting foam was dissolved in ethyl acetate and purified via silica gelcolumn chromatography. The residue was then crystallized from toluene/hexanes (1:2) to give the desired product as an off white solid, 18.00 g, 64.5% over two steps.

The major competing side reaction (10-15%) is the formation an elimination product with the double bond between the 1' and 2' carbon (for example, see figure 12).

2'-Deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine (**6a**, R=acetyl)

To a solution of 5',3'-O-tetraisopropyldisiloxane-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine (**5a**, R=acetyl) (27.00 g, 41.1 mmol) stirring at 0°C under argon in anhydrous THF was added TEA•3HF (14.7 ml, 90.41 mmol) dropwise via syringe. The reaction mixture was equilibrated to room temperature and allowed to stir for 4 hours. TLC (20% MeOH/CH_2Cl_2) indicated a complete reaction, the solvents were removed in vacuo and the reaction mixture was co-evaporated with two portions of THF (200 ml). The resulting white/yellow solid was crystalized from CH_2Cl_2 containing a minimal amount of methanol to provide 15.0 grams, (88%) of **6a**, R=acetyl.

5'-O-DMT-2'-Deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine (**7a**, R=acetyl)

2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine (**6a**, R=acetyl) (14.7 g, 35.5mmol) was co-evaporated twice with anhydrous pyridine then dissolved in anhydrous pyridine. 4',4'-dimethoxytrityl chloride (15.62g, 46.10 mmol) was added to the reaction mixture at 0°C. After stirring at 0°C overnight, TLC (5% EtOH/EtOAc) indicated a complete reaction. The reaction was quenched with 10 ml of anhydrous MeOH and the solvents were removed *in vacuo*. The residue was dissolved in dichloromethane (500 ml) and washed with two portions of sodium bicarbonate (500 ml) and the organic layer was dried over sodium sulfate, filtered and evaporated to dryness. The

residue was crystallized from toluene to give the desired product (**7a**, R=acetyl), as a white crystalline solid 23.8 g (94%).

5'-O-DMT-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**8a**, R=acetyl)

To a solution of 5'-DMT-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl cytidine (**7a**, R=acetyl) (26.00 g, 36.35 mmol) stirring at 0°C under argon in anhydrous dichloromethane (350 ml) was added diisopropylethylamine (DIPEA, 17.73 ml, 101.77 mmol) and 1-methylimidazole (12.90 ml, 36.35 mmol). N,N-diisopropylaminocyanoethyl phosphoramidic chloride (10.53 ml, 47.26 mmol) was added dropwise to the reaction mixture. After four hours at room temperature, TLC (100% EtOAc) indicated a complete reaction. The reaction was quenched with anhydrous MeOH (3 ml) and evaporated to dryness. The residue was purified by flash chromatography utilizing a gradient of 60%-100% EtOAc/hexanes resulting in a 95% yield.

Example 2: Synthesis of 5'-O-Dimethoxytrityl-2'-Deoxy-2'-N-phthaloyl-uridine 3'-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropyl phosphoramidite) (**16a**), **Figure 4**

Synthesis of 5',3'-O-(tetraisopropyldisiloxane-1,3-di-yl)-1-β-D-arabinofuranosyl-uracil (**11**)

1-β-D-arabinofuranosyl-uracil (**10**) (2.44g, 10 mmol) was dried by two co-evaporations with anhydrous pyridine and then re-dissolved in anhydrous pyridine. The above solution was cooled (0°C) and a solution of 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraisopropylsiloxane (3.52 mL, 11.0 mmol) in 10 mL of anhydrous dichloromethane was added dropwise with stirring. After the addition was complete, the reaction mixture was allowed to warm to room temperature and was stirred for an additional two hours. The reaction was then quenched with MeOH (10 mL) and evaporated to dryness. The residue was dissolved in dichloromethane and washed with saturated $NaHCO_3$ and brine,dried over Na_2SO_4, and filtered. The organic layer was evaporated to dryness and then co-evaporated with toluene to remove traces of pyridine to give 4.8g (98%) of compound (**11**) which was used without further purification.

5',3'-O-Tetraisopropyldisiloxy-2'-deoxy-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl-uracil (**12**)

To a stirred, ice-cooled solution of 5',3'-O-(tetraisopropyldisiloxane-1,3-di-yl)-1-β-D-arabinofuranosyl-uracil (**11**) (4g, 8.2 mmol) in anhydrous dichloromethane, trifluoromethane sulfonic anhydride (1.66 mL, 9.86 mmol) was added and the reaction mixture stirred at -5°C for 30 min. The reaction was then diluted with dichloromethane and washed with cold 1% aq acetic acid, then with saturated aq sodium bicarbonate and brine. The organic layer was dried over

anhydrous sodium sulfate, filtered and evaporated to dryness in vacuo. The residue was used in the next step (example 10) without further purification.

5',3'-O-Tetraisopropyldisiloxy-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-uridine (**13a**)

Was prepared analogously to 5',3'-tetraisopropyldisiloxy-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl-cytidine from example 1. Yield = 65-70%.

2'-Deoxy-2'-N-phthaloyl-uridine (**14a**)

Was prepared analogously to 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl-cytidine from example 1. Yield = 90%.

Synthesis of 5'-O-Dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-uridine (**15a**)

Was prepared analogously to 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N4-acetyl-cytidine from example 1 and purified by flash chromatography using gradient of 5% to 10% acetone in dichloromethane as the eluent. Yield = 90%. This purification can be substituted by crystallization from toluene and hexanes.

Synthesis of 5'-O-Dimethoxytrityl- 2'-Deoxy-2'-N-phthaloyl-uridine 3'-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropyl phosphoramidite) (**16a**)

Was prepared according to the standard phosphitylation procedure (as described for compound (**9**) in example 1. Purification by flash chromatography on silica gel using gradient of 60% to 100% EtOAc in hexanes as the eluent. Yield = 85%.

Example 3: Synthesis of 5'-O-Dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N6-tertButylbenzoyl adenosine-3'-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropyl phosphoramidite) (**25a**, R=t-BuBz), **Figure 5**

5',3'-O-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl-adenine (**19**)

1-β-D-arabinofuranosyl-adenine HCl (**18**) (5g, 16.46 mmol, Pfanstiehl Laboratories) was co-evaporated twice from anhydrous pyridine, suspended in anhydrous pyridine (50ml) and cooled to 0°C in ice water. 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxane (6.6 ml, 20.23 mmol) was added dropwise to the cold stirred nucleoside solution. After the addition was complete, the reaction mixture was allowed to warm to room temperature and stirred for an additional two hours. The reaction was then quenched with 1 ml of ethanol. Solvents were removed by in vacuo and the residue was dissolved in dichloromethane, washed with saturated sodium bicarbonate solution, dried over sodium sulfate, filtered and evaporated to dryness to give 8.5 g of (**19**) as a white foam (8.5 g). Product (**19**) was used without further purification.

5',3'-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-trifluoromethanesulfonyl-1-β-D-arabinofuranosyl adenine (**20**)

A cold solution (-10°C) of (**19**) in anhydrous dichloromethane was treated with trifluoromethanesulfonyl chloride (1.53 mL, 14.4 mmol) for 20 min. The resulting solution was diluted with anhydrous dichloromethane and washed with cold (0°C) 1% aq acetic acid, then saturated aq $NaHCO_3$ and brine. The organic layer was dried over sodium sulfate, filtered and evaporated to dryness to give derivative (**20**), which was used without further purification.

5',3'-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-adenosine (**21a**)

DBU (2.8 ml, 18.7 mmol.) was added dropwise to a stirred solution of 5',3'-tetraisopropyldisiloxy-1-β-D-arabinofuranosyl adenine-2'-triflate (**20**) (10g) and phthalimide (2.52 g, 17.2 mmol) in anhydrous acetonitrile under positive argon pressure. The mixture was stirred at room temperature overnight. The reaction mixture was then evaporated to dryness, dissolved in dichloromethane and washed with saturated aqueous sodium bicarbonate solution and brine. The organic layer was dried over sodium sulfate, filtered and evaporated to dryness in vacuo. The crude material was purified by flash chromatography to yield 5.4 g (51% from **18**) of 2'-N-phthaloyl derivative (**21a**).

5',3'-O-tetraisopropyldisiloxy-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N6-tertButylbenzoyl adenosine (**22a**, R=t-BuBz)

2'-Deoxy-2'-N-phthaloyl derivative (**21a**) (5.4 g, 8.45 mmol) was dissolved in anhydrous pyridine and 4-tert-butylbenzoyl chloride (1.2 eq) was added at 0°C and the reaction mixture left overnight at room temperature. The reaction was subsequently quenched with methanol (10 mL), solvents removed in vacuo and the residue dissolved in toluene and evaporated to dryness. The resulting oil was dissolved in dichloromethane, washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over sodium sulfate, filtered and evaporated to dryness. The residue was purified by flash chromatography on silica, using EtOAc-Hexanes (1:2) mixture as an eluent to give 5.06 g (75%) of the fully protected synthon (**22a**, R=t-BuBz).

Synthesis of 2'-Deoxy-2'-N-phthaloyl-N6-tert-Butylbenzoyl adenosine (23a)

5',3'-Tetraisopropyldisiloxy-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N2-tertbutylbenzoyl adenosine (**22a**, R=t-BuBz) (2.4g, 3.0 mmol) was dissolved in 50 ml of anhydrous THF. Triethylammonium hydrofluoride (1.47 ml, 9.0 mmol) was added and the reaction mixture was stirred overnight at room temperature. The reaction was then quenched with the addition of sodium bicarbonate solution with stirring, extracted with methylene chloride, dried over sodium sulfate, filtered and

evaporated to dryness in vacuo. The material was purified by flash chromatography to yield 1.52g (91%) of 2'-Deoxy-2'-N-phthaloyl-N2-tert-Butylbenzoyl adenosine (**23a**, R=t-BuBz).

Synthesis of 5'-O-Dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N6-tert-Butylbenzoyl adenosine (**24a**, R=t-BuBz)

Was prepared using standard dimethoxytritylation procedure (as described in example 1). Yield 90%.

5'-O-Dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-N-phthaloyl-N6-tertButylbenzoyl adenosine-3'-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropyl phosphoramidite) (**25a**, R=t-BuBz)

Was prepared according to the standard phosphitylation procedure (as described for compound **9** in example 1). Purification by flash chromatography on silica gel using gradient of 60% to 100% EtOAc in hexanes as an eluent gave (**25a**), R=t-BuBz. Yield, 95%.

Example 4: Synthesis of 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetyl cytidine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**43**), **Figure 7**

5',3'-di-tert-butylsilanediyl-2'-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetyl cytidine (**40**)

A suspension of cytidine (**38**) (2.43 g, 10 mmol) in DMF (20 ml) was treated with methanesulfonic acid (0.71 ml, 11 mmol) at 0°C. Di-tert-butylsilylditriflate (3.6 ml, 11 mmol) was added to the resulting solution and the reaction was stirred 30 min at 0°C. Imidazole (4.08 g, 60 mmol) was then added and the reaction mixture was stirred at room temperature for 30 minutes. Tert-butyldimethylsilyl chloride (1.81 g, 12 mmol) was added and the resulting reaction mixture was heated to 60°C for 2 hours, cooled to room temperature and the solvent was removed in vacuo. The residue was partitioned between dichloromethane and water. The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and evaporated to give crude (**39**) as yellowish oil. The crude (39) was dissolved in dry chloroform (20 ml), and then pyridine (2.5 ml) and acetic anhydride (1.42 ml, 15 mmol) were added. The reaction was allowed to proceed overnight at room temperature, diluted with chloroform (25 ml) and washed with water followed by sodium bicarbonate. The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and the solvent was removed in vacuo. The residue was crystallized from ethyl acetate to give (**40**) as colorless crystals, 4.12 g, 76 % yield.

5'-O-Dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetylcytidine (**42**)

Hydrogen fluoride-pyridine (Aldrich, 0.2 ml, 8 mmol) was carefully diluted with pyridine (1.2 ml) under cooling. The resulting solution was added slowly to a stirred 0°C suspension of (**40**) (1.08 g, 2 mmol) in dichloromethane (10 ml) and the reaction was allowed to proceed for 2

hr at 0°C. The reaction mixture was diluted with dichloromethane, washed with water followed by saturated sodium bicarbonate solution. The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and evaporated to give 0.86 g of crude (**41**) as white crystals. The latter was dissolved in pyridine (5 ml) and treated with dimethoxytrityl chloride (0.74 g, 2.2 mmol) at 0°C. The reaction mixture was kept at 0°C overnight, quenched with anhydrous methanol (0.2 ml) and evaporated in vacuo. The residue was partitioned between dichloromethane and water. The organic layer was washed with saturated sodium bicarbonate solution, dried over magnesium sulfate, filtered and the solvent was removed in vacuo. Flash chromatography (gradient 40-60 % acetone – hexanes) furnished (**42**) as white foam, 1.1 g, 78 %.

5'-O-Dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetylcytidine 3'-N,N-diisopropyl(cyanoethyl)phosphoramidite (**43**)

Compound (**43**) was obtained as white foam via the standard phosphitylation procedure (as described for compound 9 in example 1) using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite (2.5 eq), N,N-diisopropylethylamine (4 eq) and 1-methylimidazole (0.5 eq). Yield 84 %.

Example 5: Synthesis of 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl uridine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**48**), **Figure 8**

5',3'-di-tert-butylsilanediyl-2'-O-tert-butyldimethylsilyluridine (**45**)

Di-tert-butylsilylditriflate (1.8 ml, 5.5 mmol) was added to a solution of uridine (**44**) (1.22 g, 5 mmol) in DMF (10 ml) and the reaction was stirred 30 min at 0°C. Imidazole (1.7 g, 25 mmol) was added, the reaction mixture was stirred 30 min at room temperature and then treated with tert-butyldimethylsilyl chloride (0.9 g, 6 mmol). After stirring 2 h at 60°C the solvent was removed in vacuo and the residue was partitioned between dichloromethane and water. The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and evaporated. The residue was crystallized from acetonitrile to give (**45**) as white crystals, 1.94 g, 77.9 % yield.

5'-O-Dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyluridine (**47**)

Hydrogen fluoride-pyridine (Aldrich, 0.1 ml, 4 mmol) was carefully diluted with pyridine (0.6 ml) under cooling. The resulting solution was added slowly to a stirred 0°C solution of (**45**) (0.5 g, 1 mmol) in dichloromethane (5 ml) and the reaction was allowed to proceed 1 h at 0°C. Then the reaction mixture was diluted with dichloromethane and washed with water followed by saturated sodium bicarbonate solution. The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and evaporated to give crude (**46**) as white crystals. The latter was dissolved in pyridine (3 ml) and treated with dimethoxytrityl chloride (0.37 g, 1.1 mmol) at 0°C. The reaction mixture

was kept at 0°C overnight, quenched with anhydrous methanol (0.2 ml) and evaporated in vacuo. The residue was partitioned between dichloromethane and water. The organic layer was washed with saturated sodium bicarbonate solution, dried over magnesium sulfate, filtered and the solvent was removed in vacuo. Flash chromatography (gradient 20-40 % ethylacetate-hexane) furnished (**47**) as a yellowish foam, 0.6 g, 90.9 %.

5'-O-Dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetylcytidine 3'-N,N-diisopropyl(cyanoethyl)phosphoramidite (**48**)

Compound (**48**) was obtained as an off white foam via the standard phosphitylation procedure (as described for compound **9** in example 1) using -2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite (2.5 eq), N,N-diisopropylethylamine (4 eq) and 1-methylimidazole (0.5 eq). Yield 83 %.

Example 6: Synthesis of 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N6-benzoyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**54**), **Figure 9**

5',3'-O-di-tert-Butylsilanediyl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl adenosine (**50**)

Di-tert-Butylsilylditriflate (3.6 ml, 11 mmol) was added dropwise over 15 min to a stirred suspension of adenosine (10.69 g, 40 mmol) in anhydrous DMF (80 ml) at 0°C. The resulting solution was stirred at 0°C for 30 min and then imidazole (13.6 g, 200 mmol) and was added in one portion. The mixture was stirred at 0°C for 5 min and then 25 min at room temperature. The resulting suspension was treated with tert-butyldimethylchlorosilane (7.24 g, 48 mmol). The reaction was allowed to proceed for 2 hr at 60°C. The precipitate disappeared after approximately 45 minutes and after 1 hr crystals of (**50**) formed. The compound (**50**) was collected by filtration, washed with cold acetonitrile and then dried in vacuo. Yield 17.89 g (85.7 %).

5',3'-O-di-tert-Butylsilanediyl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N6-benzoyl adenosine (**51**)

Benzoyl chloride (8 ml, 68.86 mmol) was added dropwise to a stirred suspension of (**50**) (17.89 g, 34.28 mmol) in anhydrous pyridine (100 ml) at 0°C. After 5 min the reaction was warmed to room temperature and stirred for 2.5 hr. After that the mixture was cooled to 0°C and morpholine (12 ml, 137.9 mmol) was added slowly with stirring. After 45 min at 0°C the reaction mixture was evaporated and the residue was partitioned between methylene chloride and water. The organic layer was dried over sodium sulfate and evaporated in vacuo. Crystallization from acetonitrile (100 ml) furnished (**51**) as crystalline material. Yield 16.47 g (76.8 %).

5'-O-Dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N6-benzoyl adenosine (**53**)

Hydrogen fluoride-pyridine (Aldrich, 2.7 ml, 105.3 mmol) was carefully diluted with pyridine (17 ml). The resulting solution was added slowly to a stirred solution of 51 (16.47 g, 26.3 mmol) in anhydrous methylene chloride (130 ml) and the reaction was allowed to proceed for 1 hr at 0°C. The reaction mixture was then washed with water followed by saturated sodium bicarbonate solution. The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and evaporated in vacuo. To a solution of this material in pyridine (50 ml) was added dimethoxytrityl chloride (9.8 g, 28.93 mmol) and the reaction mixture stirred overnight at 0°C. The reaction was then quenched by addition of anhydrous methanol (0.25 ml) and evaporated in vacuo. The resulting residue was partitioned between methylene chloride and water. The organic layer was washed with saturated sodium bicarbonate solution, dried over magnesium sulfate, filtered and evaporated in vacuo. Flash chromatography on silica using an ethylacetate/hexanes gradient (from 30 to 50 %) afforded (**53**) as white foam. Yield 19.2 g (94.8 %).

5'-O-Dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N6-benzoyl adenosine 3'-N,N-diisopropyl(cyanoethyl)phosphoramidite (**54**)

Compound (**54**) was obtained as white foam via the standard phosphitylation procedure (as described for compound **9** in example 1) using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite (2.5 eq), N,N-diisopropylethylamine (4 eq) and 1-methylimidazole (0.5 eq). Yield 85 %.

Example 7: Synthesis of 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N2-isobutyryl guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**60**), **Figure 10**

5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl guanosine (**56**)

Anhydrous guanosine (**55**, 11.33 g, 40 mmol, prepared by drying the monohydrate at 100°C for 7 hrs in vacuo) was suspended in anhydrous DMF (80 ml) and di-tert-butylsilylditriflate (14.3 ml, 44 mmol) was added dropwise over 15 min with stirring at 0°C. The resulting solution was stirred at 0°C for 30 min and then imidazole (13.6 g, 200 mmol) was added. The reaction mixture was stirred for 5 min at 0°C and then at room temperature for 25 min. Tert-Butyldimethylchlorosilane (7.24 g, 48 mmol) was added and reaction was allowed to proceed at 60°C for 2 hrs. The resulting precipitate of (**56**) was separated by filtration, washed with cold methanol and dried in vacuo. Yield 18.81 g (87.4 %).

5',3'-O-di-tert-butylsilanediyleno-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N2-isobutyryl guanosine (**57**)

Isobutyryl chloride (10.4 ml, 100 mmol) was added dropwise to a stirred suspension of (**56**) (26.89 g, 50 mmol) in anhydrous methylene chloride (100 ml) and pyridine (30 ml) at 0°C. The

reaction was left for 3 hr at room temperature, diluted with methanol (40 ml) and cooled on an ice bath. An ethanolic solution of methylamine (8 M, 25 ml, 200 mmol) was added slowly to the reaction mixture. After 30 min the reaction mixture was evaporated to give a slurry that was diluted with methanol (100 ml) and left for 2 hrs at 0°C. The resulting precipitate was filtered, washed with cold methanol and dried in vacuo to give 29.26 g (96.2 %) of compound (**57**).

5'-O-Dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N2-isobutyryl guanosine (**59**)

Hydrogen fluoride-pyridine (Aldrich, 4 ml, 154 mmol) was carefully diluted with pyridine (25 ml) under cooling. The resulting solution was added slowly to a stirred 0°C suspension of (**57**) (24.36 g, 40 mmol) in anhydrous methylene chloride (200 ml) and the reaction was allowed to proceed for 2 hr at 0°C. The resulting solution was washed with water followed by saturated sodium bicarbonate solution. The organic layer was dried over magnesium sulfate, filtered and evaporated to give crude (**58**) as semi-crystalline material. The latter was dissolved in pyridine (80 ml) and dimethoxytrityl chloride (14.91 g, 44 mmol) was added at 0°C. The reaction mixture was kept at 0°C overnight, quenched with anhydrous methanol (0.5 ml) and evaporated in vacuo. The resulting residue was partitioned between methylene chloride and water. The organic layer was washed with saturated sodium bicarbonate solution, dried over magnesium sulfate, filtered and conentrated to afford Crude (**59**), which was crystallized from dichloromethane (20 ml) and ether (200 ml) to give compound (**59**) as a white, fine powder. Yield 24.16 g (78.4 %).

5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N2-isobutyryl guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**60**)

Compound **60** was obtained as white foam via the standard phosphytilation procedure (as described for compound **9** in example 1) using 2-cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidite (2.5 eq), *N,N*-diisopropylethylamine (4 eq) and 1-methylimidazole (0.5 eq). Yield 86 %.

Example 8: Synthesis of 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-methyl-N2-isobutyryl guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**69**), **Figure 11**

2,6-Diamino-9-(3',5'-O-di-tert-butylsilanediyl-β-D-ribofuranosyl)purine (**62**)

Di-tert-Butylsilylbis(trifluoromethanesulfonate) (17.8 ml, 55 mmol) was added slowly to a stirred at 0°C suspension of 2,6-diaminopurine riboside (**61**) (14.11 g, 50 mmol) in 100 ml anhydrous DMF. The resulting solution was stirred 30 min at 0°C and then imidazole (8.16 g, 120 mmol) was added. The reaction mixture was allowed to proceed for 5 min at 0°C and then for 30 min at room temperature. The solution was concentrated in vacuo to a slurry that was

diluted with methanol (120 ml). Compound (**62**) was collected by filtration, washed with cold methanol and then dried in vacuo at 60°C. Yield 17.2 g (83.8%).

2,6-Diamino-9-(3',5'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-O-methyl-β-D-ribofuranosyl) purine (**63**)

To a stirred -20°C solution of (**62**) (2.11 g, 5 mmol) in anhydrous DMF (40 ml) methyl iodide (0.93 ml, 15 mmol) was added followed by sodium hydride as a 60 % mineral oil suspension (0.3 g, 7.5 mmol). The reaction mixture was stirred for 1.5 h at -20°C and quenched with ammonium chloride (1.5 g). The resulting suspension was partitioned between chloroform (75 ml) and water (50 ml). The aqueous layer was washed with additional chloroform. The combined chloroform extracts were washed with 50 ml of water and the aqueous layer was extract back with chloroform. The resulting organic solution was dried over magnesium sulfate, filtered and the solvent was removed in vacuo. Crystallization from dichloromethane-hexane mixture (1:1) afforded (**63**) as colorless crystals. Yield 1.92 g (88 %).

2,6-Diamino-N2,N6-di-isobutyryl-9-(3',5'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-O-methyl-β-D-ribofuranosyl)purine (**64**)

To a stirred suspension of (**63**) (1.75 g, 4 mmol) in anhydrous pyridine (10 ml) was added isobutyryl chloride (1.04 ml, 2.5 mmol) at 0°C. The reaction mixture was stirred for 2 h at room temperature, quenched with methanol (0.5 ml) end evaporated in vacuo. The resulting residue was partitioned between methylene chloride and water. The organic layer was washed with saturated sodium bicarbonate, dried over sodium sulfate, filtered and the solvent was removed in vacuo. Crystallization from acetonitrile gave 1.95 g of (**64**) as white crystals, 84.8 % yield.

2,6-Diamino-N2-isobutyryl-9-(3',5'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-O-methyl-β-D-ribofuranosyl)purine (**65**)

A solution of (**64**) (1.15 g, 2 mmol) in methanol (5 ml) and triethylamine (0.3 ml) was kept for 24 h at room temperature. The resulting precipitate (**65**) was then filtered, washed with cold methanol and dried in vacuo. Yield 0.9 g (89 %).

5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-O-methyl-N2-isobutyryl guanosine (**66**)

To a stirred solution of (**65**) (0.76 g, 1.5 mmol) in a mixture of acetic acid (5 ml), THF (5 ml), dichloromethane (3 ml) and water (1 ml) was added sodium nitrite (0.83 g). After 3 h a second portion of sodium nitrite was added and the stirred reaction mixture was maintained at room temperature for 48 h. The reaction mixture was then partitioned between water and dichloromethane, the organic layer washed with saturated sodium bicarbonate solution, dried

over magnesium sulfate, filtered and concentrated in vacuo. Crystallization from ethyl acetate furnished (**66**) as slightly yellow crystals, 0.65 g, 85 % yield.

2'-O-methyl-N2-isobutyryl- guanosine (**67**)

To a stirred solution of (**66**) (0.51 g, 1 mmol) in anhydrous dichloromethane (5 ml) was added pyridine (0.5 ml) followed by hydrogen fluoride – pyridine (38.5 M, 0.1 ml). After 15 min the solvent was removed in vacuo. Flash chromatography using a gradient of 5-10 % methanol in dichloromethane afforded (**67**) as white foam, 0.34 g, 93 % yield.

5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-methyl-N2-isobutyryl guanosine (**68**)

Compound (**68**) was prepared using standard dimethoxytritylation procedure (as described in example 1).

5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-methyl-N2-isobutyryl guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) (**69**)

Compound (**69**) was prepared according to the standard phosphitylation procedure (as described for compound **9** in example 1). Purification by flash chromatography on silica gel using gradient of 60% to 100% EtOAc in hexanes as the eluent gave (**69**) as a white foam after evaporation in vacuo.

Example 9: Syntheis of 2'-O-methyl-N6-benzoyl adenosine (**75**) (**Figure 13**)

5',3'-O-di-tert-butylsilanediyladenosine (**72**)

Di-tert-Butylsilylditriflate (50 g, 113 mmol) was added dropwise in the course of 30 min to a stirred suspension of adenosine (**71**) (27.5 g, 103 mmol) in DMF (200 ml) at 0°C. The resulting solution was stirred at 0°C for 30 min and then imidazole (16.2 g, 237 mmol) was added at once. The mixture was stirred at 0°C for 45 min and the precipitate of (**72**) was filtered out, washed with methanol and dried in vacuo to give 31 g of (**72**) as white fine powder. Evaporation of mother liquor and trituration the residue with methanol provided the second crop of (**72**), 4.9 g. Combined yield of (**72**) was 35.9 g (85.5 %).

5',3'-O-di-tert-butylsilanediyl-2'-O-methyladenosine (**73**)

Compound (**72**) (35.9 g, 88.1 mmol) was dissolved in mixture of 1-methyl-2-pyrrolidinone (60 ml) and DMF (240 ml) at 80°C. The resulting solution was cooled to -35°C and dimethylsulfate (20.9 ml, 220.4 mmol) was added. Sodium hydride (5.99 g as 60% suspension in mineral oil, 149.8 mmol) was washed with ca. 75 ml of toluene and then suspended in toluene

(approximately 15 ml). The resulting suspension was added to the reaction mixture dropwise via syringe while stirring. The reaction was allowed to proceed at –35°C until nearly all starting material was consumed (about 4 h). The reaction was quenched by careful addition of methanol (200 ml) followed by water (100 ml). The resulting suspension was stirred 30 min at –20 - –30°C. The precipitate of (**73**) was filtered out and washed with methanol twice on filter bed and then dried in vacuo to give 28.1 g of crude (**73**) having about 85 % of purity. Yield 60-65 %.

2'-O-Me-N6-benzoyladenosine (**75**)

A suspension of crude (**73**) (28.1 g, ca. 56 mmol) in 170 ml of pyridine was treated with benzoyl chloride (13 ml, 112 mmol) at 0°C and the reaction stirred overnight at room temperature. Morpholine (20.5 ml, 256 mmol) was added to reaction mixture at 0°C and the mixture was stirred at 0°C for 1.5 h and then concentrated in vacuo. The residue was partitioned between dichloromethane and water. The organic layer was washed with another portion of water, dried over magnesium sulfate and concentrated to give crude (**74**) as colored foam. The latter was dissolved in dichloromethane (210 ml) and pyridine (18 ml), cooled to 0°C and treated with hydrogen fluoride – pyridine (Aldrich, 70%, 3.3 ml, 127 mmol). The mixture was stirred at 0°C for 2 h, and the resulting precipitate was filtered out and washed with dichloromethane to give 19.0 g of crude (**75**). The mother liquor was evaporated and the residue was crystallized from mixture of acetone (20 ml) and methanol (3 ml) to give the second crop of crude (**75**), 3.1 g. All crude (**75**) (22.1 g) was recrystallized from methanol (60 ml) to give 15.9 g of pure (**75**). Overall yield was 40.1% based on adenosine (**71**) starting material.

Example 10: Synthesis of 1,4-Anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol derivatives (**Figure 15**)

5-O-tert-Butyldimethylsilyl-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erytro-pentitol (**85 a**)

Methanesulfonic acid (0.65 ml, 10 mmol) was added dropwise to 30 ml HMDS and the resulting suspension was refluxed under argon atmosphere until it became homogenous (ca. 45 min). 5'-O-tert-butyldimethylsilyl thymidine (**82 a**, 3.56 g, 10 mmol) was added to resulting solution and the mixture was heated under reflux for 3 h. This reaction solution of **83 a** was brought to room temperature, transferred into a hydrogenation flask and was subjected to hydrogenation over Pd/C (10%, 0.3 g) under 35 psi hydrogen pressure for 1 h at room temperature. Catalyst was filtered out, filtrate was evaporated and the residue was dissolved in 35 ml of dichloromethane. Resulting solution was added slowly to a stirred solution of monobasic sodium phosphate (15 %, 15 ml). The mixture was stirred vigorously for 15 min, treated with 2 g of celite and thymine with celite was filtered out. The organic phase was separated, washed with saturated sodium bicarbonate, dried over sodium sulfate and evaporated to dryness. Crude **84 a** was dissolved in methanol (20 ml) and pyridinium

trifluoroacetate (0.1 g, 0.5 mmol) was added to the solution. After 30 min, methanol was stripped out and crude **85 a** was purified by column chromatography on silica gel using gradient of 20-30% ethyl acetate in hexanes to provide 1.8 g (77.6%) of pure **85 a** as a slightly yellow oil. ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ: 4.40 (m, 1 H, H3), 4.02 (dd, 2 H, $J_{1a,1b}$ = 8.2 Hz, $J_{1,2}$ = 5.4 Hz, H1a, H1b), 3.84 (m, 2 H, H4, H5a), 3.61 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ = 11.6 Hz, $J_{5,4}$ = 7.6 Hz, H5b), 2.24 (m, 1 H, H2a), 1.98 (m, 1 H, H2b), 1.96 (m, 1 H, OH), 0.98 (s, 9 H, *t*-Bu), 0.15 (s, 6 H, Me). The use of different catalysts in the conversion of **82** to **83** is shown in Table II.

3-O-Dimethoxytrityl-5-O-tert-butyldimethylsilyl-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erytro-pentitol (**86 a**)

5'-O-tert-butyldimethylsilyl thymidine (**82 a**, 28.52 g, 80 mmol) was converted to crude **85 a** as it was described above. Thus prepared crude **85 a** was co-evaporated with pyridine (100 ml) and then dissolved in pyridine (80 ml). Dimethoxytritylchloride (24.4 g, 72 mmol) and dimethylaminopyridine (1 g, 8.2 mmol) were added and the reaction was allowed to proceed overnight at room temperature. After concentration under reduced pressure the mixture was partitioned between dichloromethane and water. The organic phase was separated, washed with saturated sodium bicarbonate, dried over sodium sulfate and evaporated to give brown residue. The residue was purified by column chromatography on silica gel using a gradient of 5-10 % ethyl acetate-hexanes to provide **86 a** as an yellowish oil. Yield 29.8 g (69.6%). ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ: 7.43 (m, 9 H, Ph), 6.92 (m, 4 H, Ph), 4.21 (m, 1 H, H3), 4.02 (m, 1H, H4), 3.96 (m, 2H, H1a, H1b), 3.88 (s, 6 H, OCH_3), 3.54 (dd, 1 H, $J_{5a,5b}$ = 11.1 Hz, $J_{5a,4}$ = 3.2 Hz, H5a), 3.38 (dd, 1 H, $J_{5b,5a}$ = 11.1 Hz, $J_{5b,4}$ = 4.4 Hz, H5b), 1.54 (m, 1 H, H2a), 1.32 (m, 1H, H2b), 0.89 (s, 9 H, *t*-Bu), 0.04 (s, 3 H, Me), 0.02 (s, 3 H, Me).

3-O-Dimethoxytrityl-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erytro-pentitol (**87**)

Sodium hydroxide (10 N solution, 9 ml) was added to a solution of **86 a** (16.2 g, 29.6 mmol) in ethanol (120 ml) and the reaction mixture was refluxed for 6 h. After cooling to room temperature the reaction mixture was evaporated under reduced pressure and partitioned between dichloromethane and water. The organic layer was washed with water followed by monobasic sodium phosphate solution (15%), dried over sodium sulfate and evaporated. The residue was purified by flash chromatography on silica gel using a gradient of 40-60 % ethyl acetate-hexanes to provide 11.6 g (93.2%) of **87** as a white foam. ^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ: 7.36 (m, 9 H, Ph), 6.96 (m, 4 H, Ph), 4.52 (t, 1 H, $J_{OH,5}$ = 5.6 Hz, OH), 4.10 (m, 1 H, H3), 3.81 (s, 6 H, OCH_3), 3.75 (m, 3 H, H1a, H1b, H4), 3.18 (m, 1 H, H5a), 3.13 (m, 1H, H5b), 1.48 (m, 1 H, H2a), 1.19 (m, 1 H, H2b).

3-O-Dimethoxytrityl-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erytro-pentitol-5-succinate, triethylammonium salt (**88**)

Succinic anhydride (3.07 g, 30.7 mmol) and DMAP (0.34 g, 2.8 mmol) were added to a solution of **87** (11.6 g, 27.6 mmol) in pyridine (30 ml) and the reaction was allowed to proceed at 40°C overnight. After concentration under reduced pressure the residue was partitioned between ethyl acetate and water. The organic layer was separated, washed with cold 10% citric acid followed by water, dried over magnesium sulfate and evaporated. The residue was dissolved in dichloromethane (60 ml), treated with triethylamine (5.8 ml, 41.4 mmol) and the mixture was loaded on silica gel column, previously equilibrated with mixture of 2% MeOH and 2% triethylamine in dichloromethane. After elution with mixture of 3-10% of methanol and 0.5 % of triethylamine in dichloromethane appropriate fractions were combined, evaporated and dried *in vaccuo* overnight to furnish **88** as a white foam. Yield 14.9 g, 87%. ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ: 7.40 (m, 9 H, Ph), 6.92 (m, 4 H, Ph), 4.16 (m, 1 H, H3), 3.98 (m, 4 H, H1a, H1b, H4, H5a), 3.87 (s, 6 H, OCH_3), 3.65 (m, 1 H, H5b), 3.04 (q, 6 H, CH_3-*CH_2*-N), 2.58 (m, 4 H, CO-*CH_2*-*CH_2*-CO), 1.63 (m, 1H, H2a), 1.53 (m, 1 H, H2b), 1.27 (t, 9 H, *CH_3*-CH_2-N).

Example 11: Substituted phthalimide nucleosides

Compounds **5b-e** (**Figure 3**) were synthesized from compounds **4b-e** respectively according to conditions in Figure 3. Four cytidine 5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-2'-phthalimides (compounds **7b-e**, **Figure 3**) were converted to 5'-O-DMT-2'-amino cytidine under differing conditions (40% aq methylamine, methanolic methylamine, and methanolic methylamine with 10% water). Complete phthaloyl deprotection as determined by thin layer chromatography (TLC) was observed in all cases after 2-3 hours at room temperature in the formation of 5'-DMT-2'-deoxy-2'-amino cytidine (see Table 1).

Table 1: Triflate Displacement with different Phthalimides

Compound	Reaction conditions	Yield of phthalimide deriv. From 3	Yield of elimination
5a	60°C, 3h then Rt overnight	60	10-20
5b	RT, 20 h	56	10-20
5c	70-80°C, 3h	70	traces
5d	RT, 20 h	40	20
5e	RT, 20 h	35	20

RT is room temperature; h is hours; and deriv. is derivative.

Table 2: Depyrimidination of Thymidine derivatives with different catalysts

Starting material (amount of mmol)	Depyrimidination catalyst (amount of equivalents)	Product	Yield	
			g	%
76 a (10)	H_2SO_4 (0.1 eq)	81 a	1.61	69.3
76 a (10)	p-TsOH (0.3 eq)	81 a	1.72	74.0
76 a (10)	$(NH_4)_2SO_4$ (0.37 eq)	81 a	1.44	62.1
76 b (10)	MsOH (1 eq)	81 b	1.88	68.4
76 c (10)	MsOH (1 eq)	81 c	2.34	65.7

These examples are meant to be non-limiting and those skilled in the art will recognize that similar strategies, as described in the present invention, can be readily adapted to synthesize other nucleosides and nucleoside analogs, including other 2'deoxy-2'-N-phthaloyl, 2'-deoxy-2'-amino, 2'-O-methyl, L and D ribo nucleosides, C-nucleosides, nucleoside analogs and C-nucleoside analogs and are within the scope of this invention.

All patents and publications mentioned in the specification are indicative of the levels of skill of those skilled in the art to which the invention pertains. All references cited in this disclosure are incorporated by reference to the same extent as if each reference had been incorporated by reference in its entirety individually.

One skilled in the art would readily appreciate that the present invention is well adapted to carry out the objects and obtain the ends and advantages mentioned, as well as those inherent therein. The methods and compositions described herein as presently representative of preferred embodiments are exemplary and are not intended as limitations on the scope of the invention. Changes therein and other uses will occur to those skilled in the art, which are encompassed within the spirit of the invention, are defined by the scope of the claims.

It will be readily apparent to one skilled in the art that varying substitutions and modifications can be made to the invention disclosed herein without departing from the scope and spirit of the invention. Thus, such additional embodiments are within the scope of the present invention and the following claims.

The invention illustratively described herein suitably can be practiced in the absence of any element or elements, limitation or limitations, which is not specifically disclosed herein. The terms and expressions which have been employed are used as terms of description and not of limitation, and there is no intention that in the use of such terms and expressions of excluding any equivalents of the features shown and described or portions thereof, but it is recognized that various modifications are possible within the scope of the invention claimed. Thus, it should be understood that although the present invention has been specifically disclosed by preferred embodiments, optional features, modification and variation of the concepts herein disclosed can be resorted to by those skilled in the art, and that such modifications and variations are considered to be within the scope of this invention as defined by the description and the appended claims.

In addition, where features or aspects of the invention are described in terms of Markush groups or other grouping of alternatives, those skilled in the art will recognize that the invention is also thereby described in terms of any individual member or subgroup of members of the Markush group or other group.

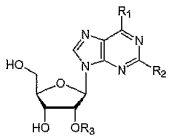
The invention illustratively described herein suitably can be practiced in the absence of any element or elements, limitation or limitations which is not specifically disclosed herein. The terms and expressions which have been employed are used as terms of description and not of limitation, and there is no intention that in the use of such terms and expressions of excluding any equivalents of the features shown and described or portions thereof, but it is recognized that various modifications are possible within the scope of the invention claimed. Thus, it should be understood that although the present invention has been specifically disclosed by preferred embodiments, optional features, modification and variation of the concepts herein disclosed can be resorted to by those skilled in the art, and that such modifications and variations are considered to be within the scope of this invention as defined by the description and the appended claims.

A person skilled in the art will recognize that use of the methods and processes of the instant invention is not limited to the compounds described herein and can be applied to the synthesis of many different nucleoside and non-nucleoside molecules containing amino, and/or N-phthaloyl groups as well as those molecules containing L-ribose sugar and/or D-ribose sugar functions. Non-limiting examples of modified nucleosides that are contemplated by the instant invention are reviewed by Usman and Cedergren, 1992, TIBS. 17, 34; Usman et al., 1994, Nucleic Acids Symp. Ser. 31, 163; Burgin et al., 1996, Biochemistry , 35, 14090.

Other embodiments are within the following claims.

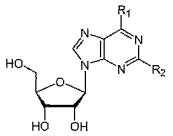
CLAIMS

1. A method for synthesizing a compound of Formula I:

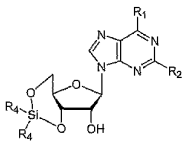


wherein R_1 and R_2 are independently hydrogen, $NR_{10}R_{11}$, $(NR_{10}R_{11})$alkyl, alkyl, fluoro or chloro, wherein R_{10} and R_{11} are independently hydrogen, alkyl, alkanoyl, acyl, alkoxy, or arylalkyl optionally substituted with up to three groups that are independently halogen, alkoxy, nitro, or alkyl; and R_3 is independently alkyl, alkoxyalkyl, alkyl-thio-alkyl, cyanoalkyl, or arylalkyl optionally substituted with up to three groups that are independently halogen, alkoxy, nitro, or alkyl; comprising:

a) introducing a 5',3'-bridging silyl protecting group to a compound of Formula II,

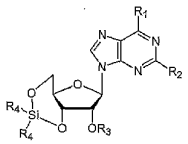


wherein R_1 and R_2 are as defined in Formula I, to yield a compound of Formula III;



wherein R_1 and R_2 are as defined in Formula I and each R_4 is independently alkyl, aryl or isoalkyl;

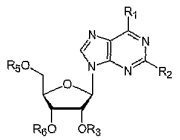
b) alkylating the product of step (a) to yield a compound of Formula IV;



wherein R_1, R_2 and R_3 are as defined in Formula I and R_4 is as defined in Formula III; and

c) deprotecting the product of step (b) to yield a compound of Formula I.

2. A method for synthesizing a compound having Formula V:



wherein R_1 and R_2 are independently hydrogen, $NR_{10}R_{11}$, $(NR_{10}R_{11})$alkyl, alkyl, fluoro or chloro, wherein R_{10} and R_{11} are independently hydrogen, alkyl, alkanoyl, acyl, alkoxy, or arylalkyl optionally substituted with up to three groups that are independently halogen, alkoxy, nitro, or alkyl; R_3 is independently alkyl, alkoxyalkyl, alkyl-thio-alkyl, cyanoalkyl, or arylalkyl optionally substituted with up to three groups that are independently halogen, alkoxy, nitro, or alkyl; R_5 is an acid labile protecting moiety; and R_6 is a phosphorous containing moiety; comprising:

a) introducing a 5',3'-bridging silyl protecting group to a compound of Formula II to yield a compound of Formula III;

b) alkylating the product of step (a) to yield a compound of Formula IV;

c) introducing at least one exocyclic amine protecting moiety to the product of step (b) provided that at least one of R_1 or R_2 in step (b) is amino;

d) deprotecting the product of step (c) to yield a compound of Formula I; and

e) introducing an acid labile protecting moiety followed by a phosphorous containing moiety to the product of step (d) to yield a compound of Formula V.

3. The method of claims 1 or 2, wherein R_4 is *tert*-butyl.

4. The method of claims 1 or 2, wherein R_1 is amino and R_2 is H.

5. The method of claims 1 or 2, wherein R_1 and R_2 are amino.

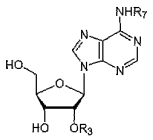
6. The method of claims 1 or 2, wherein R_1 is chloro and R_2 is H.

7. The method of claim 1, wherein the compound of Formula I is 2'-O-methyl adenosine.

8. The method of claim 2, wherein the compound of Formula V is 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-methyl-N2-benzoyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

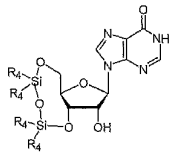
9. The method of claims 1 or 2, wherein said alkylation in step (b) is conducted in the presence of an alkyl halide and a base.

10. A method for synthesizing a compound having Formula VI:



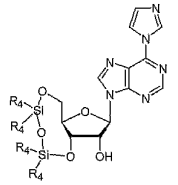
wherein R_3 is independently alkyl, alkoxyalkyl, alkyl-thio-alkyl, cyanoalkyl, or arylalkyl optionally substituted with up to three groups that are independently halogen, alkoxy, nitro, or alkyl; and R_7 is H, acyl, or arylalkanoyl, comprising:

a) introducing a 5',3'-bridging silyl protecting group to inosine to yield a compound of Formula VII;



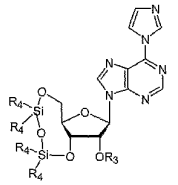
wherein each R_4 is independently alkyl, aryl or isoalkyl;

b) introducing an imidazole moiety to the product of step (a) to yield a compound of Formula VIII;



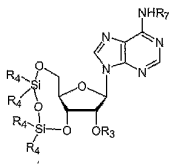
wherein each R_4 is independently alkyl, aryl or isoalkyl;

c) alkylating the product of step (b) to yield a compound of Formula IX;



wherein each R_4 is independently alkyl, aryl or isoalkyl and R_3 is as defined in Formula VI;

d) aminating the product of step (c) to yield a compound of Formula X;

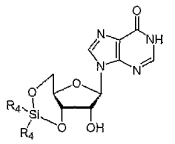


wherein R_3 and R_7 are as defined in Formula VI; and

e) desilylating the product of step (d) to yield a compound of Formula VI.

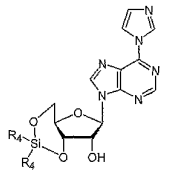
11. A method for synthesizing a compound having Formula VI, comprising:

a) introducing a 5',3'-bridging silyl protecting group to inosine to yield a compound of Formula XI;



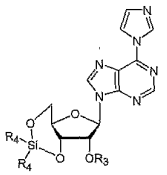
wherein each R_4 is independently alkyl, aryl or isoalkyl;

b) introducing an imidazole moiety to the product of step (a) to yield a compound of Formula XII;



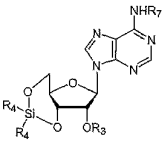
wherein each R_4 is independently alkyl, aryl or isoalkyl;

c) alkylating the product of step (b) to yield a compound of Formula XIII;



wherein R_3 is as defined in Formula VI and each R_4 is independently alkyl, aryl or isoalkyl;

d) aminating the product of step (c) to yield a compound of Formula XIV;

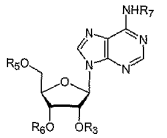


wherein R_3 and R_7 are as defined in Formula VI; and

e) desilylating the product of step (d) to yield a compound of Formula VI.

12. The method of any of claims 10 or 11, further comprising the step of:

a) introducing an acid labile protecting moiety followed by a phosphorous containing moiety to the product of step (e) to yield a compound of Formula XV;



wherein R_7 and R_3 are as defined in Formula VI, R_5 is an acid labile protecting moiety and R_6 is a phosphorous containing moiety.

13. The method of claim 10, wherein R_4 is isopropyl.

14. The method of claim 11, wherein R_4 is *tert*-butyl.

15. The method of any of claims 10 or 11, wherein R_3 is methyl.

16. The method of claim 12, wherein R_3 is methyl.

17. The method of claims 10 or 11, wherein the compound of Formula VI is 2'-O-methyl adenosine.

18. The method of claim 10 or 11, wherein the alkylation in step (c) is in the presence of methyl iodide and sodium hydride.

19. The method of claim 12, wherein the acyl moiety is a benzoyl moiety.

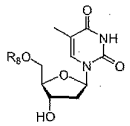
20. The method of claim 12, wherein the compound of Formula XV is 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-methyl-N2-benzoyl adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

21. A method for synthesizing a compound having Formula XVI:



wherein R_8 is a succinate moiety, aklylsilyl moiety, or H; and R_9 is an acid labile protecting moiety or H, comprising:

a) depyrimidination of a compound of formula XVII;



wherein R_8 is an silylalkyl moiety to yield a compound of Formula XVI, wherein R_8 is an silylalkyl moiety; and R_9 is H;

b) introducing an acid labile protecting moiety to the product of step (a) to yield a compound of Formula XVI, wherein R_8 is an silylalkyl moiety and R_9 is an acid labile protecting moiety;

c) deprotecting the product of step (b) to yield a compound for Formula XVI, wherein R_8 is H and R_9 is an acid labile protecting moiety; and

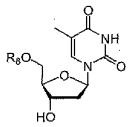
d) introducing a succinate moiety to the product of step (c) to yield a compound of Formula XVI, wherein R_8 is a succinate moiety and R_9 is an acid labile protecting moiety.

22. A method for synthesizing a compound having Formula XVI:



wherein R_8 is a phosphorous containing moiety, aklylsilyl moiety, or H; and R_9 is an acid labile protecting moiety or H, comprising:

a) depyrimidination of a compound of formula XVII;



wherein R_8 is an aklylsilyl moiety to yield a compound of Formula XVI, wherein R_8 is an silylalkyl moiety and R_9 is H;

b) introducing an acid labile protecting moiety to the product of step (a) to yield a compound of Formula XVI, wherein R_8 is an silylalkyl moiety and R_9 is an acid labile protecting moiety;

c) deprotecting the product of step (b) to yield a compound for Formula XVI, wherein R_8 is H and R_9 is an acid labile protecting moiety; and

d) introducing a phosphorous containing moiety to the product of step (c) under conditions suitable to yield a compound of Formula XVI, wherein R_8 is a phosphorous containing moiety and R_9 is an acid labile protecting moiety.

23. The method of claim 21 or 22, wherein the silylalkyl moiety of Formula XVII is *tert*-butyldimethylsilyl, *tert*-butyldiphenylsilyl, or triisopropylsilyl.

24. The method of claims 21 or 22, wherein step (b) comprises treatment of the product of step (a) with a silylating reagent and a catalyst followed by hydrogenation and selective desilylation to yield said compound of Formula XVI, wherein R_8 is an silylalkyl moiety and $R_9$is H.

25. The method of claim 24, wherein the silylating reagent comprises hexamethyldisilazane.

26. The method of claim 24, wherein the catalyst is sulfuric acid, para-toluene sulfonic acid, or ammonium sulfate.

27. The method of claim 24, wherein the catalyst is a sulfonic acid, sulfonyl halide, sulfonate or sulfamide.

28. The method of claim 27, wherein the sulfonic acid is methanesulfonic acid or trifluoromethanesulfonic acid

29. The method of claim 27, wherein the sulfamide is methanesulfamide or sulfamide.

30. The method of claim 27, wherein the sulfonyl halide is methanesulfonylchloride.

31. The method of claim 27, wherein the sulfonate is trimethylsilylmethane sulfonate.

32. The method of claim 24, wherein the selective desilylation comprises treatment with pyridinium trifluoroacetate.

33. The method of claim 24, wherein the hydrogenation is catalytic hydrogenation with hydrogen gas and palladium on carbon.

34. The method of claim 21 or 22, wherein the deprotection conditions in step (c) comprise treatment with sodium hydroxide in ethanol.

35. The method of claim 21, wherein the compound of Formula XVI of step (d) is 3-O-dimethoxytrityl-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol-5-O-succinate.

36. The method of claim 22, wherein the compound of Formula XVI of step (d) is 3-O-dimethoxytrityl-1,4-anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol-5-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite).

37. The method of any of claims 2, 21 or 22, wherein the acid labile protecting moiety is dimethoxytrityl, monomethoxytrityl, or trityl.

38. The method of claim 12, wherein the acid labile protecting moiety is dimethoxytrityl, monomethoxytrityl, or trityl.

39. The method of any of claims 2, 21 or 22, wherein the phosphorous containing moiety is a phosphoramidite moiety.

40. The method of claim 12, wherein the phosphorous containing moiety is a phosphoramidite moiety.

41. The method of any of claims 2, 21 or 22, wherein the phosphorous containing moiety is a triphosphate moiety.

42. The method of claim 12, wherein the phosphorous containing moiety is a triphosphate moiety.

43. The method of claim 40, wherein the phosphoramidite moiety is a 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite) moiety.

44. The method of claims 10 or 11, wherein the amination in step (d) is amination with ammonia.

45. The method of claims 10 or 11, wherein the amination in step (d) is amination with an acylamide.

46. The method of claim 45, wherein the acylamide is benzamide.

47. The method of claim 1, wherein the 5',3'-bridging silyl protecting group is introduced using di-tert-butylsilylbis(trifluoromethanesulfonate) in the presence of a base.

48. The method of claim 2, wherein the 5',3'-bridging silyl protecting group is introduced using 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxane in the presence of a base.

49. The method of claims 47 or 48, wherein the base is triethylamine, diisopropylethylamine, pyridine, collidine, lutidine, 1-methylimidazole, imidazole, N,N-dimethylaminopyridine, or combinations thereof.

50. The method of claims 10 or 11, wherein said alkylation in step (c) is conducted in the presence of an alkyl halide and a base.

51. The method of claim 50 wherein the alkyl halide is methyl iodide and the base is sodium hydride.

52. The method of claims 1 or 2, wherein the deprotection of the 5' and 3' hydroxyls is performed using a reagent that is an acid, a fluoride source, or a combination thereof.

53. The method of claim 52 wherein the reagent is HF/pyridine, tetrabutylammonium fluoride, aqueous HF solution, HF gas, or HF/triethylamine adduct.

54. The method of claim 1, wherein steps (a), (b), and (c) are independently performed at a temperature of about –20 °C to about 50 °C.

55. The method of claim 2, wherein steps (a), (b), (c), (d) and (e) are independently performed at a temperature of about –20 °C to about 50 °C.

56. The method of claim 10, wherein steps (a), (b), (c), (d) and (e) are independently performed at a temperature of about –20 °C to about 50 °C.

57. The method of claim 11, wherein steps (a), (b), (c), (d) and (e) are independently performed at a temperature of about –20 °C to about 50 °C.

58. The method of claim 12, wherein step (a) is performed at a temperature of about –20 °C to about 50 °C.

59. The method of claim 21, wherein steps (a), (b), (c), and (d) are independently performed at a temperature of about –20 °C to about 50 °C.

60. The method of claim 2, wherein the phosphorous containing moiety in step (c) is introduced with a chlorophosphine and a base.

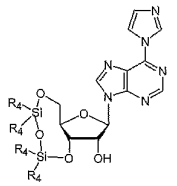
61. The method of claim 12, wherein the phosphorous containing moiety in step (a) is introduced with a chlorophosphine and a base.

62. The method of claims 21 or 22, wherein the phosphorous containing moiety in step (d) is introduced with a chlorophosphine and a base.

63. The method of claims 60 and 61, wherein the base is triethylamine, diisopropylethylamine, pyridine, collidine, lutidine, 1-methylimidazole, imidazole, N,N-dimethylaminopyridine, or combinations thereof.

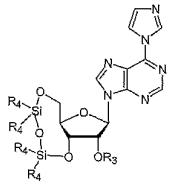
64. The method of claims 62, wherein the base is triethylamine, diisopropylethylamine, pyridine, collidine, lutidine, 1-methylimidazole, imidazole, N,N-dimethylaminopyridine, or combinations thereof.

65. A compound of Formula VIII;



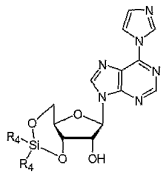
wherein each R_4 is independently alkyl, aryl or isoalkyl.

66. A compound of Formula IX;



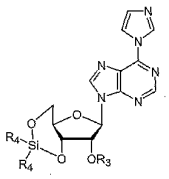
wherein R_3 is independently alkyl, alkoxyalkyl, alkyl-thio-alkyl, cyanoalkyl, or arylalkyl optionally substituted with up to three groups that are independently halogen, alkoxy, nitro, or alkyl and each R_4 is independently alkyl, aryl or isoalkyl.

67. A compound of Formula XII;



wherein each R_4 is independently alkyl, aryl or isoalkyl.

68. A compound of Formula XIII;



wherein R_3 is independently alkyl, alkoxyalkyl, alkyl-thio-alkyl, cyanoalkyl, or arylalkyl optionally substituted with up to three groups that are independently halogen, alkoxy, nitro, or alkyl and each R_4 is independently alkyl, aryl or isoalkyl.

69. The compound of claims 65 or 66, wherein R_4 is isopropyl.

70. The compound of claims 67 or 68, wherein R_4 is *tert*-butyl.

71. The compound of claims 66 or 68, wherein R_3 is methyl.

72. The method of claim 9 wherein the alkyl halide is methyl iodide and the base is sodium hydride.

73. The method of claim 10 or 11, wherein the imidazole moiety is introduced in the presence of a phosphourous reagent, halogenated alkane, and imidazole.

74. The method of claim 73, wherein the phosphorous reagent is triphenylphosphine.

75. The method of claim 73, wherein the halogenated alkane is carbon tetrachloride.

Figure 1: Synthesis of 2'-deoxy-2'-amino nucleosides, C-nucleosides and 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl nucleoside and C-nucleoside phosphoramidites

i) introduction of cyclic silyl protection; ii) introduction of leaving group at 2'-position; iii) phthalimide or substituted phthalimide displacement of leaving group; iv) deprotection of 5' and 3'-hydroxyls; v) introduction of 5'-protection; vi) phosphitylation; vii) deprotection of phthaloyl protection

R_1= cyclic silyl protecting group.
R_2=leaving group
R_3=5'-protecting group compatible with solid/solution phase oligonucleotide synthesis.
R_4=phosphoramidite moiety
B=protected or unprotected nucleic acid base or C-glycoside aglycon.

Figure 2: Synthesis of 2'-O-silyl nucleoside phosphoramidites and 2'-O-silyl C-nucleoside phosphoramidites

R_1= cyclic silyl protecting group.
R_2=substituted silyl
R_3=5'-protecting group compatible with solid/solution phase oligonucleotide synthesis.
R_4=phosphoramidite moiety
B=protected or unprotected nucleic acid base or C-glycoside aglycon.

i) introduction of cyclic silyl protection; ii) introduction of 2'-silyl ether; iii) introduction of base protection (when necessary); iv) deprotection of 5' and 3'-hydroxyls; v) introduction of 5'-protection; vi) phosphitylation

Figure 3: Synthesis of 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl Cytidine Phosphoramidite

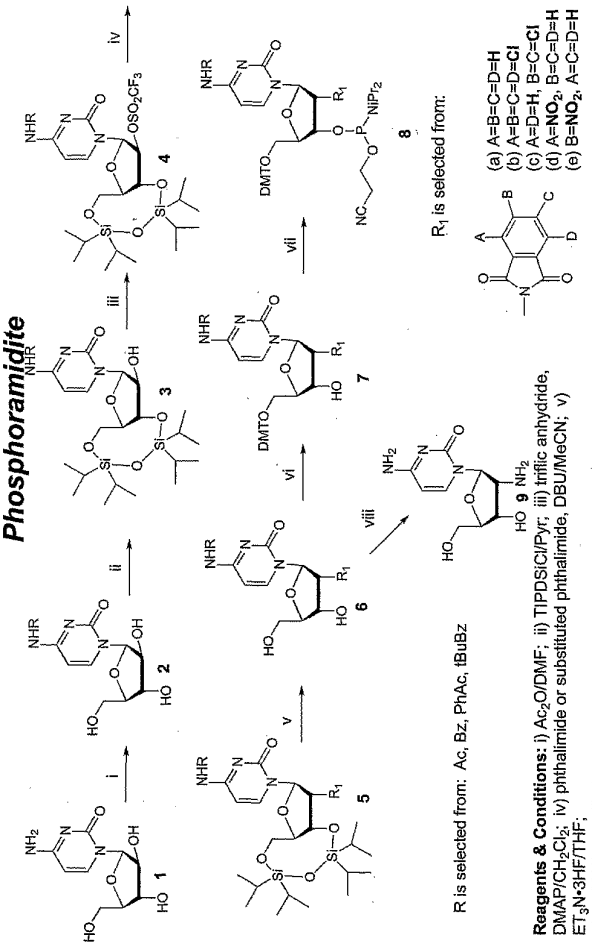
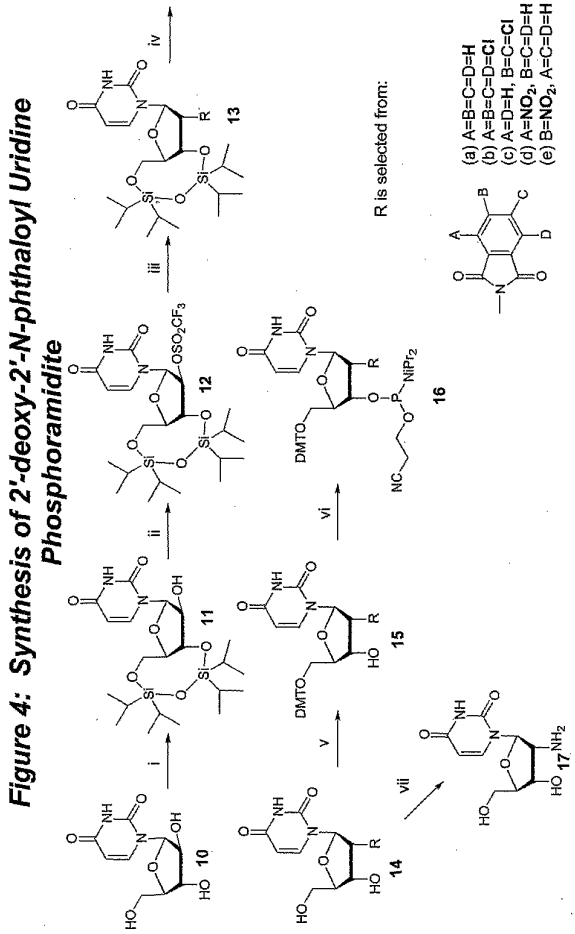
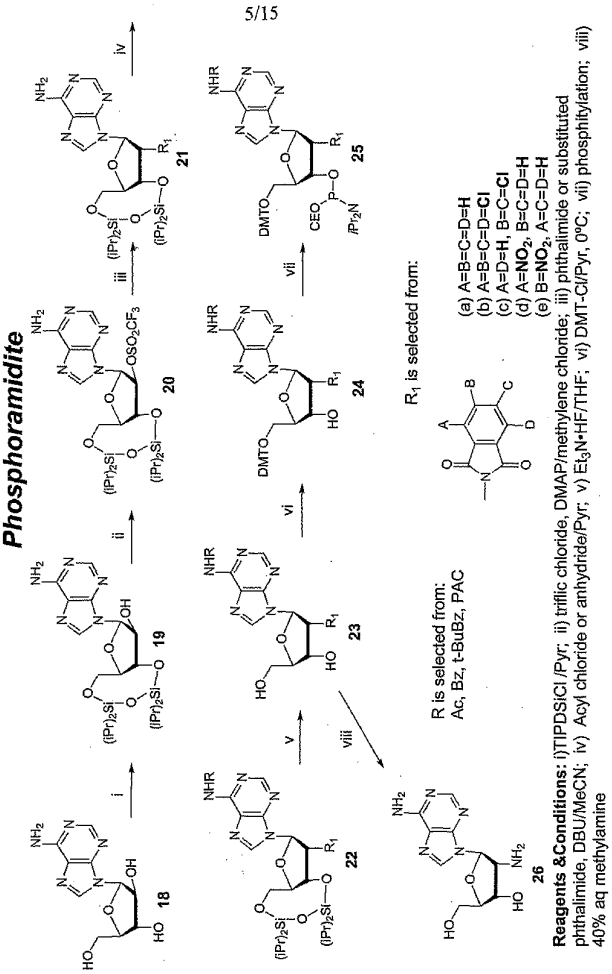


Figure 4: Synthesis of 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl Uridine Phosphoramidite



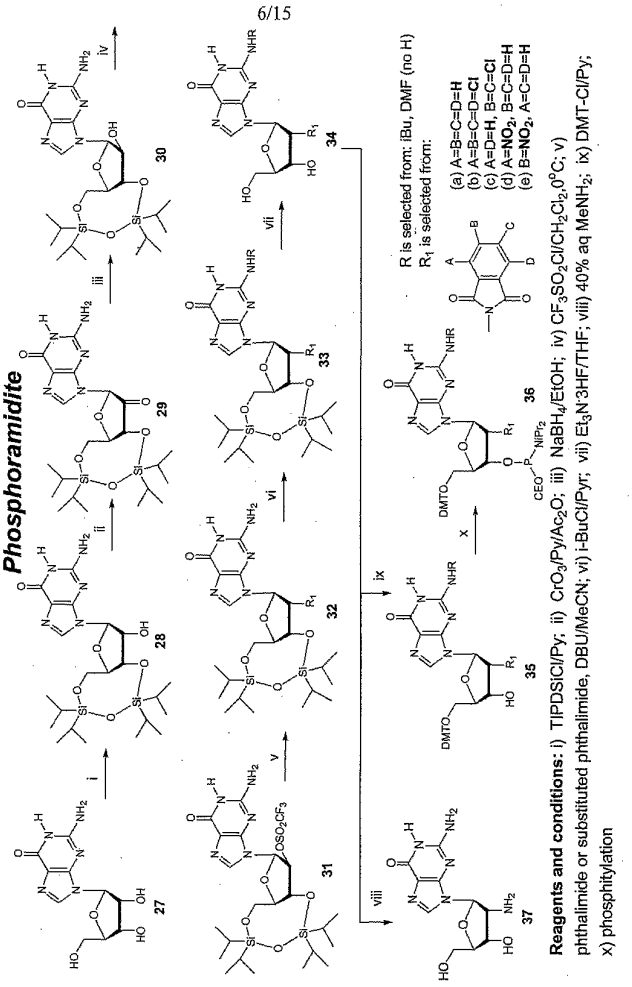
Reagents & Conditions: i) TIPDSiCl/Pyr; ii) triflic anhydride, DMAP/CH_2Cl_2; iii) phthalimide or substituted phthalimide, DBU/MeCN; iv) $ET_3N{\cdot}3HF/THF$; v) DMTCl/Pyr; vi) phosphitylation; vii) 40% aq methylamine

Figure 5: Synthesis of 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl Adenosine Phosphoramidite



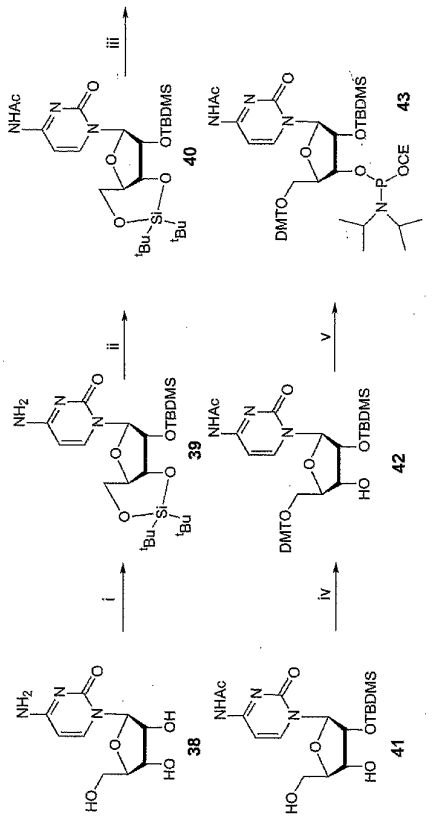
Reagents &Conditions: i)TIPDSiCl /Pyr; ii) triflic chloride, DMAP/methylene chloride; iii) phthalimide or substituted phthalimide, DBU/MeCN; iv) Acyl chloride or anhydride/Pyr; v) $Et_3N{\bullet}HF$/THF; vi) DMT-Cl/Pyr, 0°C; vii) phosphitylation; viii) 40% aq methylamine

Figure 6: Synthesis of 2'-deoxy-2'-N-phthaloyl Guanosine Phosphoramidite



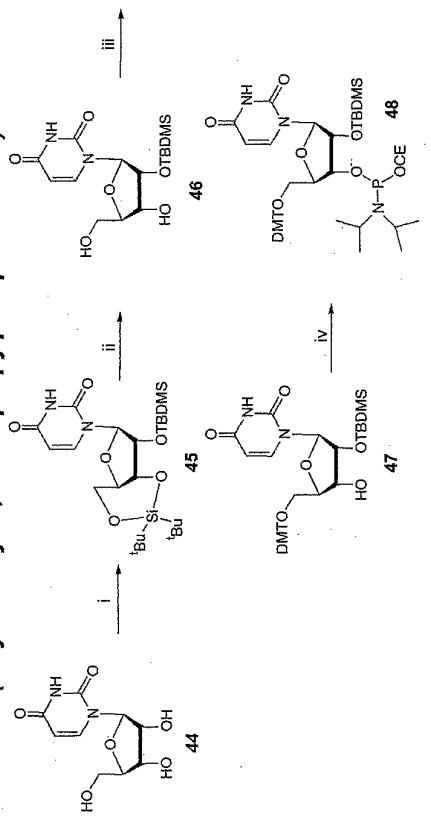
Reagents and conditions: i) TIPDSiCl/Py; ii) CrO_3/Py/Ac_2O; iii) $NaBH_4$/EtOH; iv) CF_3SO_2Cl/CH_2Cl_2,0^0C; v) phthalimide or substituted phthalimide, DBU/MeCN; vi) t-BuCl/Pyr; vii) $Et_3N{\cdot}3HF$/THF; viii) 40% aq $MeNH_2$; ix) DMT-Cl/Py; x) phosphitylation

Figure 7: Synthesis of 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N4-acetyl Cytidine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropyl)phosphoramidite)



Reagents & Conditions: i) a. $MeSO_3H$; b. tert-$Bu_2Si(OSO_2CF_3)_2$ / Imidazole; c. tert-$BuMe_2SiCl$ / Imidazole ii) acetic anhyride/pyridine iii) HF-Pyr/CH_2Cl_2; iv) DMT-Cl / Pyr; v) phosphitylation

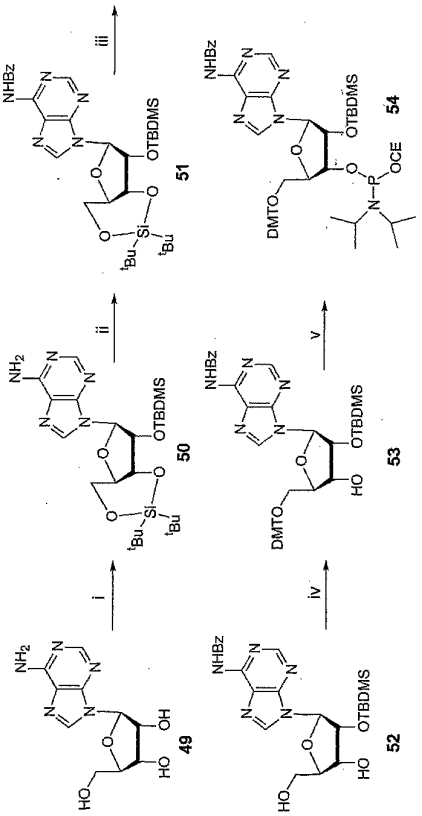
Figure 8: Synthesis of 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl Uridine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite)



Reagents & Conditions: i) a. tert-$Bu_2Si(OSO_2CF_3)_2$ / Imidazole, b. tert-$BuMe_2SiCl$ / Imidazole; ii) HF-Pyr/CH_2Cl_2; iii) DMT-Cl / Pyr; iv) phosphitylation

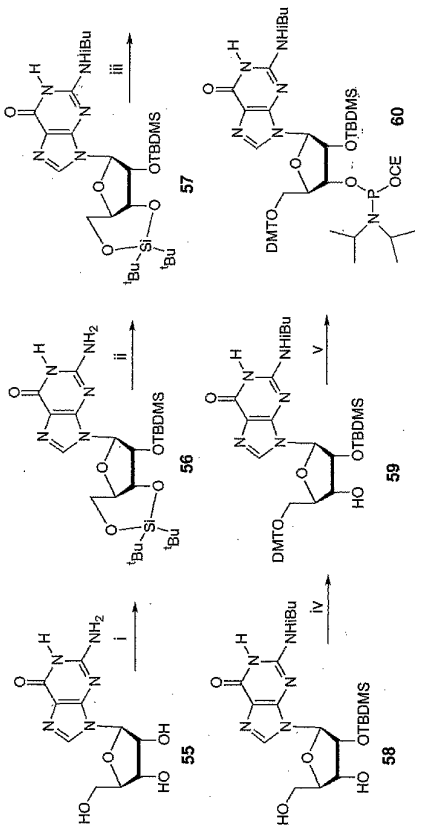
CE = 2-cyanoethyl

Figure 9: Synthesis of 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N6-benzoyl Adenosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite)



Reagents & Conditions: i) a. tert-$Bu_2Si(OSO_2CF_3)_2$ / Imidazole, b. tert-$BuMe_2SiCl$ / Imidazole; ii) a. Benzoyl chloride/Pyr b. Morpholine; iii) HF-Pyr/CH_2Cl_2; iv) DMT-Cl / Pyr; v) phosphitylation

Figure 10: Synthesis of 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-tert-butyldimethylsilyl-N2-isobutyryl Guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite)



Reagents & Conditions: i) a. tert-$Bu_2Si(OSO_2CF_3)_2$ / Imidazole, b. tert-$BuMe_2SiCl$ / Imidazole; ii) a. Isobutyryl chloride/Pyr, b. Methylamine/EtOH; iii) HF-Pyr/CH_2Cl_2; iv) DMT-Cl / Pyr; v) phosphitylation

CE = 2-cyanoethyl

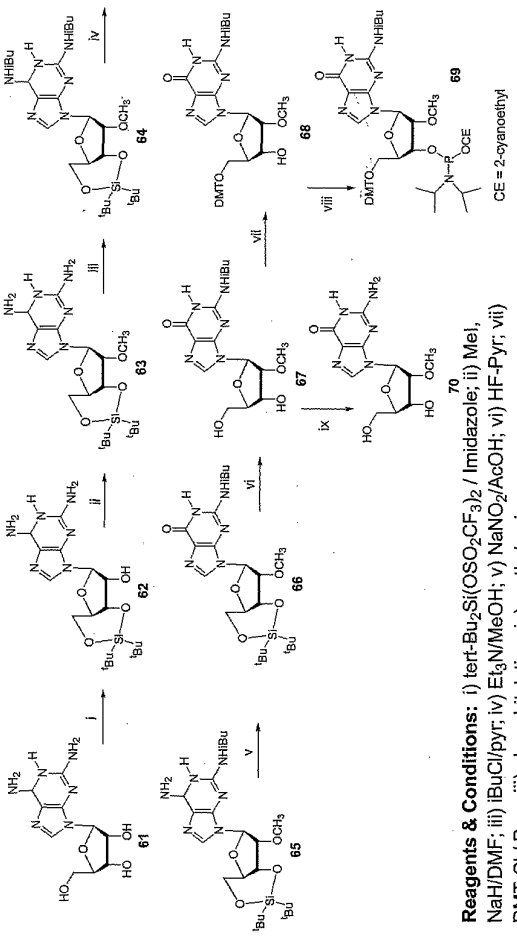


Figure 11: Synthesis of 2'-O-methyl Guanosine and 5'-O-dimethoxytrityl-2'-O-methyl-N2-isobutyryl Guanosine 3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidite)

Reagents & Conditions: i) tert-$Bu_2Si(OSO_2CF_3)_2$ / Imidazole; ii) MeI, NaH/DMF; iii) iBuCl/pyr; iv) Et_3N/MeOH; v) $NaNO_2$/AcOH; vi) HF-Pyr; vii) DMT-Cl / Pyr; viii) phosphitylation; ix) methylamine

CE = 2-cyanoethyl

Figure 12. Elimination reaction

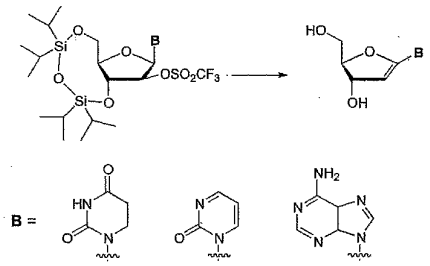


Figure 13: Synthesis of 2'-O-methyl-N6-benzoyl Adenosine Derivatives

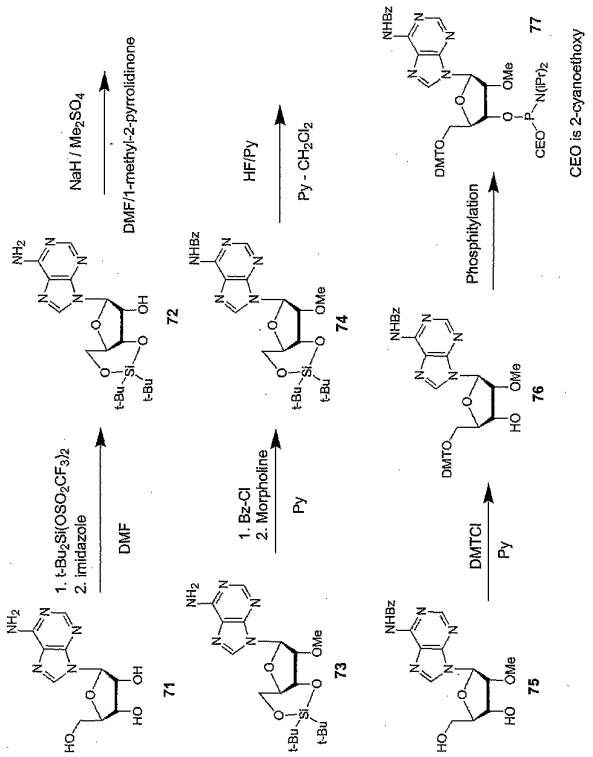


Figure 14: Synthesis of 2'-O-methyl Adenosine Derivatives

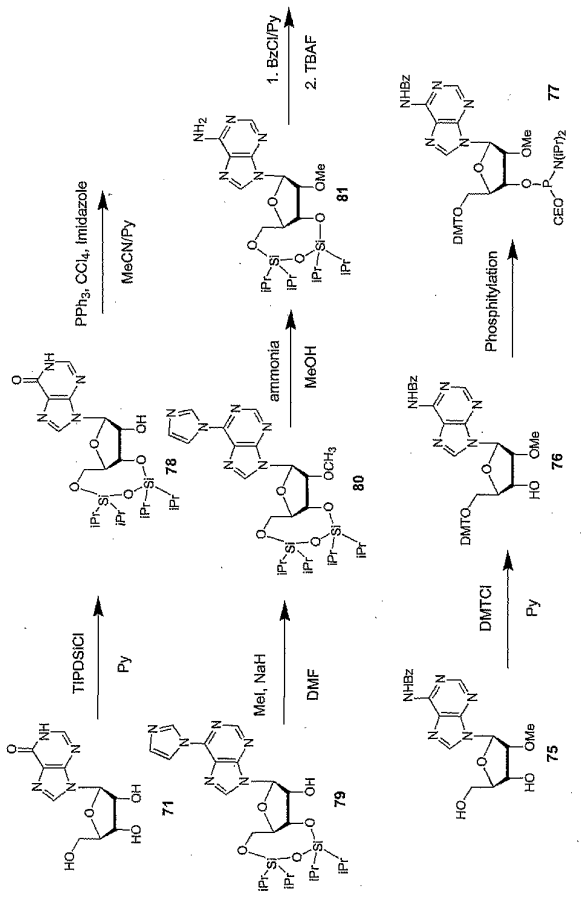
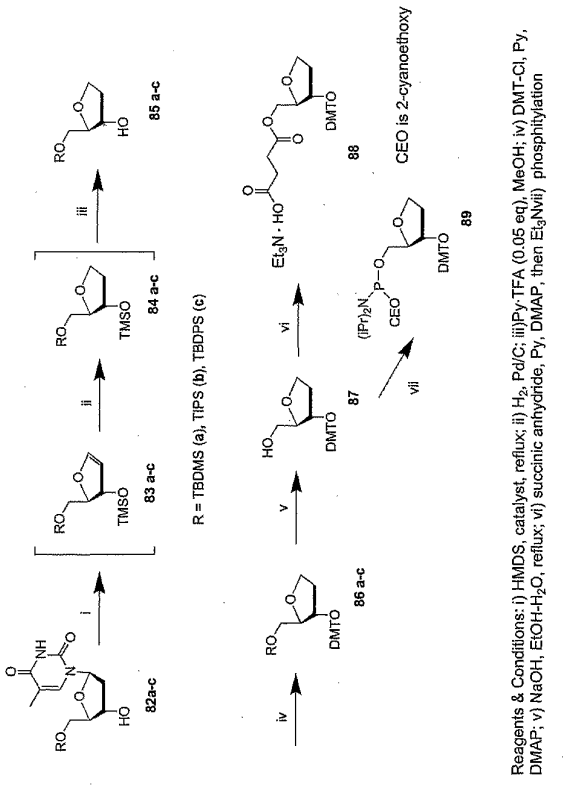


Figure 15: Synthesis of 1,4-Anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol derivatives



【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
7 March 2002 (07.03.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/018405 A3

(51) International Patent Classification[7]: C07H 19/06, 19/16, A61K 31/7052, C12Q 1/68

(21) International Application Number: PCT/US01/27116

(22) International Filing Date: 31 August 2001 (31.08.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/230,057 1 September 2000 (01.09.2000) US
60/286,571 25 April 2001 (25.04.2001) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **RIBOZYME PHARMACEUTICALS, INCORPORATED** [US/US]; 2950 Wilderness Place, Boulder, CO 80301 (US).

(72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **BEIGELMAN, Leonid** [US/US]; 5530 Colt Drive, Longmont, CO 80503 (US). **KARPEISKY, ALexander** [US/US]; 420 Vernier Avenue, Lafayette, CO 80026 (US). **SEREBRYANY, Vladimir** [RU/US]; 877 east Moorehead Circle, #A, Boulder, CO 80303 (US). **HAEBERLI, Peter** [US/US]; 705 7th Street, Berthoud, CO 80513 (US). **SWEEDLER, David** [US/US]; 956 St. Andrews Lane, Louisville, CO 80027 (US).

(74) Agent: **TERPSTRA, Anita, J.**; McDonnell Boehnen Hulbert & Berghoff, Suite 3200, 300 South Wacker Drive, Chicago, IL 60606 (US).

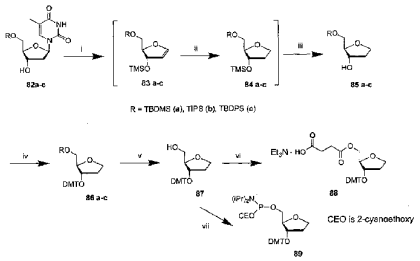
(81) Designated States *(national)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States *(regional)*: ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European

[Continued on next page]

(54) Title: METHODS FOR SYNTHESIZING NUCLEOSIDES, NUCLEOSIDE DERIVATIVES AND NON-NUCLEOSIDE DERIVATIVES

Synthesis of 1,4-Anhydro-2-deoxy-D-erythro-pentitol derivatives



Reagents & Conditions: i) HMDS, catalyst, reflux; ii) H_2, Pd/C; iii)Py-TFA (0.05 eq), MeOH; iv) DMT-Cl, Py, DMAP; v) NaOH, EtOH-H_2O, reflux; vi) succinic anhydride, Py, DMAP, then Et_3NVii) phosphitylation

(57) Abstract: The present invention provides methods for the chemical synthesis of nucleosides and derivatives thereof, including 2'-amino, 2'-N-phthaloyl, 2'-O-methyl, 2'-O-silyl, 2'-OH nucleosides, C-nucleosides, nucleoside phosphoramidites, C-nucleoside phosphoramidites, and non-nucleoside derivatives.

WO 02/018405 A3

WO 02/018405 A3

patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

with international search report

before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

(88) Date of publication of the international search report:
3 January 2003

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US 01/27116

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07H19/06 C07H19/16 A61K31/7052 C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C07H A61K C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WADA T ET AL: "Regioselective Protection of the 2'-Hydroxyl Group of N-Acyl-3',5'-O-di(t-butyl)silanediylnucleoside Derivatives by Use of t-BuMgCl and 2-(Trimethylsilyl)ethoxymethyl Chloride" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 36, no. 10, 6 March 1995 (1995-03-06), pages 1683-1684, XP004028564 ISSN: 0040-4039 the whole document --- -/--	1-9

[X] Further documents are listed in the continuation of box C. [X] Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
17 June 2002	31 10. 2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer de Nooy, A

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US 01/27116

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	A. KARPEISKY ET AL.: "2'-O-Methylthiomethyl modifications in hammerhead ribozymes" NUCLEOSIDES & NUCLEOTIDES, vol. 16, 1997, pages 955-958, XP002202372 figure 1	1-9
A	WO 97 26270 A (RIBOZYME PHARM INC) 24 July 1997 (1997-07-24) figure 14 page 43 -page 46	1
A	GROTLI M ET AL: "2'-O-(Carbamoylmethyl)oligoribonucleotides" TETRAHEDRON, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 55, no. 14, April 1999 (1999-04), pages 4299-4314, XP004161108 ISSN: 0040-4020 figure 1	1
A	M. GROTLI ET AL.: "Protection of the guanine residue during synthesis of 2'-O-alkylguanosine derivatives" J. CHEM. SOC., PERKIN TRANS. 1, 1997, pages 2779-2788, XP002202373 page 2780	1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 01/27116

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

see cont.sheet

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (1)) (July 1998)

International Application No. PCT/US 01/27116

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. Claims: 1-20 (in full), 37 (in part), 38 (in full), 39 (in part), 40 (in full), 41 (in part), 42-58 (in full), 60-61 (in full), 63 (in full), 65-75 (in full)

Processes for the introduction of an R3 group at the O'-2 position of purine ribonucleosides where R3 is as defined in claim 1, and compounds of claims 65-71.

2. Claims: 21-36 (in full), 37 (in part), 39 (in part), 41 (in part), 59 (in full), 62 (in full), 64 (in full)

Process for the synthesis of a compound of formula XVI of claim 21.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/US 01/27116

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9726270	A	24-07-1997	US	5728818 A	17-03-1998
			US	5998203 A	07-12-1999
			AU	1430097 A	11-08-1997
			EP	1108724 A2	20-06-2001
			EP	0886641 A2	30-12-1998
			WO	9726270 A2	24-07-1997
			US	5962675 A	05-10-1999

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(72)発明者 ベイジェルマン，レオニド
アメリカ合衆国 ８０５０３ コロラド州，ロングモント，コルト ドライブ ５５３０
(72)発明者 カーペイスキー，アレキサンダー
アメリカ合衆国 ８００２６ コロラド州，ラファイエット，ベルニエ アヴェニュー ４２０
(72)発明者 セレブリヤニー，ウラディミール
アメリカ合衆国 ８０３０３ コロラド州，ボウルダー，イースト ムーアヘッド サークル ８７７，＃エー
(72)発明者 ハエベルリ，ピーター
アメリカ合衆国 ８０５１３ コロラド州，バーソウド，セブンス ストリート ７０５
(72)発明者 スウィードラー，デイヴィッド
アメリカ合衆国 ８００２７ コロラド州，ルイスビル，セント アンドリューズ レーン ９５６

Ｆターム(参考) 4C057 BB02 CC03 DD01 LL09 LL19 LL29 LL42 NN10