

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 881 434**

51 Int. Cl.:

C07F 9/6584 (2006.01)
C07F 5/02 (2006.01)
C07F 9/6558 (2006.01)
C07H 19/10 (2006.01)
C07H 19/20 (2006.01)
C07H 21/00 (2006.01)
C07H 23/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.11.2017** **PCT/JP2017/040469**
87 Fecha y número de publicación internacional: **17.05.2018** **WO18088491**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.11.2017** **E 17869909 (6)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.06.2021** **EP 3539970**

54 Título: **Compuesto polimerizable, compuesto y método para producir oligómero de boranofosfato**

30 Prioridad:

14.11.2016 JP 2016221656

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.11.2021

73 Titular/es:

**TOKYO UNIVERSITY OF SCIENCE FOUNDATION
(100.0%)
1-3 Kagurazaka, Shinjuku-ku
Tokyo 162-8601, JP**

72 Inventor/es:

**WADA, TAKESHI;
SAITO, TATSUYA;
ISHII, YUKA y
NUKAGA, YOHEI**

74 Agente/Representante:

SAHUQUILLO HUERTA, Jesús

ES 2 881 434 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuesto polimerizable, compuesto y método para producir oligómero de boranofosfato

5 **Campo técnico**

La presente divulgación se refiere a un compuesto polimerizable, a un compuesto y a un método de producción de un oligómero de boranofosfato.

10 **Técnica anterior**

Una molécula antisentido que tiene una secuencia de bases complementaria a un ácido nucleico diana forma un dúplex con el ácido nucleico diana y puede inhibirse la producción de proteínas a partir del ácido nucleico diana. La molécula antisentido recibe atención como un medicamento eficaz para el tratamiento génico, ya que la molécula antisentido actúa directamente sobre un gen relacionado con la enfermedad, cuando el gen relacionado con la enfermedad se selecciona como ácido nucleico diana.

Se requiere principalmente que la molécula antisentido (oligómero de ácido nucleico) tenga permeabilidad a la membrana celular, resistencia a las nucleasas, estabilidad química en el cuerpo (por ejemplo, en un entorno de pH 7,4) y la propiedad de formar un dúplex estable con una secuencia de bases específica, desde el punto de vista de inhibir eficazmente la producción de proteína diana.

Como molécula antisentido, por ejemplo, un oligómero que tiene una estructura en la que al menos una porción está sustituida por un enlace fosforotioato entre estructuras fosfodiéster de oligómeros de ácido nucleico, un oligómero que tiene una estructura en la que al menos una porción está sustituida por una estructura de boranofosfato (a continuación en el presente documento, denominado "oligómero de boranofosfato") entre las estructuras de fosfodiéster de oligómeros de ácido nucleico y similares, y ha habido muchos ejemplos de investigación extensos hasta ahora y los oligómeros se han puesto en uso práctico incluso como medicamento.

La estructura de boranofosfato se refiere a una estructura en la que uno de los átomos de oxígeno que no forman puentes en una estructura de fosfodiéster está sustituido por un grupo borano ($-BH_3$).

El oligómero de boranofosfato tiene la ventaja de tener alta resistencia a las nucleasas, alta actividad de interferencia de ARN (iARN), mayor afinidad por el ARN que por el ADN, una baja interacción inespecífica con proteínas y aplicabilidad a la terapia de captura de neutrones de boro (BNCT).

Un método convencional de producción de un oligómero de boranofosfato puede incluir métodos descritos en J. Am. Chem. Soc. 1990, 112, 9000., Tetrahedron Lett. 1997, 38, 4957., J. Am. Chem. Soc. 1998, 120, 9417., Tetrahedron Lett. 1998, 39, 3899., T. Angew. Chem. Int. Ed. 2009, 48, 496-499, T. RSC Adv. 2015, 5, 2392-2395, y Tetrahedron Lett. 2012, 53, 4361-4364.

Sumario de la invención

Dado que en un oligómero de boranofosfato, un átomo de fósforo es un centro asimétrico, el oligómero de boranofosfato contiene unidades monoméricas que son dos tipos de estereoisómeros (isómero Rp, isómero Sp) que tienen propiedades diferentes entre sí.

Por tanto, se requiere el desarrollo de un método de síntesis estereoselectiva de los isómeros.

En un método de síntesis de un oligómero de boranofosfato descrito en J. Am. Chem. Soc. 1990, 112, 9000., Tetrahedron Lett. 1997, 38, 4957., J. Am. Chem. Soc. 1998, 120, 9417., o Tetrahedron Lett. 1998, 39, 3899., existía el problema de que el control estérico de un átomo de fósforo no era posible.

Un método para sintetizar un oligómero de boranofosfato descrito en T. Angew. Chem. Int. Ed. 2009, 48, 496-499 o RSC Adv. 2015, 5, 2392-2395 es útil porque es posible el control estérico de un átomo de fósforo; sin embargo, existía el problema de que se producía una reacción secundaria en un resto de base protegido por un grupo protector tras la boronación de un átomo de fósforo.

Mediante la reacción secundaria descrita anteriormente, es posible la síntesis de un oligómero de boranofosfato que contiene un nucleósido que tiene sólo una estructura de timina (T) o una estructura de uracilo (U) como base, pero era difícil sintetizar un oligómero de boranofosfato que contiene un nucleósido que tiene una base que tiene un grupo amino ($-NH_2$) tal como una estructura de adenina (A), una estructura de citosina (C) o una estructura de guanina (G).

En un método de síntesis de un oligómero de boranofosfato descrito en Tetrahedron Lett. 2012, 53, 4361-4364, se retira un grupo protector de un resto de base junto con un grupo auxiliar asimétrico de un átomo de fósforo, en condiciones ácidas.

5 Por tanto, dado que no se produce ninguna reacción secundaria de un resto de base tras la boronación descrita anteriormente, es posible sintetizar estereoselectivamente un oligómero de boranofosfato que contiene un nucleósido que tiene una base que tiene un grupo amino tal como una estructura de adenina, estructura de citosina o estructura de guanina, así como una estructura de timina o estructura de uracilo.

10 En la presente divulgación, sintetizar estereoselectivamente un oligómero de boranofosfato se refiere a realizar la síntesis controlando si se incluye uno de los dos estereoisómeros (isómero Rp o isómero Sp) que tienen el átomo de fósforo como centro asimétrico para cada unidad monomérica (una unidad nucleotídica en la que uno de los átomos de oxígeno que no forman puentes de una estructura de fosfodiéster está sustituido con un grupo borano (-BH3)).

15 En el método de síntesis de un oligómero de boranofosfato según Tetrahedron Lett. 2012,53,4361-4364, el grupo auxiliar asimétrico tiene un átomo de carbono terciario y un impedimento estérico por el grupo auxiliar asimétrico es grande, con el fin de permitir la desprotección en condiciones ácidas.

20 Por tanto, existía el problema de que la reactividad de un compuesto polimerizable es baja y la estereoselectividad de una reacción de condensación se reduce, por ejemplo, aproximadamente del 1 al 2%.

Debido a los problemas mencionados anteriormente, según un método de síntesis de un oligómero de boranofosfato relacionado con Tetrahedron Lett. 2012,53,4361-4364, por ejemplo, fue difícil sintetizar un oligómero de cadena larga como un decámero u oligómero superior.

25 Como resultado de estudios intensivos, los presentes inventores encontraron que el compuesto polimerizable según la presente divulgación es altamente reactivo y permite la síntesis estereoselectiva de un oligómero (por ejemplo, un oligómero de boranofosfato), independientemente de si una base en un nucleósido tiene un grupo amino.

30 El monómero según la presente divulgación no tiene un átomo de carbono terciario descrito anteriormente, es altamente reactivo debido a un pequeño impedimento estérico y permite la síntesis de un oligómero de cadena larga de, por ejemplo, un decámero u oligómero superior. Además, dado que un grupo protector de un resto de base se retira junto con un grupo auxiliar asimétrico de un átomo de fósforo, en condiciones ácidas, por ejemplo, en el caso de la síntesis de ADN, se considera que el monómero permite la síntesis estereoselectiva de un oligómero de boranofosfato en el que cada una de las cuatro especies de bases de A, T, C y G se combinan libremente, independientemente de si una base en un nucleósido tiene un grupo amino.

Además, el compuesto según la presente divulgación es un compuesto novedoso que es un producto intermedio de síntesis del oligómero de boranofosfato.

40 Además, según el método de producción de un oligómero de boranofosfato según la presente divulgación, se ha encontrado que es posible sintetizar un oligómero de cadena larga de, por ejemplo, un decámero u oligómero superior, y también, es posible sintetizar estereoselectivamente un oligómero de boranofosfato en el que un compuesto polimerizable que contiene un nucleósido en el que una base tiene un grupo amino y un compuesto polimerizable que contiene un nucleósido en el que una base no tiene un grupo amino se combinan libremente.

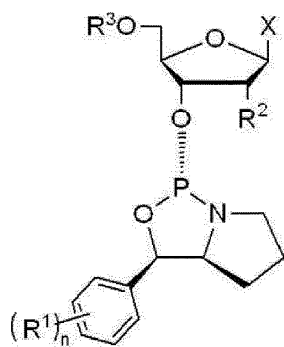
Un objeto de la presente invención es proporcionar un compuesto polimerizable que sea altamente reactivo y permita la síntesis estereoselectiva de un oligómero de boranofosfato, independientemente de si una base en un nucleósido tiene un grupo amino.

50 Además, otro objeto de la presente invención es proporcionar un compuesto novedoso.

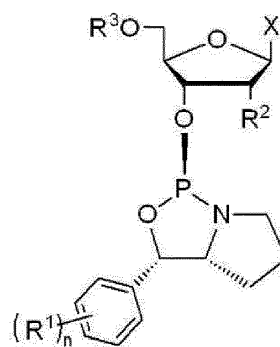
Además, otro objeto de la presente invención es proporcionar un método para producir un oligómero de boranofosfato, que tiene un alto rendimiento y estereoselectividad, y permite la síntesis estereoselectiva de un oligómero de boranofosfato, independientemente de si una base en un nucleósido tiene un grupo amino.

Como medio para resolver los problemas anteriores, se incluyen las siguientes realizaciones.

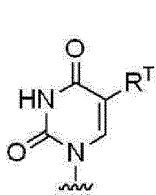
60 <1> Un compuesto polimerizable representado por la siguiente fórmula A-1 o fórmula A-2.



A-1



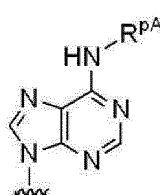
A-2



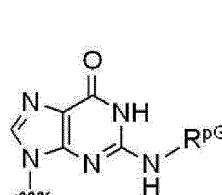
B-1



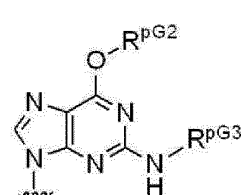
B-2



B-3



B-4

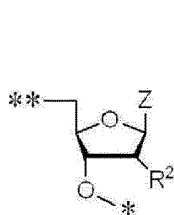


B-5

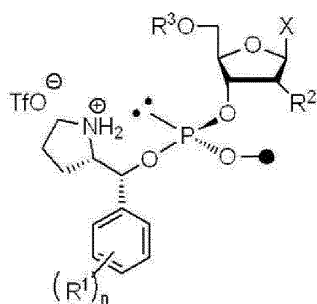
5 En la fórmula A-1 o fórmula A-2, R^1 representa un grupo donador de electrones; n representa un número entero desde 1 hasta 5; R^2 representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o $-OR^0$, en la que R^0 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo protector de un grupo hidroxilo; R^3 representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de un grupo hidroxilo; y X representa una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-1 a la fórmula B-5.

10 En la fórmula B-1 a la fórmula B-5, R^T representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquénilo o un grupo alquínilo; cada uno de R^{pC} , R^{pA} y R^{pG} representa un grupo protector que se retira en una condición ácida; R^{pC2} representa un átomo de hidrógeno; R^{pG2} representa un grupo protector; R^{pG3} representa un grupo protector que se retira en una condición ácida, o un átomo de hidrógeno; y una línea ondulada (~~~~~) representa un sitio de unión a otra estructura.

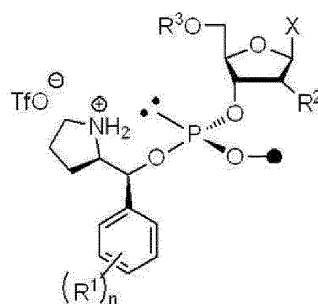
15 <2> Un compuesto que incluye una unidad estructural representada por la siguiente fórmula T-1 y una unidad estructural representada por la siguiente fórmula D-1 o fórmula D-2.



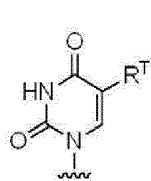
T-1



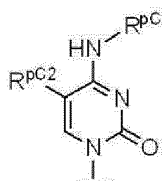
D-1



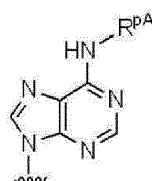
D-2



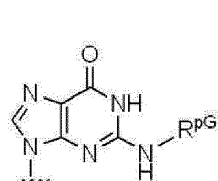
B-1



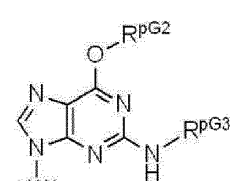
B-2



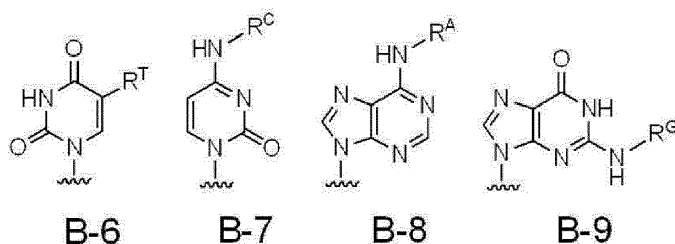
B-3



B-4



B-5



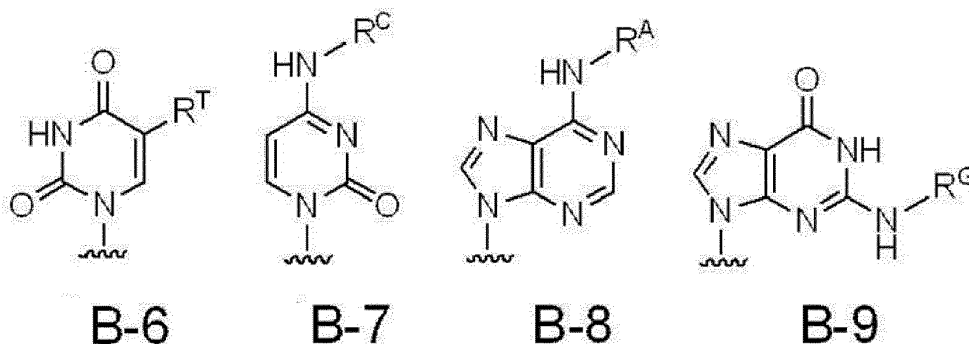
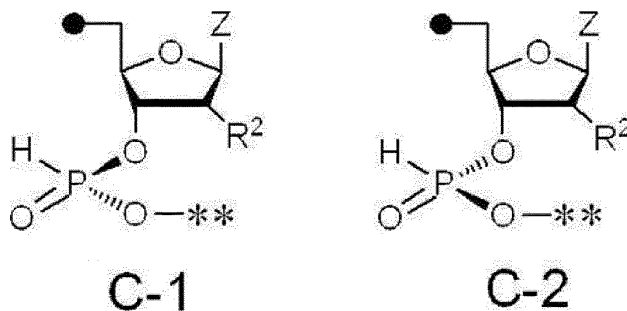
En la fórmula T-1, R^2 representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o $-OR^O$; en la que R^O representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo protector de un grupo hidroxilo; Z representa una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-6 a la fórmula B-9; y cada uno de * y ** representa un sitio de unión con otra estructura.

En la fórmula D-1 o fórmula D-2, R^1 representa un grupo donador de electrones; n representa un número entero desde 1 hasta 5; R^2 representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o $-OR^O$, en la que R^O representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo protector de un grupo hidroxilo; R^3 representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de un grupo hidroxilo; X representa una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-1 a la fórmula B-5; TfO representa un anión triflato; y un círculo negro (●) representa un sitio de unión con otra estructura.

En la fórmula B-1 a la fórmula B-5, R^T representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquenilo o un grupo alquinilo; cada uno de R^{pC} , R^{pA} y R^{pG} representa un grupo protector que se retira en una condición ácida; R^{pC2} representa un átomo de hidrógeno; R^{pG2} representa un grupo protector; R^{pG3} representa un grupo protector que se retira en una condición ácida o un átomo de hidrógeno; y una línea ondulada (~~~~) representa un sitio de unión a otra estructura.

En la fórmula B-6 a la fórmula B-9, R^T representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquenilo o un grupo alquinilo; R^C , R^A y R^G representan un átomo de hidrógeno; y una línea ondulada (~~~~) representa un sitio de unión a otra estructura.

<3> Un compuesto descrito en <2>, que incluye además una o ambas unidades estructurales representadas por la siguiente fórmula C-1 o fórmula C-2.



En la fórmula C-1 o fórmula C-2, R^2 representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o $-OR^O$; R^O representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo protector de un grupo hidroxilo; Z representa una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-6 a la fórmula B-9; y cada uno de ** y un círculo negro (●) representa un sitio de unión con otra estructura.

En la fórmula B-6 a la fórmula B-9, R^T representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquenoilo o un grupo alquinilo; cada uno de R^C , R^A y R^G representa un átomo de hidrógeno; y una línea ondulada () representa un sitio de unión a otra estructura.

- 5 <4> Un método de producción de un oligómero de boranofosfato, que incluye una etapa de condensar el compuesto polimerizable descrito en <1>.

Según una realización de la presente invención, puede proporcionarse un compuesto polimerizable que es altamente reactivo y permite la síntesis estereoselectiva de un oligómero de boranofosfato, independientemente de si una base en un nucleósido tiene un grupo amino.

Además, según otra realización de la presente invención, se proporciona un compuesto novedoso.

- 15 Además, según otra realización de la presente invención, puede proporcionarse un método de producción de un oligómero de boranofosfato, que tiene alta estereoselectividad y rendimiento, y permite una síntesis estereoselectiva de un oligómero de boranofosfato, independientemente de si una base en un nucleósido tiene un grupo amino.

Breve descripción de los dibujos

- 20 La figura 1 muestra gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (A) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Rp)-T_BT [(Rp)-24a] y (B) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Sp)-T_BT [(Sp)-24a].

- 25 La figura 2 muestra gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (C) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Rp)-dC_BT [(Rp)-24b] y (D) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Sp)-dC_BT [(Sp)-24b].

- 30 La figura 3 muestra gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (E) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Rp)-dA_BT [(Rp)-24c] y (D) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Sp)-dA_BT [(Sp)-24c].

- 35 La figura 4 muestra gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (G) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Rp)-dA_BT [(Rp)-24c] y (H) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Sp)-dA_BT [(Sp)-24c].

- La figura 5 muestra gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (I) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Rp)-dG_BT [(Rp)-24d] y (J) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Sp)-dG_BT [(Sp)-24d].

- 40 La figura 6 muestra gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (K) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de todo-(Rp)-d (C_BA_BG_BT) [25] y (L) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de todo-(Sp)-d (C_BA_BG_BT) [26].

- 45 La figura 7 muestra gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (M) un producto purificado de todo-(Rp)-d (C_BA_BG_BT) [25] y (N) un producto purificado de todo-(Sp)-d (C_BA_BG_BT) [26].

- 50 La figura 8 muestra gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (O) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de todo-(Sp)-d(G_BT_B(A_BC_BT_B)₃T) [27] y (P) un producto purificado de todo-(Sp)-d(G_BT_B(A_BC_BT_B)₃T) [27].

- La figura 9 muestra gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (Q) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de todo-(Sp)-d(C_BA_BG_BT_B)₂(C_BA_BG_B)T[28] y (R) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de todo-(Rp)-d(C_BA_BG_BT_B)₂(C_BA_BG_B)T [29].

Descripción de las realizaciones

A continuación en el presente documento, la presente divulgación se describirá en detalle.

- 60 Además, la descripción “de xx a yy” en el presente documento representa un valor numérico que incluye xx e yy.

Además, en la presente divulgación, “% en masa” y “% en peso” son sinónimos y “partes en masa” y “parte en peso” son sinónimos.

- 65 Además, en la presente divulgación, una combinación de dos o más realizaciones preferidas es una realización más preferida.

En la presente divulgación, con respecto a una representación de un grupo en un compuesto representado por una fórmula, cuando "sustituido o no sustituido" no se describe y el grupo puede tener además un sustituyente, no sólo se incluye un grupo no sustituido sino también un grupo sustituido, a menos que se especifique lo contrario. Por ejemplo, en la fórmula, cuando se describe que "R representa un grupo alquilo", significa que "R representa un grupo alquilo no sustituido o un grupo alquilo sustituido".

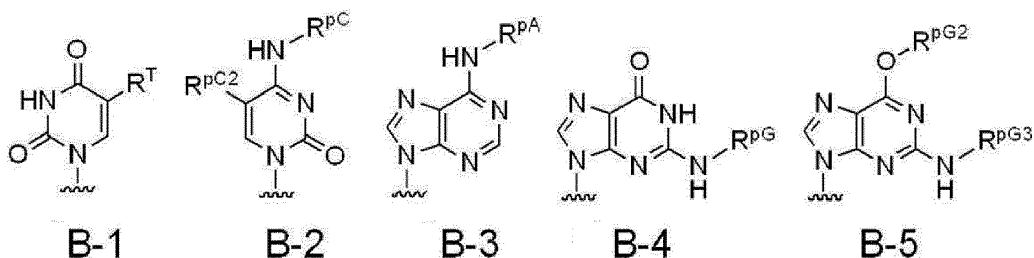
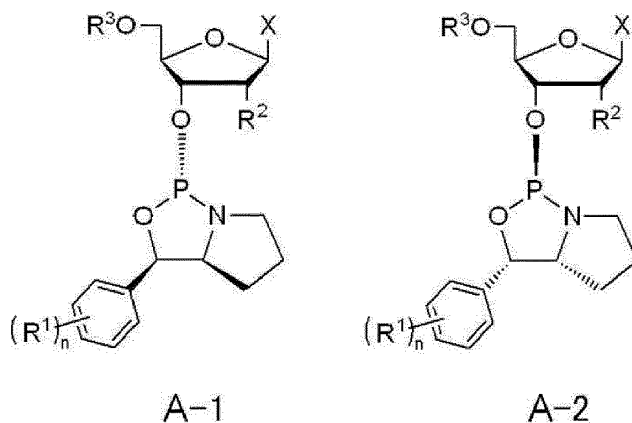
La palabra "etapa" en el presente documento se incluye en el término, no sólo en el caso en el que la etapa es una etapa independiente, sino también en el caso en el que la etapa no puede distinguirse claramente de otras etapas, cuando se logra un fin previsto de la etapa.

A continuación en el presente documento, la presente divulgación se describirá en detalle.

(Compuesto polimerizable)

El compuesto polimerizable según la presente divulgación es un compuesto representado por la siguiente fórmula A-1 o fórmula A-2.

Se prefiere que el compuesto polimerizable según la presente divulgación sea un compuesto polimerizable para formar un oligómero de boranofosfato.



En la fórmula A-1 o fórmula A-2, R^1 representa un grupo donador de electrones; n representa un número entero de 1 a 5; R^2 representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o $-OR^0$; R^0 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo protector de un grupo hidroxilo; R^3 representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de un grupo hidroxilo; y X representa una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-1 a la fórmula B-5.

En la fórmula B-1 a la fórmula B-5, R^T representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquenilo o un grupo alquínico; cada uno de R^{pC} , R^{pA} y R^{pG} representa un grupo protector que se retira en condiciones ácidas; R^{pC2} representa un átomo de hidrógeno; R^{pG2} representa un grupo protector; R^{pG3} representa un grupo protector que se retira en una condición ácida o un átomo de hidrógeno; y una línea ondulada (~~~~~) representa un sitio de unión a otra estructura.

En la fórmula A-1 o fórmula A-2, R^1 representa un grupo donador de electrones, y preferiblemente un grupo alcoxi, $-NR^N_2$, un grupo hidroxilo, un grupo arilo o un grupo alquilo, más preferiblemente un grupo alcoxi, todavía más preferiblemente un grupo alcoxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, y particularmente de manera preferible un grupo metoxilo.

R^N cada uno independientemente representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 10 átomos de carbono.

En la fórmula A-1 o fórmula A-2, n representa un número entero de 1 a 5, preferiblemente un número entero de 1 a 3, y más preferiblemente 1.

- 5 Cuando n es 2 o más, una pluralidad de R^1 puede ser idéntica o diferente entre sí.

En la fórmula A-1 o fórmula A-2, R^2 representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o $-OR^0$.

- 10 Los ejemplos del átomo de halógeno de R^2 incluyen un átomo de flúor, un átomo de cloro, un átomo de bromo y un átomo de yodo, y se prefiere un átomo de flúor.

- R^0 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo protector de un grupo hidroxilo, y como grupo protector de un grupo hidroxilo, por ejemplo, es posible usar un grupo protector conocido convencionalmente como un grupo protector usado para proteger el grupo hidroxilo en la posición 2 de una estructura de ribosa usada comúnmente en la síntesis de ARN o su derivado, también puede hacerse referencia a grupos protectores descritos en publicaciones tales como Green, *et al.*, Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª edición, 1999, John Wiley & Sons, Inc., y los ejemplos de los mismos incluye un grupo acetilo, un grupo fenoxiacetilo, un grupo pivaloilo, un grupo bencilo, un grupo 4-metoxibencilo, un grupo benzoilo, un grupo trifenilmetilo, un grupo 4,4'-dimetoxitritilo (DMTr), un grupo 4-metoxitritilo (MMTr), un grupo 9-fenilxantenilo, un grupo trimetilsililo, un grupo cianometoximetilo, un grupo 2-(cianoetoxi)etilo y un grupo cianoetoximetilo, y preferiblemente un grupo 4,4'-dimetoxitritilo (DMTr).

- R^3 representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de un grupo hidroxilo, y como grupo protector de un grupo hidroxilo, puede hacerse referencia a grupos protectores descritos en publicaciones tales como Green, *et al.*, Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª edición, 1999, John Wiley & Sons, Inc., y los ejemplos de los mismos incluyen un grupo acetilo, un grupo fenoxiacetilo, un grupo pivaloilo, un grupo bencilo, un grupo 4-metoxibencilo, un grupo benzoilo, un grupo trifenilmetilo, un grupo 4,4'-dimetoxitritilo (DMTr), un grupo 4-metoxitritilo (MMTr), un grupo 9-fenilxantenilo, un grupo trimetilsililo, un grupo cianometoximetilo, un grupo 2-(cianoetoxi)etilo y un grupo cianoetoximetilo, y preferiblemente un grupo 4,4'-dimetoxitritilo (DMTr).

- 30 En la fórmula A-1 o fórmula A-2, X representa una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-1 a la fórmula B-5, la fórmula B-1 se corresponde con una estructura de timina o estructura de uracilo, la fórmula B-2 se corresponde con una estructura de citosina, la fórmula B-3 se corresponde con una estructura de adenina y la fórmula B-4 y la fórmula B-5 se corresponden con una estructura de guanina, respectivamente.

- 35 Además, la estructura de timina, la estructura de uracilo, la estructura de citosina, la estructura de adenina y la estructura de guanina incluyen cada una una estructura que tiene un sustituyente.

- 40 En la fórmula B-1 a la fórmula B-5, se prefiere que R^T represente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquenilo o un grupo alquinilo, y un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo alquenilo que tiene de 2 a 4 átomos de carbono, o se prefiere un grupo alquinilo que tiene de 2 a 4 átomos de carbono.

- 45 Cada uno de R^{pC} , R^{pA} y R^{pG} representan un grupo protector que se retira en condiciones ácidas, puede hacerse referencia a grupos protectores descritos en publicaciones tales como Green, *et al.*, Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª edición, 1999, John Wiley & Sons, Inc., por ejemplo, se prefiere un grupo terc-butoxicarbonilo, un grupo benciloxicarbonilo, un grupo 4,4'-trimetoxitritilo (TMTr), un grupo 4,4'-dimetoxitritilo (DMTr), un grupo 4-metoxitritilo (MMTr) o grupo 4-metoxibenciloxicarbonilo (MCBz), y desde el punto de vista de reducir el impedimento estérico y mejorar la reactividad de un monómero, se prefiere más un grupo 4-metoxibenciloxicarbonilo (MCBz).

- 50 R^{pC2} representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, preferiblemente un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, y más preferiblemente un grupo metilo.

- R^{pG2} representa un grupo protector, y como grupo protector, por ejemplo, es posible usar un grupo protector conocido de un grupo hidroxilo sin limitación, también puede hacerse referencia a grupos protectores descritos en publicaciones tales como Green, *et al.*, Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª edición, 1999, John Wiley & Sons, Inc., y los ejemplos de los mismos incluyen un grupo acetilo, un grupo fenoxiacetilo, un grupo pivaloilo, un grupo bencilo, un grupo 4-metoxibencilo, un grupo benzoilo, un grupo trifenilmetilo, un grupo 4,4'-dimetoxitritilo (DMTr), un grupo 4-metoxitritilo (MMTr), un grupo 9-fenilxantenilo, un grupo trimetilsililo, un grupo trimetilsililetilo, un grupo cianometoximetilo, un grupo 2-(cianoetoxi)etilo y un grupo cianoetoximetilo, y preferiblemente un grupo trimetilsililetilo.

Además, como R^{pG2} , se prefiere un grupo protector que se retira en una condición ácida.

- 65 R^{pG3} representa un grupo protector o un átomo de hidrógeno que se retira en condiciones ácidas en R^{pG} descrito anteriormente, y los ejemplos del grupo protector incluyen el mismo grupo protector que los retirados en una condición ácida, y lo mismo se aplica a una realización preferida del mismo.

<Método de producción de un compuesto polimerizable>

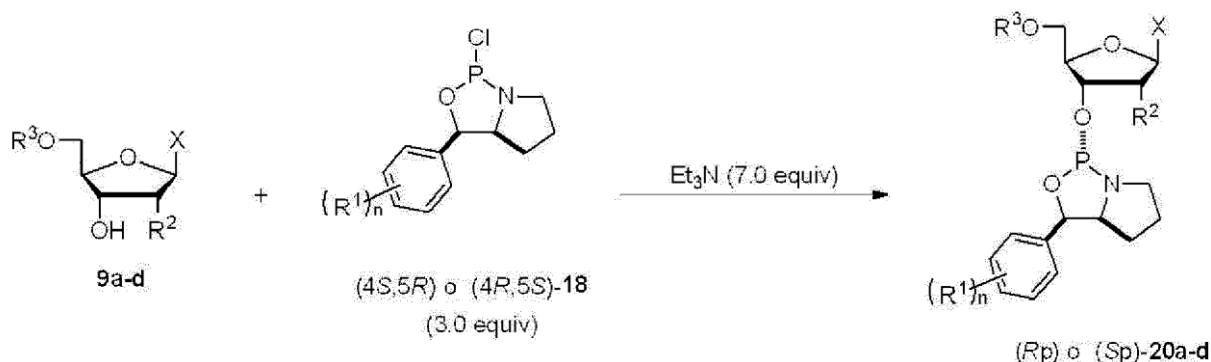
5 A continuación en el presente documento, se describirá un ejemplo del método de producción de un compuesto polimerizable según la presente divulgación. Sin embargo, la presente divulgación no se limitará al mismo.

El compuesto polimerizable según la presente divulgación puede sintetizarse, por ejemplo, según el siguiente esquema 1.

10 En el siguiente esquema 1, Et₃N es trietilamina.

En el siguiente esquema 1, (Rp)o(Sp)-20a-d es un compuesto representado por la fórmula A-1 o fórmula A-2.

Esquema 1



15 En el esquema 1, R¹, n, R², R³ y X tienen el mismo significado que R¹, n, R², R³ y X en la fórmula A-1 o fórmula A-2, respectivamente, y lo mismo se aplica a una realización preferida de los mismos.

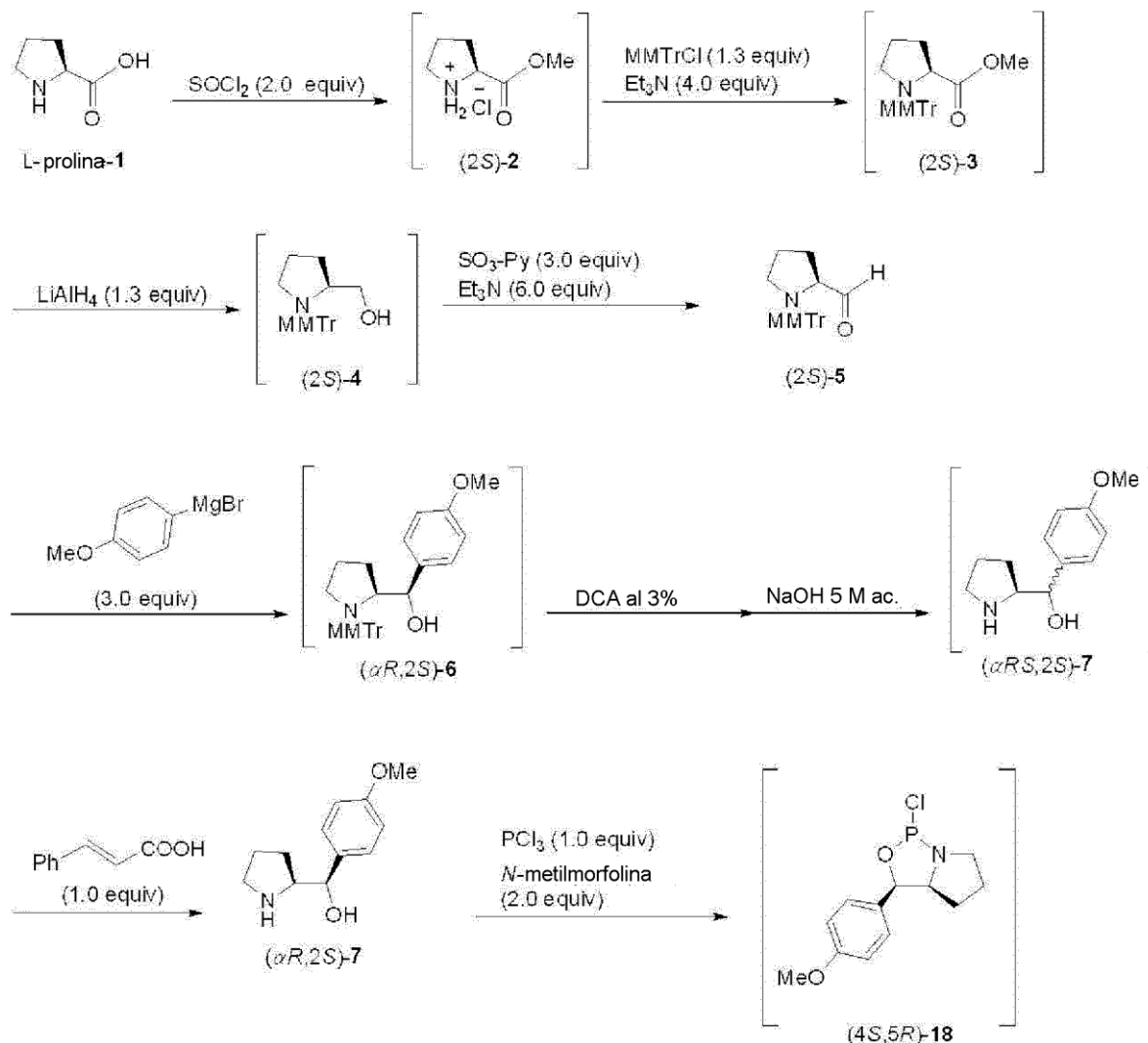
20 El compuesto 9a-d en el esquema 1 puede sintetizarse usando, por ejemplo, timidina, uridina, citidina, adenosina o guanosina como materia prima.

El compuesto (4S,5R)-18 en el esquema 1 puede sintetizarse, por ejemplo, según el siguiente esquema 2.

25 En el siguiente esquema 2, Me es un grupo metilo, MMTrCl es cloruro de 4-metoxitritilo, Et₃N es trietilamina, SO₃-Py es un complejo de piridina-trióxido de azufre, DCA es ácido dicloroacético y PCl₃ es tricloruro de fósforo.

Además, aunque el siguiente esquema 2 usa L-prolina como material de partida, el compuesto (4R,5S)-18 puede sintetizarse realizando una síntesis similar usando D-prolina como material de partida.

Esquema 2



5 (Método de producción de oligómero de boranofosfato)

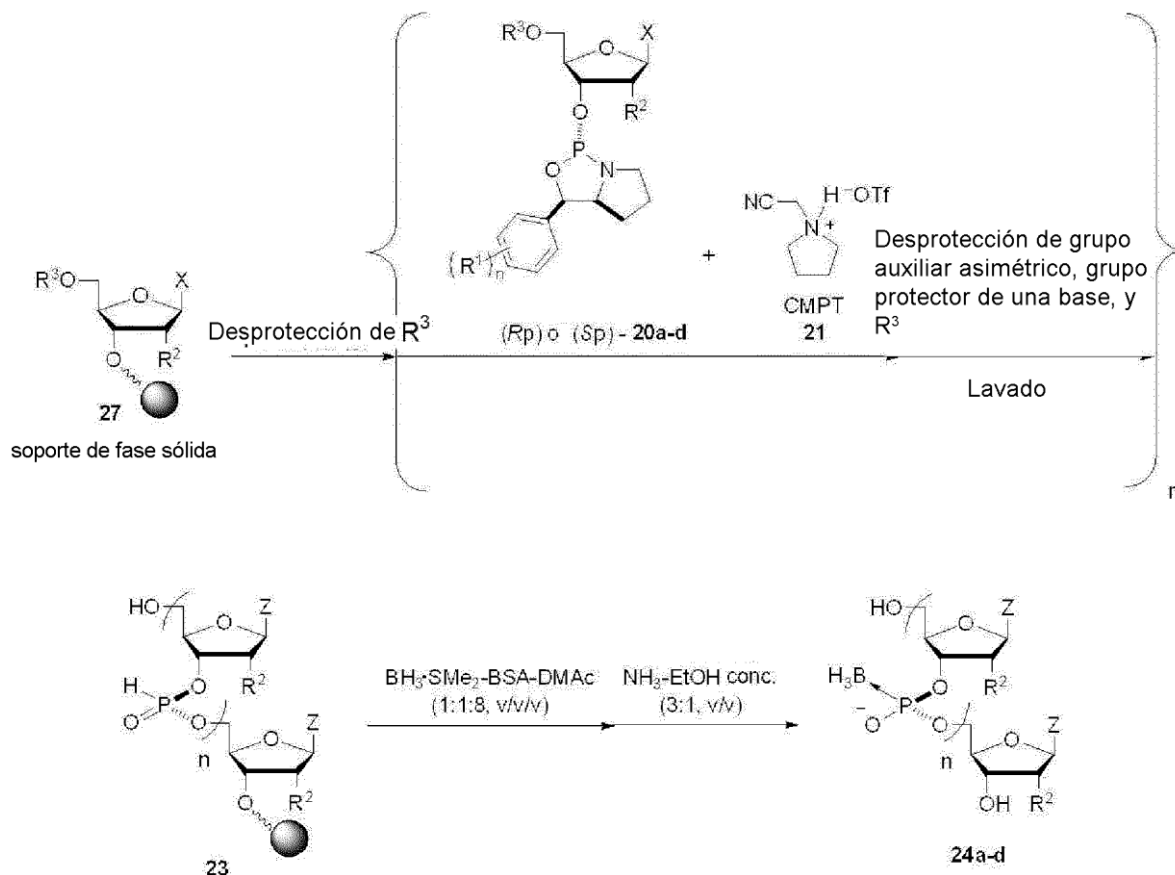
Un método de producción de un oligómero de boranofosfato según la presente divulgación es un método de producción de un oligómero de boranofosfato, incluyendo el método una etapa de condensar un compuesto polimerizable según la presente divulgación (a continuación en el presente documento, también denominada "etapa de condensación").

A continuación en el presente documento, se describirá un ejemplo del método de producción de un oligómero de boranofosfato según la presente divulgación. Sin embargo, la presente divulgación no se limita al mismo.

<Etapa de condensación>

Una etapa de condensación en la presente divulgación sigue, por ejemplo, el siguiente esquema 3.

Esquema 3



- 5 En el esquema 3, R^1 , n , R^2 , R^3 y X tienen el mismo significado que R^1 , n , R^2 , R^3 y X en la fórmula A-1 o fórmula A-2, respectivamente, y lo mismo se aplica a una realización preferida de los mismos.

Además, en el esquema 3, Z representa una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-6 a la fórmula B-9 descrita más adelante.

- 10 En el esquema 3, se realiza desprotección de R^3 en el compuesto 27 cargado sobre un soporte sólido. La desprotección de R^3 se realiza, por ejemplo, en condiciones ácidas.

- 15 Por consiguiente, una cadena oligomérica se extiende repitiendo una reacción de condensación y desprotección de un grupo auxiliar asimétrico, un grupo protector de una base y R^3 , usando el compuesto polimerizable y un activador. La desprotección del grupo auxiliar asimétrico y el grupo protector de una base se realiza en una condición ácida. Al usar un grupo protector que se retira en condiciones ácidas como R^3 , es posible realizar desprotección de R^3 simultáneamente con la desprotección del grupo auxiliar asimétrico y el grupo protector de una base.

- 20 En el esquema 3, aunque se usan el compuesto polimerizable 20a-d y el compuesto 21 (CMPT, triflato de N-(cianometil)pirrolidinio) que es un activador, el activador no se limita a los mismos y puede cambiarse.

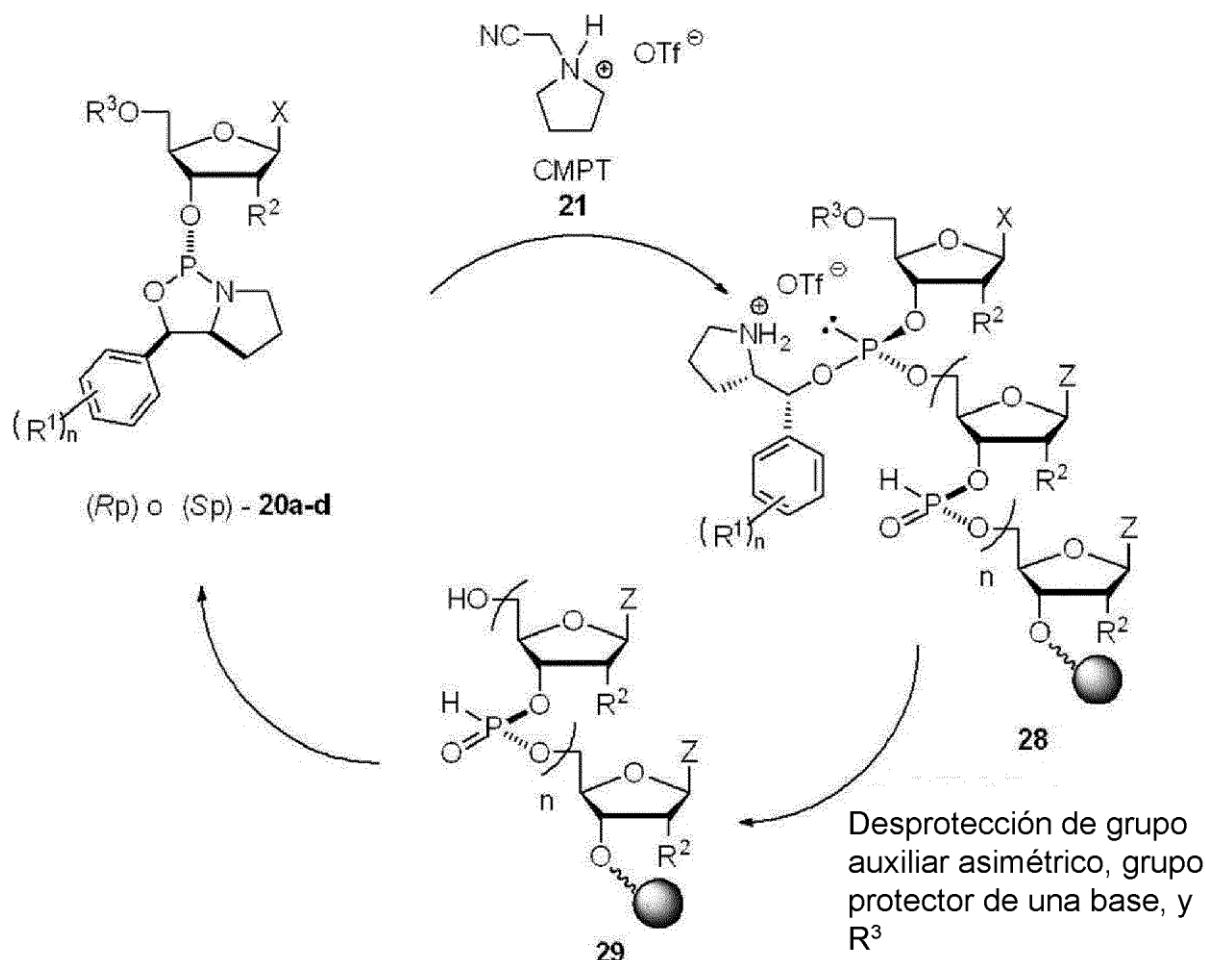
- Después de que se forme el oligómero de H-fosfonato 23, se realiza boronación, de ese modo se obtiene el oligómero de boranofosfato 24a-d.

- 25 En el esquema 3, aunque se muestra un método de síntesis mediante un método en fase sólida, es posible realizar síntesis mediante un método en fase líquida mediante el mismo esquema.

- 30 Desde el punto de vista de la estereoselectividad y la velocidad de reacción, se prefiere realizar síntesis mediante un método en fase sólida.

En el esquema 3, se muestran detalles de una reacción de extensión de una cadena oligomérica en el siguiente esquema 4.

Esquema 4



En el esquema 4, R^1 , n , R^2 , R^3 y X cada uno independientemente tienen el mismo significado que R^1 , n , R^2 , R^3 y X en la fórmula A-1 o fórmula A-2, y lo mismo se aplica a una realización preferida de los mismos.

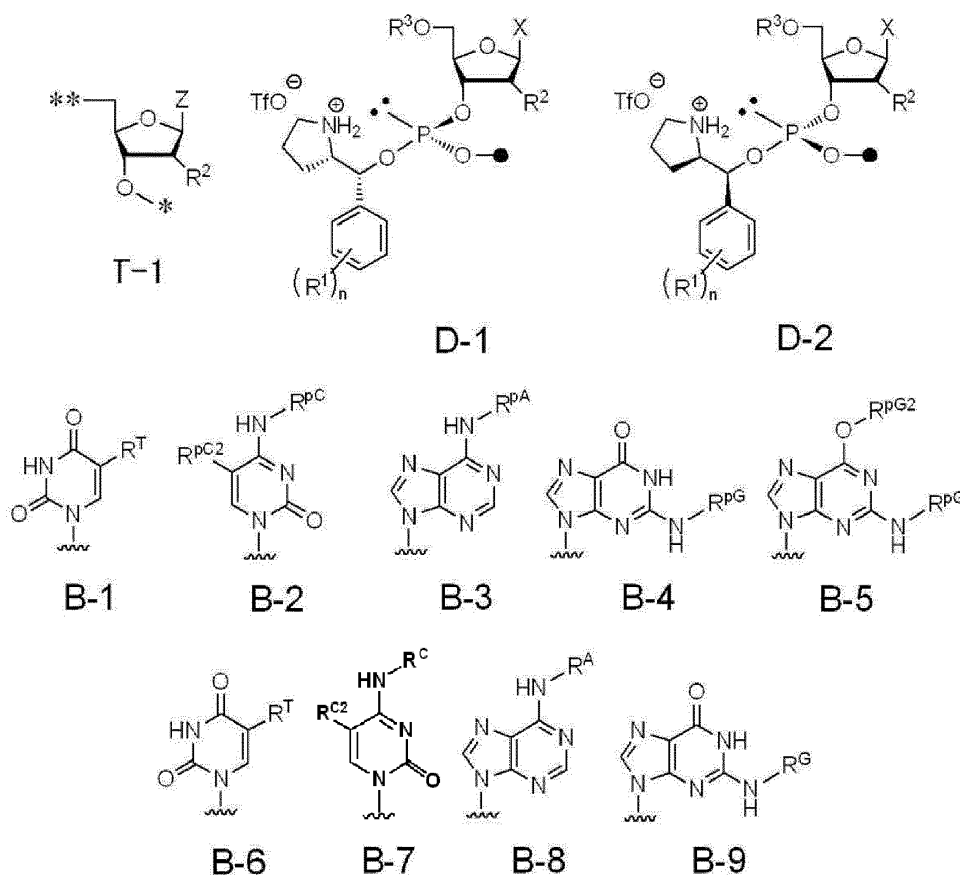
n representa un número entero de 0 a 100, preferiblemente un número entero de 1 a 100, más preferiblemente un número entero de 9 a 100, y todavía más preferiblemente un número entero de 11 a 100.

En el esquema 4, TfO (OTf) representa un anión triflato, y Z representa una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-6 a la fórmula B-9 descrita más adelante.

En el esquema 4, (R^p) o (S^p) -20a-d que es el compuesto polimerizable según la presente divulgación se une a un grupo hidroxilo en la posición 5' de una estructura de azúcar en el extremo del nucleótido sustituido con H-fosfonato en presencia de un activador 21 y forma un producto intermedio 28. Después de eso, un grupo auxiliar asimétrico del producto intermedio 28, un grupo protector de una base y R^3 se desprotegen para formar un oligómero 29. Además, (R^p) o (S^p) -20a-d se une a un grupo hidroxilo en la posición 5' de una estructura de azúcar en el extremo del oligómero 29. Esto se repite para extender la cadena oligomérica.

En el esquema 4, aunque por comodidad, todas las configuraciones en las que un átomo de fósforo contenido en el producto intermedio 28 o el oligómero 29 es un punto asimétrico se describen como una configuración S (isómero Sp), se usan adecuadamente un compuesto representado por la fórmula A-1 y un compuesto representado por la fórmula A-2 como monómero, mediante lo cual pueden introducirse una estructura de H-fosfonato de una configuración S (isómero Sp) y una estructura de H-fosfonato de una configuración R (isómero Rp) en cualquier posición.

Es decir, el producto intermedio 28 es un compuesto que incluye una unidad estructural representada por la siguiente fórmula T-1 y una unidad estructural representada por la siguiente fórmula D-1 o D-2.



En la fórmula T-1, R^2 representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o $-OR^0$; R^0 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo protector de un grupo hidroxilo; Z representa una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-6 a la fórmula B-9; y cada uno de * y ** representa un sitio de unión con otra estructura.

En la fórmula D-1 o fórmula D-2, R^1 representa un grupo donador de electrones; n representa un número entero de 1 a 5; R^2 representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o $-OR^0$; R^0 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo protector de un grupo hidroxilo; R^3 representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de un grupo hidroxilo; X representa una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-1 a la fórmula B-5; TfO representa un anión triflato; y un círculo negro (●) representa un sitio de unión con otra estructura.

En la fórmula B-1 a la fórmula B-5, R^T representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquénilo o un grupo alquinilo; cada uno de R^{pC} , R^{pA} y R^{pG} representa un grupo protector que se retira en condiciones ácidas; R^{pC2} representa un átomo de hidrógeno; R^{pG2} representa un grupo protector; R^{pG3} representa un grupo protector que se retira en una condición ácida o un átomo de hidrógeno; y una línea ondulada (~~~~~) representa un sitio de unión a otra estructura.

En la fórmula B-6 a la fórmula B-9, R^T representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquénilo o un grupo alquinilo; R^C , R^A y R^G representan un átomo de hidrógeno; R^{C2} representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo; y una línea ondulada representa un sitio de unión a otra estructura.

En la fórmula T-1, R^2 tiene el mismo significado que R^2 en la fórmula A-1 o fórmula A-2, y lo mismo se aplica a una realización preferida de los mismos.

En la fórmula T-1, * representa un sitio de unión a otra estructura, y cuando la síntesis se realiza mediante síntesis en fase sólida, se prefiere que * representa un sitio de unión a un soporte.

En la fórmula T-1, Z es preferiblemente una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-6 a la fórmula B-9, y más preferiblemente una cualquiera de una estructura de timina, una estructura de uracilo, una estructura de citosina, una estructura de adenina o una estructura de guanina.

En la fórmula D-1 y fórmula D-2, R^1 , n, R^2 , R^3 y X tienen el mismo significado que R^1 , n, R^2 , R^3 y X en la fórmula A-1 o fórmula A-2, y lo mismo se aplica a una realización preferida de los mismos.

La fórmula B-1 a la fórmula B-5 tienen el mismo significado que la fórmula B-1 a la fórmula B-5 en la fórmula A-1 o fórmula A-2 descrita anteriormente, y lo mismo se aplica a una realización preferida de los mismos.

Según un método de producción de un oligómero de boranofosfato según la presente divulgación, pueden producirse tanto ADN de boranofosfato como ARN de boranofosfato, dependiendo de la selección de un compuesto polimerizable usado en la etapa de condensación.

En la presente divulgación, ADN de boranofosfato se refiere a ADN en el que uno de los átomos de oxígeno que no forman puentes en una estructura de fosfodiéster de ADN natural se sustituye por un grupo borano ($-BH_3$).

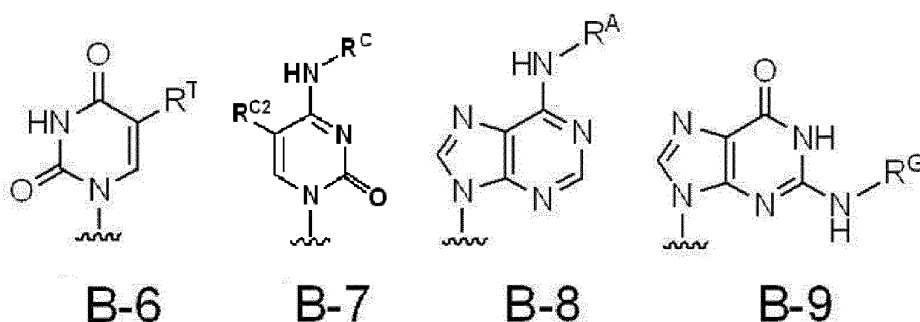
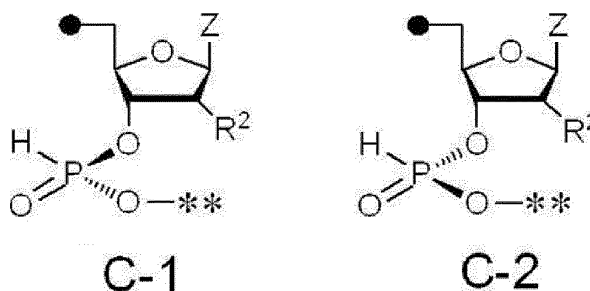
En la presente divulgación, ARN de boranofosfato se refiere a ARN en el que uno de los átomos de oxígeno que no forman puentes en una estructura de fosfodiéster de ARN natural se sustituye por un grupo borano ($-BH_3$).

En uno cualquiera del ADN y ARN, es posible seleccionar el compuesto polimerizable según la realización de modo que una secuencia de base es complementaria a una secuencia de base de un ácido nucleico diana y realizar síntesis.

Además, el compuesto puede incluir además una cualquiera o ambas de las unidades estructurales representadas por la siguiente fórmula C-1 o fórmula C-2.

La unidad estructural representada por la siguiente fórmula C-1 o fórmula C-2 es una unidad estructural que se aumenta en uno por un ciclo de un ciclo de condensación descrito en el esquema 4 descrito anteriormente, y puede existir en plural.

El número total de las unidades estructurales representadas por la fórmula C-1 o fórmula C-2 incluidas en el compuesto es preferiblemente de 9 a 100, y más preferiblemente de 11 a 50.



En la fórmula C-1 o fórmula C-2, R^2 representa un átomo de hidrógeno o $-OR^0$; R^0 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo protector de un grupo hidroxilo; Z representa una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-6 a la fórmula B-9; y ** y un círculo negro (●) representan un sitio de unión con otra estructura.

En la fórmula B-6 a la fórmula B-9, R^T representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquenoilo o un grupo alquínilo; R^C , R^A y R^G representan un átomo de hidrógeno; R^{C2} representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo; y una línea ondulada (~~~~~) representa un sitio de unión a otra estructura.

En la fórmula C-1 y la fórmula C-2, Z y R^2 tienen el mismo significado que Z y R^2 en la fórmula T-1, respectivamente, y lo mismo se aplica a una realización preferida de los mismos.

Cuando una estructura representada por la fórmula C-1 o fórmula C-2 existe en plural, una pluralidad de Z y R^2 en la fórmula C-1 o fórmula C-2 puede ser igual o diferente.

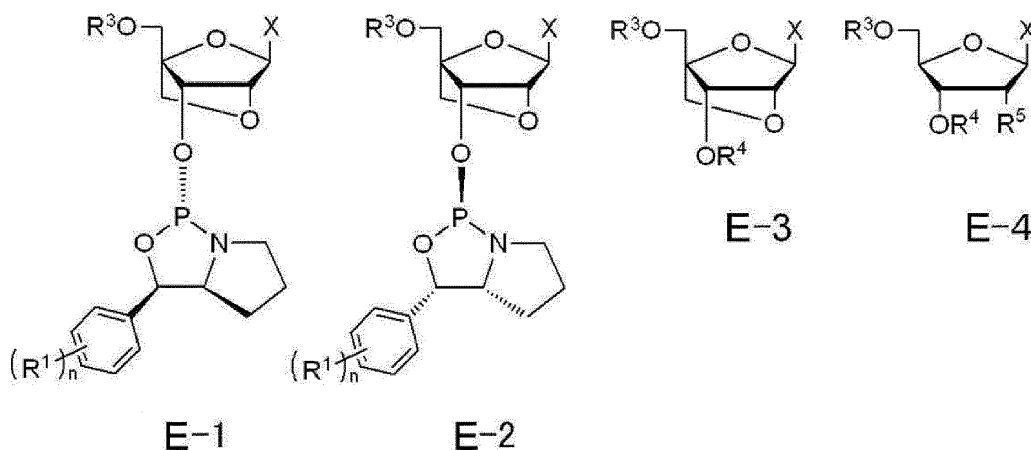
La fórmula B-6 a la fórmula B-9 tienen el mismo significado que la fórmula B-6 a la fórmula B-9 en la fórmula T-1 descrita anteriormente, y lo mismo se aplica a una realización preferida de los mismos.

- 5 Además, el compuesto puede incluir además una unidad estructural derivada de al menos uno seleccionado del grupo que consiste en el compuesto polimerizable representado por la siguiente fórmula E-1 a la fórmula E-4.

10 En la etapa de condensación de la presente divulgación, al menos un compuesto polimerizable seleccionado del grupo que consiste en el compuesto polimerizable representado por la fórmula E-1 a la fórmula E-4 puede usarse adicionalmente como otros compuestos polimerizables.

Es decir, el oligómero de boranofosfato producido mediante el método de producción de un oligómero de boranofosfato según la presente divulgación puede ser LNA de boranofosfato.

- 15 En la presente divulgación, LNA se refiere a un derivado de ARN que tiene una estructura en la que un átomo de oxígeno en la posición 2' y un átomo de carbono en la posición 4' de un anillo de ribosa se reticulan mediante metileno, y LNA de boranofosfato se refiere a LNA en el que uno de los átomos de oxígeno que no forman puentes en una estructura de fosfodiéster de LNA se sustituye por un grupo borano ($-BH_3$).



- 20 En la fórmula E-1 a la fórmula E-4, R^1 , n , R^3 y X tienen el mismo significado que R^1 , n , R^3 y X en la fórmula A-1 o fórmula A-2, y lo mismo se aplica a una realización preferida de los mismos.

- 25 En la fórmula E-3 y la fórmula E-4, R^4 representa un grupo protector de un grupo hidroxilo, y cualquiera de los ejemplificados como grupo protector de un grupo hidroxilo en R^3 descrito anteriormente puede usarse sin limitación.

R^5 representa un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo que tiene un grupo protector, un átomo de halógeno o un grupo alcoxilo.

30 Cuando el compuesto polimerizable representado por la fórmula E-1 o fórmula E-2 se usa en el método de síntesis de un oligómero de boranofosfato según la presente divulgación, es posible realizar síntesis mediante el mismo método que en el caso en el que se usa el compuesto polimerizable representado por la fórmula A-1 o fórmula A-2.

- 35 Además, cuando se usa un compuesto polimerizable representado por la fórmula E-3 o fórmula E-4 en el método de síntesis de un oligómero de boranofosfato según la presente divulgación, es posible realizar síntesis mediante un método de síntesis conocido de ADN o ARN, usando un reactivo de condensación conocido.

40 Al usar el compuesto polimerizable representado por la fórmula E-3 o fórmula E-4, es posible sintetizar un oligómero de boranofosfato que incluye parcialmente una estructura de fosfodiéster.

<Etapa de purificación >

- 45 El método de producción de un oligómero de boranofosfato según la presente divulgación puede incluir además una etapa de producir un oligómero de boranofosfato (etapa de purificación).

En una etapa de purificación, el oligómero de boranofosfato se purifica mediante un método de purificación conocido tal como cromatografía de líquidos de alto rendimiento de fase inversa (HPLC de fase inversa), HPLC de intercambio iónico, cromatografía en columna o recristalización.

- 50 En el método de producción de un oligómero de boranofosfato según la presente divulgación es preferiblemente un

método de producción de un oligómero de boranofosfato de 10 meros a 100 meros, más preferiblemente un método de producción de un oligómero de boranofosfato de 10 meros a 50 meros, y todavía más preferiblemente un método de producción de un oligómero de boranofosfato de 12 meros a 50 meros.

5 Según el método de producción de un oligómero de boranofosfato según la presente divulgación, es posible producir un oligómero de boranofosfato en el que el isómero Sp y el isómero Rp descritos anteriormente se combinen libremente.

10 Por ejemplo, al formar sólo ambos extremos del oligómero de boranofosfato como isómero Rp y la otra estructura como isómero de Sp, es posible producir un oligómero de boranofosfato que tiene una resistencia enzimática mejorada.

15 El oligómero de boranofosfato obtenido mediante el método de producción de un oligómero de boranofosfato según la presente divulgación puede usarse como molécula antisentido que tiene una excelente capacidad de formación de dúplex con respecto a un ácido nucleico diana, diseñando el oligómero de boranofosfato para ser complementario a una secuencia de base de un ácido nucleico diana.

20 Por ejemplo, cuando el ácido nucleico diana se corresponde con una secuencia parcial de un gen asociado a la enfermedad, el oligómero de boranofosfato se usa preferiblemente en un uso médico tal como un fármaco antisentido que tiene una alta capacidad de inhibición de la traducción.

Además, también puede considerarse la aplicación a la terapia de captura de neutrones con boro (BNCT).

Ejemplos

25 A continuación en el presente documento, la presente divulgación se describirá en detalle mediante los ejemplos, pero la presente divulgación no se limita a los mismos.

30 Además, en la siguiente descripción, "%" se basa en masa, a menos que se especifique lo contrario.

Los detalles del equipo de análisis usado en los ejemplos son tal como sigue.

Espectro de resonancia magnética nuclear ^1H (^1H -RMN): JNM-LA 400 (400 MHz)

35 Espectro de resonancia magnética nuclear ^{31}P (^{31}P -RMN): JNM-LA 400 (161,8 MHz)

Además, en ^1H -RMN, se usa tetrametilsilano (TMS) como patrón interno, y en ^{31}P -RMN, se usa H_3PO_4 al 85% como patrón externo.

40 ESI-EM: Varian 910-MS

Los detalles de los términos usados en los ejemplos son tal como sigue.

45 MMTr = 4-metoxitritilo

DMTr = 4,4'-dimetoxitritilo

TBS = terc-butildimetilsililo

50 TMS = trimetilsililo

TFA = ácido trifluoroacético

55 DCA = ácido dicloroacético

MCbz = 4-metoxibenciloxycarbonilo

Tse = trimetilsililetilo

60 CDI = 1,1'-carbonildiimidazol

HMDS = hexametildisilazano

DEAD = azodicarboxilato de dietilo

65 CMPT = trifluorometanosulfonato de N-(cianometil)pirrolidinio

DMAc = N,N-dimetilacetamida

BSA= N,O-bis(trimetilsilil)acetamida

Th (T) = timina

Cy (C) = citosina

Ad (A) = adenina

Gu (G) = guanina

(Ejemplos y ejemplos comparativos)

<Síntesis de compuesto polimerizable>

[Síntesis de (2S)-5] Se disolvió L-prolina (1) (11,51 g, 100 mmol) en MeOH (100 ml) y se enfrió hasta 0°C. A la disolución, se le añadió lentamente SOCl₂ (14,42 ml, 200 mmol) con un embudo de goteo. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 3 horas, y se eliminó el disolvente a presión reducida para obtener (2S)-2 como producto bruto. Se usó (2S)-2 para la siguiente etapa, sin purificación adicional.

Se secó de manera azeotrópica repetidamente el producto bruto (2S)-2 con tolueno y CHCl₃, y se disolvió en CH₂Cl₂ (250 ml), y se añadieron a lo mismo Et₃N (55,75 ml, 400 mmol) y MMTrCl (40,14 g, 130 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 17 horas, y se añadió a lo mismo una disolución de NH₄Cl acuosa saturada-disolución de NH₃ acuosa concentrada (2:1, v/v) (150 ml). Se separó la fase orgánica y se lavó con una disolución de NaHCO₃ acuosa saturada (3 × 100 ml), y se extrajo el líquido de lavado recogido con CH₂Cl₂ (100 ml). Se secó la fase orgánica recogida sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener (2S)-3 como producto bruto. Se usó (2S)-3 para la siguiente etapa, sin purificación adicional.

Se secó de manera azeotrópica repetidamente el producto bruto (2S)-3 con piridina, tolueno y CHCl₃, luego se disolvió en THF (100 ml). Se añadió lentamente la disolución a una disolución de THF (100 ml) de LiAlH₄ (4,93 g, 130 mmol) a 0°C con un embudo de goteo. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 12 horas y se enfrió hasta 0°C, y se añadieron lentamente de manera secuencial H₂O (5 ml), una disolución de NaOH acuosa al 15% (5 ml) y H₂O (15 ml) con un embudo de goteo. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 30 minutos, se añadió MgSO₄ anhidro a lo mismo, y se agitó la mezcla durante otros 30 minutos. Se filtró la suspensión a través de Celite y se lavó con AcOEt (500 ml). Se concentró la disolución a presión reducida y se le añadió al residuo CH₂Cl₂ (300 ml). Se realizó el lavado con una disolución de NaHCO₃ acuosa saturada (3 × 100 ml), y se extrajo el líquido de lavado recogido con CH₂Cl₂ (100 ml). Se secó la fase orgánica recogida sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar (2S)-4 como producto bruto. Se usó (2S)-4 para la siguiente etapa, sin purificación adicional.

Se disolvió el producto bruto (2S)-4 en CH₂Cl₂ (400 ml), y se añadió Et₃N (83,18 ml, 600 mmol) a lo mismo. A la disolución, se le añadió una disolución de DMSO (100 ml) de un complejo de piridina-trióxido de azufre (47,75 g, 300 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 3 horas, y se añadió una disolución de NaHCO₃ acuosa saturada (100 ml) a lo mismo. Se separó la fase orgánica y se lavó con disoluciones de NaHCO₃ acuosas saturadas (3 × 100 ml), y se extrajo el líquido de lavado recogido con CH₂Cl₂ (100 ml). Se concentró la fase orgánica recogida a presión reducida, se añadió Et₂O (300 ml) al residuo, y se realizó el lavado con una disolución de NaCl acuosa saturada (5 × 100 ml). Se secó la fase orgánica recogida sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Se separó el residuo y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice en columna [gel de sílice neutro, hexano-AcOEt (6:1, v/v), piridina al 1%] para recuperar una fracción que contiene (2S)-5. Se eliminó el disolvente a presión reducida para dar (2S)-5 como un material espumado amarillo claro.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 9,84 (s, 1H), 7,55-7,43 (m, 6H), 7,28-7,14 (m, 6H), 6,82-6,78 (m, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,29-3,23 (m, 1H), 2,93-2,87 (m, 1H), 1,64-1,55 (m, 2H), 1,47-1,37 (m, 1H), 1,19-1,10 (m, 1H), 0,90-0,77 (m, 1H). FAB-HRMS: calculado para [M+Na]⁺; 394,1783. Encontrado; 394,1788

[Síntesis de (2R)-5]

Se sintetizó (2R)-5 de la misma manera que (2S)-5, usando D-prolina (1) como material de partida.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 9,83 (s, 1H), 7,56-7,43 (m, 6H), 7,28-7,12 (m, 6H), 6,84-6,78 (m, 2H), 3,77 (s, 3H), 3,30-3,21 (m, 1H), 2,94-2,85 (m, 1H), 1,65-1,55 (m, 2H), 1,49-1,37 (m, 1H), 1,20-1,08 (m, 1H), 0,90-0,75 (m, 1H). FAB-HRMS: calculado para [M+Na]⁺; 394,1783. Encontrado; 394,1784.

[Síntesis de (αR,2S)-7]

Se secó de manera azeotrópica repetidamente (2S)-5 (26,00 g, 70 mmol) con piridina, tolueno y CHCl_3 , luego se disolvió en Et_2O (300 ml) y se enfrió hasta -78°C . A la disolución, se le añadió lentamente una disolución de bromuro de 4-metoxifenilmagnesio 0,5 M/THF (420 ml, 210 mmol) con un embudo de goteo. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 18 horas, y se añadió una disolución de NH_4Cl acuosa saturada-disolución de NH_3 acuosa concentrada (2:1, v/v) (300 ml) a lo mismo a 0°C . Se filtró la suspensión a través de Celite y se lavó con Et_2O (300 ml). Se separó la fase orgánica y se lavó con disoluciones de NaHCO_3 acuosas saturadas (3×100 ml), y se extrajo el líquido de lavado recogido con Et_2O (100 ml). Se secó la fase orgánica recogida sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar ($\alpha\text{R},2\text{S}$)-6 como producto bruto. Se usó ($\alpha\text{R},2\text{S}$)-6 para la siguiente etapa, sin purificación adicional.

Al producto bruto ($\alpha\text{R},2\text{S}$)-6, se le añadió una disolución de DCA al 3%/ CH_2Cl_2 (300 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 10 minutos, se añadió H_2O (300 ml) a lo mismo, se separó la fase acuosa, se lavó con CH_2Cl_2 (5×100 ml), y se extrajo el líquido de lavado recogido con agua (100 ml). A la fase acuosa recogida, se le añadió una disolución de NaOH acuosa 5 M hasta que el pH alcanzó 11. Se añadió CH_2Cl_2 (300 ml) a lo mismo, se separó la fase orgánica y se lavó con una disolución de NaHCO_3 acuosa saturada (3×100 ml), y se extrajo el líquido de lavado recogido con CH_2Cl_2 (100 ml). Se secó la fase orgánica recogida sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar ($\alpha\text{RS},2\text{S}$)-7.

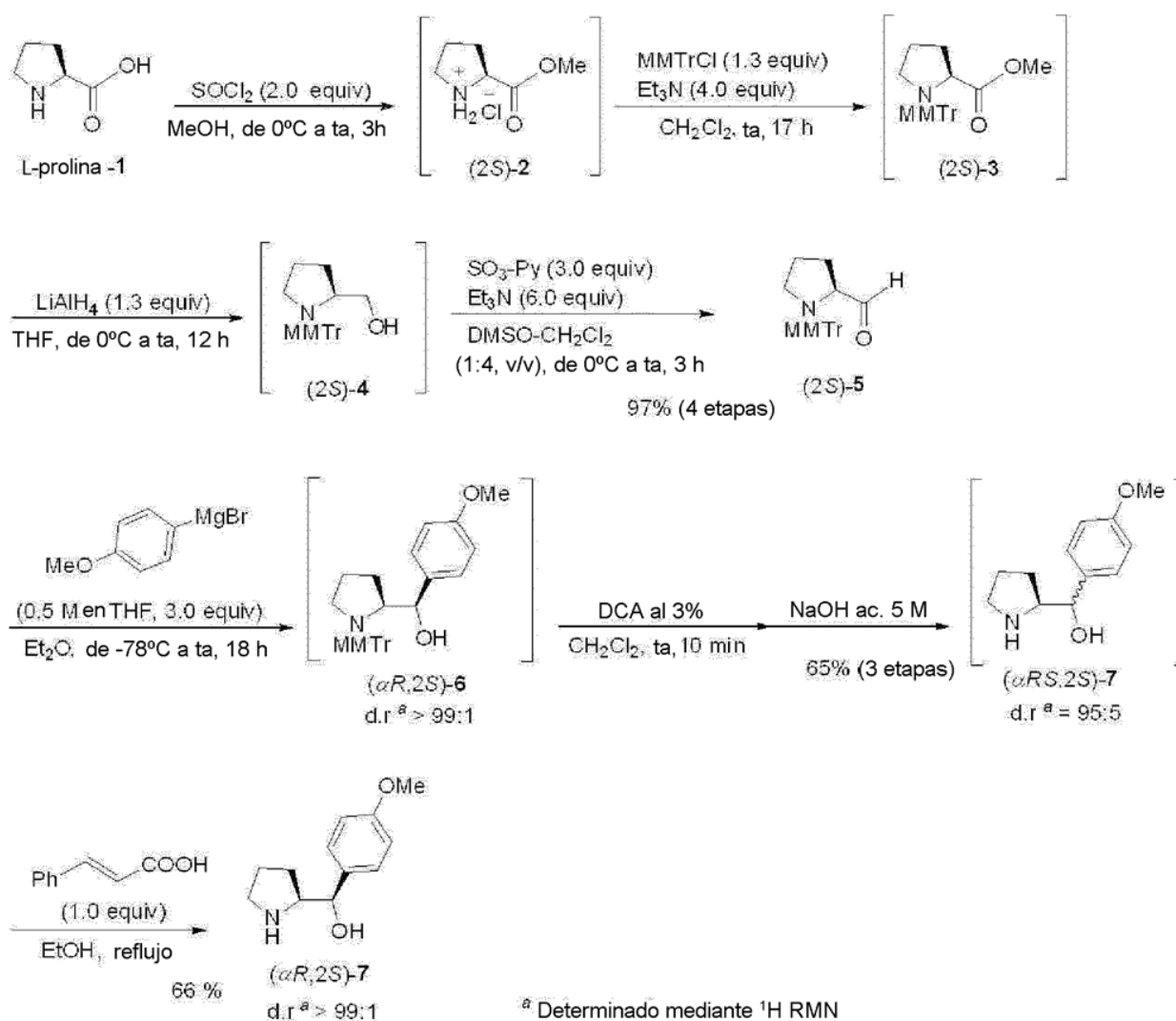
A ($\alpha\text{RS},2\text{S}$)-7 (5,18 g, 25 mmol), se le añadió ácido trans-cinámico (3,70 g, 25 mmol) y se realizó recristalización usando EtOH . Al cristal precipitado, se le añadió una disolución de KOH acuosa 2 M (100 ml) y CH_2Cl_2 (100 ml), y se separó la fase orgánica. Se realizó el lavado con disoluciones de NaHCO_3 acuosas saturadas (3×100 ml), y se extrajo el líquido de lavado recogido con CH_2Cl_2 (100 ml). Se secó la fase orgánica recogida sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar ($\alpha\text{R},2\text{S}$)-7 como un material oleoso amarillo claro.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,30-7,27 (m, 2H), 6,89-6,86 (m, 2H), 4,68 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,42-3,37 (m, 1H), 3,05-2,99 (m, 1H), 2,96-2,91 (m, 1H), 2,43 (a, 2H), 1,79-1,62 (m, 3H), 1,55-1,47 (m, 1H). FAB-HRMS: calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$; 208,1338. Encontrado; 208,1337.

[Síntesis de ($\alpha\text{S},2\text{R}$)-7]

Se sintetizó ($\alpha\text{S},2\text{R}$)-7 de la misma manera que ($\alpha\text{R},2\text{S}$)-7, usando (2R)-5 como material de partida.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,30-7,27 (m, 2H), 6,89-6,86 (m, 2H), 4,66 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,40-3,35 (m, 1H), 3,03-2,98 (m, 1H), 2,94-2,88 (m, 1H), 2,54 (a, 2H), 1,79-1,61 (m, 3H), 1,55-1,46 (m, 1H). FAB-HRMS: calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$; 208,1338. Encontrado; 208,1338.



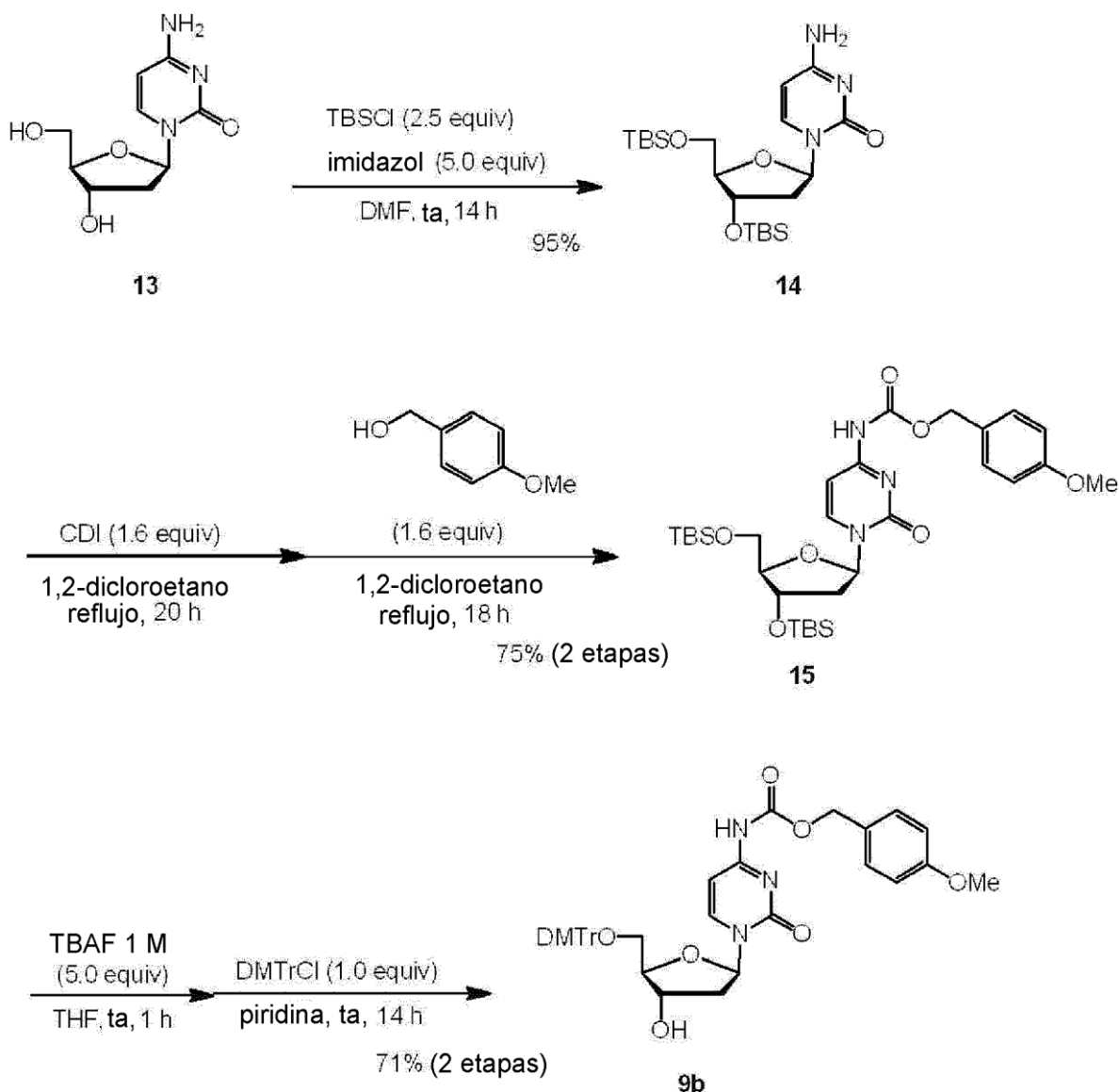
Se secó de manera azeotrópica repetidamente 3',5'-O-bis(TBS)-2'-desoxicitidina (14) (4,55 g, 10 mmol) con piridina, tolueno y CHCl_3 , luego se disolvió en 1,2-dicloroetano (100 ml), se añadió CDI (2,60 g, 16 mmol), y se calentó a reflujo durante 20 horas. Se añadió 4-metoxibencilalcohol (2,00 ml, 16 mmol) a lo mismo, y se calentó la mezcla a reflujo durante 18 horas adicionales. Se añadió una disolución de NaHCO_3 acuosa saturada (100 ml) a lo mismo, y se separó la fase orgánica. Se realizó el lavado con disoluciones de NaHCO_3 acuosas saturadas (3×100 ml), y se extrajo el líquido de lavado recogido con CH_2Cl_2 (100 ml). Se secó la fase orgánica recogida sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Se separó el residuo y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice en columna [gel de sílice neutro, hexano-AcOEt (1:1, v/v)] para recuperar una fracción que contiene 15. Se eliminó el disolvente a presión reducida para dar 15 (4,64 g, 7,49 mmol, 75%) como un material espumado incoloro.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 8,38 (d, 1H), 7,46 (a, 1H), 7,34 (d, 2H), 7,18 (d, 1H), 6,93 (d, 2H), 6,25 (t, 1H), 5,15 (s, 2H), 4,41 (q, 1H), 3,98-3,94 (m, 2H), 3,82-3,76 (m, 4H), 2,56-2,47 (m, 1H), 2,17-2,08 (m, 1H), 0,93-0,88 (m, 18H), 0,12-0,05 (m, 12H). FAB-HRMS: calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$; 620,3187. Encontrado; 620,3187.

[Síntesis de N^4 -MCbz-5'-O-DMTr-2'-desoxicitidina [9b]]

Se disolvió 3',5'-O-bis(TBS)- N^4 -MCbz-2'-desoxicitidina (15) (4,34 g, 7 mmol) en THF (35 ml), se añadió TBAF 1 M/THF (35 ml) a lo mismo, y se realizó agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadieron una disolución de NaHCO_3 acuosa saturada (100 ml) y AcOEt (300 ml), y se separó la fase orgánica. Se realizó el lavado con disoluciones de NaHCO_3 acuosas saturadas (3×100 ml), y se extrajo el líquido de lavado recogido con AcOEt (100 ml). Se secó la fase orgánica recogida sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Al residuo, se le añadieron piridina (70 ml) y DMTrCl (2,37 g, 7 mmol), y se agitó a temperatura ambiente durante 14 horas. Se añadieron MeOH (30 ml), CHCl_3 (300 ml) y una disolución de NaHCO_3 acuosa saturada (100 ml), y se separó la fase orgánica. Se realizó el lavado con disoluciones de NaHCO_3 acuosas saturadas (3×100 ml), y se extrajo el líquido de lavado recogido con CHCl_3 (100 ml). Se secó la fase orgánica recogida sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Se separó el residuo y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice en columna [gel de sílice neutro, CH_2Cl_2 -MeOH-piridina (de 99:0,5:0,5 a 94,5:5:0,5, v/v)] para recuperar una fracción que contiene 9b. Se eliminó el disolvente a presión reducida para dar 9b (3,47 g, 5 mmol, 71%) como un material espumado incoloro.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 8,25 (d, 1H), 7,44-7,39 (m, 3H), 7,34-7,22 (m, 9H), 7,02 (d, 1H), 6,92-6,84 (m, 6H), 6,25 (t, 1H), 5,13 (s, 2H), 4,47 (a, 1H), 4,09 (q, 1H), 3,80 (s, 9H), 3,55-3,39 (m, 2H), 2,71-2,62 (m, 1H), 2,30-2,22 (m, 1H). FAB-HRMS: calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$; 694,2765. Encontrado; 694,2763.



[Síntesis de 3',5'-O-bis(TBS)-2'-desoxiadenosina [11]]

- 5 Se realizó la síntesis según el método descrito en la bibliografía, usando 2'-desoxiadenosina (10) como material de partida. El espectro de ^1H RMN era coherente con el valor de la bibliografía.

[Síntesis de 3',5'-O-bis(TBS)-N⁶-MCbz-2'-desoxiadenosina [12]]

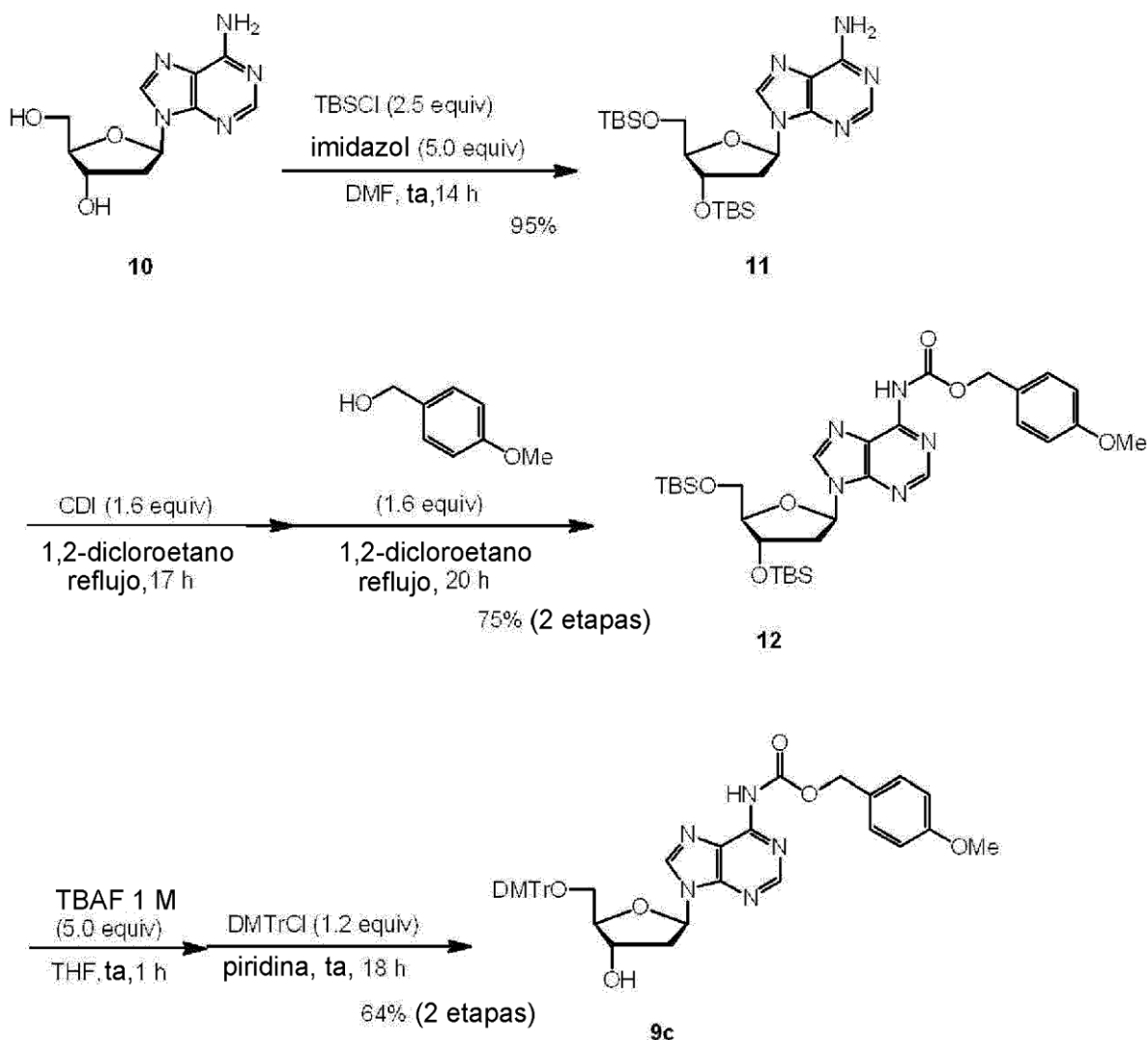
- 10 Se secó de manera azeotrópica repetidamente 3',5'-O-bis(TBS)-2'-desoxiadenosina (11) (7,19 g, 15 mmol) con piridina, tolueno y CHCl_3 para formar una disolución de 1,2-dicloroetano (150 ml), se añadió CDI (3,89 g, 24 mmol), y se calentó a reflujo durante 17 horas. Se añadió 4-metoxibencilalcohol (3,00 ml, 24 mmol) a lo mismo, y se calentó a reflujo durante 20 horas adicionales. Se añadió una disolución de NaHCO_3 acuosa saturada (100 ml) a lo mismo, y se separó la fase orgánica. Se realizó el lavado con disoluciones de NaHCO_3 acuosas saturadas (3×100 ml), y se extrajo el líquido de lavado recogido con CH_2Cl_2 (100 ml). Se secó la fase orgánica recogida sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Se separó el residuo y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice en columna [gel de sílice neutro, hexano-AcOEt (2:1, v/v)] para recuperar una fracción que contiene 12. Se eliminó el disolvente a presión reducida para dar 12 (7,26 g, 11 mmol, 75%) como un material espumado incoloro.
- 15 Se extrajo el líquido de lavado recogido con CH_2Cl_2 (100 ml). Se secó la fase orgánica recogida sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Se separó el residuo y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice en columna [gel de sílice neutro, hexano-AcOEt (2:1, v/v)] para recuperar una fracción que contiene 12. Se eliminó el disolvente a presión reducida para dar 12 (7,26 g, 11 mmol, 75%) como un material espumado incoloro.
- 20 ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8,75 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,38 (d, 2H), 6,90 (d, 2H), 6,49 (t, 1H), 5,23 (s, 2H), 4,63-4,59 (m, 1H), 4,04 (q, 1H), 3,89-3,75 (m, 5H), 2,67-2,61 (m, 1H), 2,48-2,42 (m, 1H), 0,92-0,87 (m, 18H), 0,10-0,04 (m, 12H). FAB-HRMS: calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$; 644,3300. Encontrado; 644,3298.

[Síntesis de N⁶-MCbz-5'-O-DMTr-2'-desoxiadenosina [9c]]

25

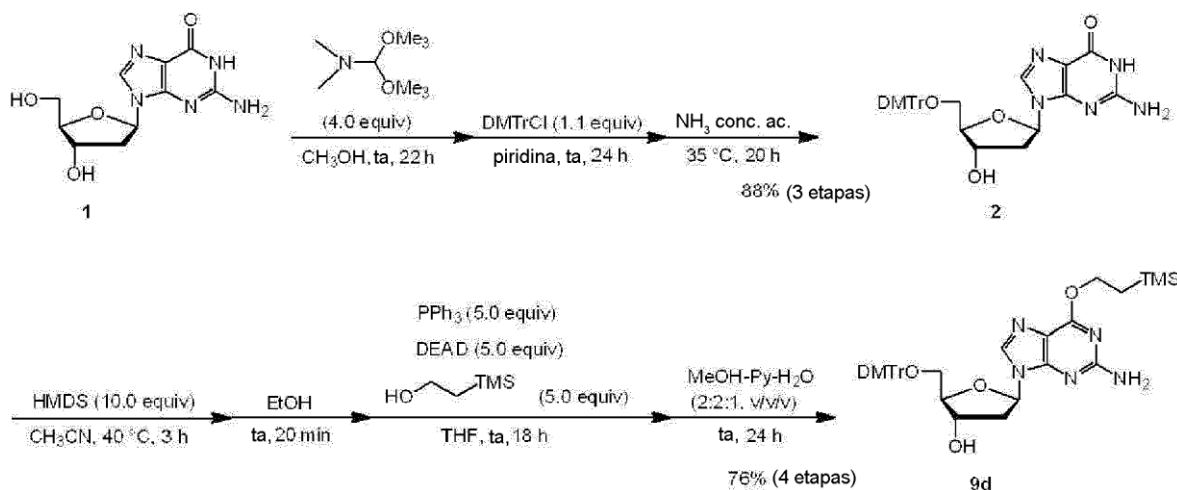
Se disolvió 3',5'-O-bis(TBS)-N⁶-MCbz-2'-desoxiadenosina (12) (7,26 g, 11 mmol) en THF (55 ml), se añadió TBAF 1 M/THF (55 ml) a lo mismo, y se realizó agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadieron una disolución de NaHCO₃ acuosa saturada (100 ml) y AcOEt (300 ml), y se separó la fase orgánica. Se realizó el lavado con disoluciones de NaHCO₃ acuosas saturadas (3 × 100 ml), y se extrajo el líquido de lavado recogido con AcOEt (100 ml). Se secó la fase orgánica recogida sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Al residuo, se le añadieron piridina (110 ml) y DMTrCl (4,48 g, 13,2 mmol), y se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. Se añadieron MeOH (50 ml), CHCl₃ (300 ml) y una disolución de NaHCO₃ acuosa saturada (100 ml), y se separó la fase orgánica. Se realizó el lavado con una disolución de NaHCO₃ acuosa saturada (3 × 100 ml), y se extrajo el líquido de lavado recogido con CHCl₃ (100 ml). Se secó la fase orgánica recogida sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Se separó el residuo y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice en columna [gel de sílice neutro, CH₂Cl₂-MeOH-piridina (de 98:1,5:0,5 a 96,5:3:0,5, v/v)] para recuperar una fracción que contiene 9c. Se eliminó el disolvente a presión reducida para dar 9c (5,08 g, 7 mmol, 64%) como un material espumado incoloro.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ8,68 (s, 1H), 8,16 (a, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,40-7,36 (m, 2H), 7,31-7,16 (m, 9H), 6,91-6,77 (m, 6H), 6,46 (t, 1H), 5,23 (s, 2H), 4,70 (a, 1H), 4,16 (q, 1H), 3,77 (s, 9H), 3,41-3,39 (m, 2H), 2,91-2,82 (m, 1H), 2,59-2,51 (m, 1H), 1,65 (a, 1H). FAB-HRMS: calculado para [M+H]⁺; 718,2877. Encontrado; 718,2880.

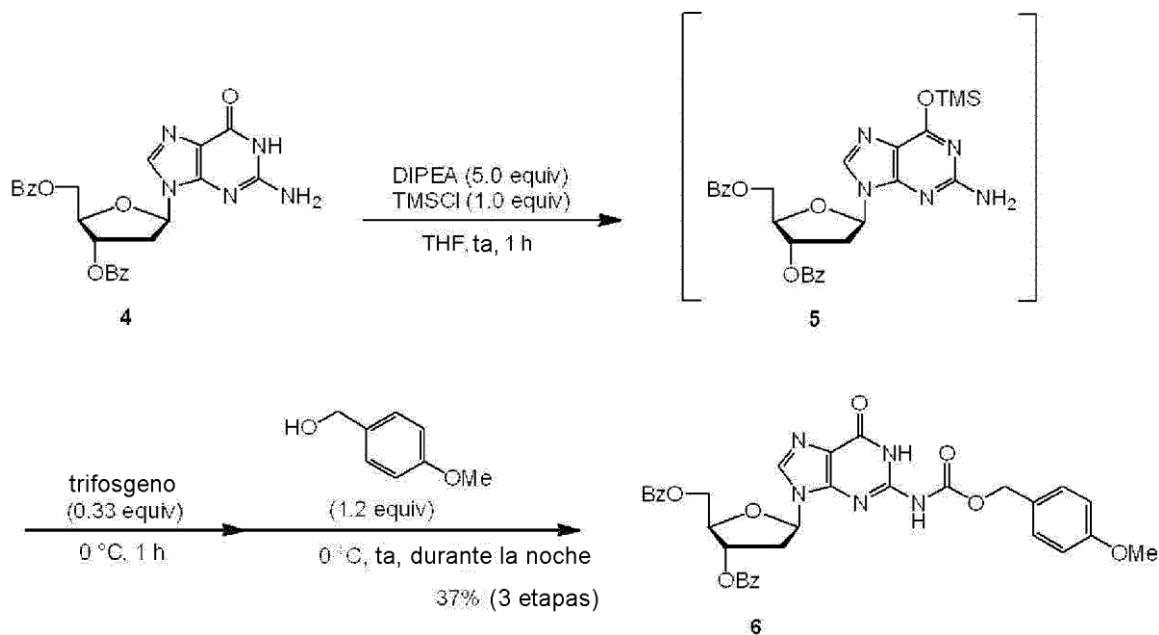


[Síntesis de O⁶-Tse-5'-O-DMTr-2'-desoxiguanosina [9d]]

Se realizó la síntesis según el método descrito en la bibliografía, usando 2'-desoxiguanosina (1) como material de partida. El espectro de ¹H RMN era coherente con el valor de la bibliografía.

[Síntesis de 3',5'-bis-O-benzoil-N²-Mcbz-desoxiguanosina [6]]

- 5 Se disolvió 3',5'-bis-O-benzoidesoxiguanosina (4) (0,52 g, 1,09 mmol) en THF (13,0 ml), se añadieron DIPEA (0,95 ml, 5,5 mmol) y TMSCl (0,15 ml, 1,0 mmol) a lo mismo, y se realizó agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió trifosgeno (0,1 g, 0,35 mmol) y se agitó a 0°C durante 1 hora. Se añadió 4-metoxibencilalcohol (0,17 g, 1,2 mmol) a temperatura ambiente, y se calentó a reflujo durante la noche. Se realizó el lavado con soluciones salinas saturadas (3 × 10 ml), y se extrajo el líquido de lavado recogido con CH_2Cl_2 (5 ml). Se secó la fase orgánica recogida sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Se separó el residuo y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice en columna [gel de sílice neutro, CH_2Cl_2 -MeOH-piridina (de 99:0,5:0,5 a 94,5:5:0,5, v/v)] para recuperar una fracción que contiene 6. Se eliminó el disolvente a presión reducida para dar 6 (0,09 g, 0,40 mmol, 37%) como un material espumado amarillo.
- 10
- 15 ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 11,31 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,06-8,04 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,96-7,93 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H), 7,72 (s, 1H), 7,64-7,59 (m, 1H), 7,55-7,45 (m, 9H), 7,39-7,34 (m, 4H), 6,94-6,92 (m, 2H), 6,30-6,26 (t, $J = 7,2$, 6,6 Hz, 1H), 5,80-5,78 (m, 1H), 5,23 (s, 2H), 4,94-4,90 (m, 1H), 4,75-4,69 (m, 1H), 4,69-4,67 (m, 1H), 3,83 (s, 1H), 3,17-3,07 (m, 1H), 2,70-2,65 (m, 1H).



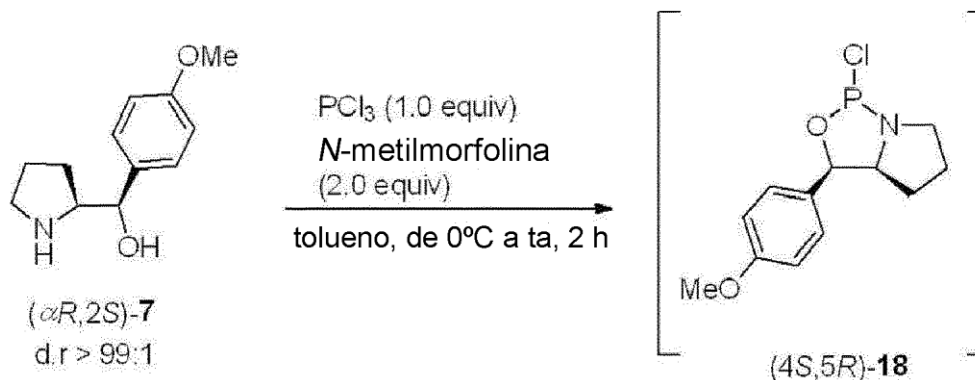
[Síntesis de 2-cloro-1,3,2-oxazafosfolidina [(4S,5R)-18]]

- 25 Se secó de manera azeotrópica repetidamente (α R,2S)-7 (1,07 g, 5,16 mmol) con tolueno, luego se disolvió en tolueno (3 ml), y se añadió N-metilmorfolina (1,13 ml, 10,32 mmol) a lo mismo. Se añadió la disolución mixta lentamente a una disolución de tricloruro de fósforo (0,45 ml, 5,16 mmol) en tolueno (2,5 ml) a 0°C con una jeringa. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2 horas, y se eliminó por filtración la sal resultante a

-78°C bajo una atmósfera de Ar y se concentró a presión reducida bajo una atmósfera de Ar para dar 2-cloro-1,3,2-oxazafosfolidina (4S,5R)-18 (1,28 g, 4,71 mmol). Aceite amarillo claro. Se usó (4S,5R)-18 para la reacción, sin purificación adicional.

5 [Síntesis de [(4R,5S)-18]

Se realizó la síntesis de la misma manera que (4S,5R)-18, usando (α S,2R)-7 como material de partida.



10

[Síntesis de monómero de oxazafosfolidina [(Rp)-20a]]

Se secó de manera azeotrópica repetidamente 5'-O-(DMTr)timidina (9a) (0,86 g, 1,58 mmol) con piridina, tolueno y THF, luego se disolvió en THF (8 ml), y se añadió Et₃N (1,52 ml, 11 mmol) a lo mismo. Se enfrió la disolución mixta hasta -78°C y se añadió lentamente una disolución de (4S,5R)-18 0,5 M a lo mismo en THF (9,5 ml, 4,75 mmol) con una jeringa. Se agitó la reacción disolución a temperatura ambiente durante 2 horas, y CHCl₃ (300 ml) y se añadió una disolución de NaHCO₃ acuosa saturada (100 ml) a lo mismo. Se separó la fase orgánica y se lavó con disoluciones de NaHCO₃ acuosas saturadas (2 × 100 ml), y se extrajo el líquido de lavado recogido con CHCl₃ (100 ml). Se secó la fase orgánica recogida sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Se separó el residuo y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice en columna [NH-gel de sílice, tolueno-AcOEt (7:3, v/v), Et₃N al 0,1%], se recogió una fracción que contenía (Rp)-20a, y se eliminó el disolvente a presión reducida para dar (Rp)-20a (0,53 g, 0,68 mmol, 43%) como un material espumado incoloro.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,60 (s, 1H), 7,41-7,22 (m, 11H), 6,89-6,79 (m, 6H), 6,43 (t, 1H), 5,68 (d, 1H), 4,94-4,89 (m, 1H), 4,13 (q, 1H), 3,80-3,77 (m, 10H), 3,60-3,53 (m, 1H), 3,49-3,36 (m, 2H), 3,20-3,13 (m, 1H), 2,60-2,55 (m, 1H), 2,40-2,33 (m, 1H), 1,66-1,58 (m, 2H), 1,42 (s, 3H), 1,21-1,14 (m, 1H), 1,00-0,91 (m, 1H). ³¹P RMN (161 MHz, CDCl₃) δ 155,65. FAB-HRMS: calculado para [M+Na]⁺; 802,2869. Encontrado; 802,2866.

Se obtuvieron todos los productos brutos de (Rp)-20b-d y (Sp)-20a-d mediante el mismo método que se describió anteriormente. Sólo se muestran las condiciones para cromatografía de gel de sílice en columna para estos compuestos.

[Síntesis de monómero de oxazafosfolidina [(Rp)-20b]]

Se obtuvo el producto bruto de (Rp)-20b de 9b (1,02 g, 1,47 mmol) y (4S,5R)-18 (0,80 g, 2,94 mmol), mediante el mismo método que (Rp)-20a. Se realizó purificación mediante cromatografía de gel de sílice en columna [NH-gel de sílice, tolueno-AcOEt (7:3, v/v), Et₃N al 0,1%] para dar (Rp)-20b (0,65 g, 0,70 mmol, 47%) como un material espumado incoloro.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,25 (d, 1H), 7,39-7,13 (m, 13H), 6,91-6,79 (m, 8H), 6,26 (t, 1H), 5,68 (d, 1H), 5,13 (s, 2H), 4,87-4,81 (m, 1H), 4,16 (q, 1H), 3,83-3,76 (m, 14H), 3,60-3,52 (m, 1H), 3,47 (d, 2H), 3,22-3,13 (m, 1H), 2,82-2,75 (m, 1H), 2,38-2,32 (m, 1H), 1,67-1,57 (m, 2H), 1,22-1,15 (m, 1H), 1,01-0,94 (m, 1H). ³¹P RMN (161 MHz, CDCl₃) δ 156,72. FAB-HRMS: calculado para [M+H]⁺; 929,3527. Encontrado; 929,3528.

[Síntesis de monómero de oxazafosfolidina [(Rp)-20c]]

Se obtuvo el producto bruto de (Rp)-20c de 9c (1,05 g, 1,47 mmol) y (4S,5R)-18 (0,80 g, 2,94 mmol), mediante el mismo método que (Rp)-20a. Se realizó purificación mediante cromatografía de gel de sílice en columna [NH-gel de sílice, tolueno-AcOEt (8:2, v/v), Et₃N al 0,1%] para dar (Rp)-20c (0,62 g, 0,65 mmol, 44%) como un material espumado incoloro.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,67 (s, 1H), 8,30 (a, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,38-7,35 (m, 4H), 7,29-7,14 (m, 9H), 6,91-6,86 (m, 4H), 6,75-6,70 (m, 4H), 6,47 (t, 1H), 5,77 (d, 1H), 5,22 (s, 2H), 5,09-5,03 (m, 1H), 4,29 (q, 1H), 3,88-3,84 (m, 1H),

3,81 (s, 6H), 3,74 (s, 6H), 3,62-3,54 (m, 1H), 3,41-3,33 (m, 2H), 3,20-3,11 (m, 1H), 2,99-2,92 (m, 1H), 2,71-2,65 (m, 1H), 1,68-1,59 (m, 2H), 1,26-1,16 (m, 1H), 1,03-0,94 (m, 1H). ^{31}P RMN (161 MHz, CDCl_3) δ 154,97. FAB-HRMS: calculado para $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 975,3458. Encontrado; 975,3459.

5 [Síntesis de monómero de oxazafosfolidina [(Rp)-20d]]

Se obtuvo el producto bruto de (Rp)-20d de 9d (0,67 g, 1,00 mmol) y (4S,5R)-18 (1,07 g, 3,95 mmol), mediante el mismo método que (Rp)-20a. Se realizó purificación mediante cromatografía de gel de sílice en columna [NH-gel de sílice, tolueno-AcOEt (9:1, v/v), Et_3N al 0,1%] para dar (Rp)-20d (0,34 g, 0,38 mmol, 38%) como un material espumado incoloro.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,69 (s, 1H), 7,43-7,13 (m, 11H), 6,92-6,74 (m, 6H), 6,33 (t, 1H), 5,75 (d, 1H), 5,04 (m, 1H), 4,65-4,53 (m, 4H), 4,26 (q, 1H), 3,92-3,74 (m, 10H), 3,64-3,53 (m, 1H), 3,41-3,30 (m, 2H), 3,20-3,13 (m, 1H), 2,57-2,55 (m, 1H), 2,24-2,19 (m, 1H), 1,68-1,55 (m, 2H), 1,26-1,12 (m, 3H), 1,03-0,96 (m, 1H), 0,08 (s, 9H). ^{31}P RMN (161 MHz, CDCl_3) δ 155,04. FAB-HRMS: calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$; 905,3823. Encontrado; 905,3826.

[Monómero de oxazafosfolidina [(Sp)-20a]]. Se obtuvo el producto bruto de (Sp)-20a de 9a (0,85 g, 1,57 mmol) y (4R,5S)-18 (1,28 g, 4,71 mmol), mediante el mismo método que (Rp)-20a. Se realizó purificación mediante cromatografía de gel de sílice en columna [NH-gel de sílice, tolueno-AcOEt (7:3, v/v), Et_3N al 0,1%] para dar (Sp)-20a (0,82 g, 1,05 mmol, 67%) como un material espumado incoloro.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8,02 (a, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,42-7,16 (m, 11H), 6,90-6,82 (m, 6H), 6,41 (t, 1H), 5,63 (d, 1H), 4,94-4,89 (m, 1H), 4,18 (q, 1H), 3,86-3,76 (m, 10H), 3,56-3,48 (m, 1H), 3,39-3,34 (m, 2H), 3,20-3,13 (m, 1H), 2,50-2,43 (m, 1H), 2,39-2,31 (m, 1H), 1,64-1,59 (m, 2H), 1,40 (s, 3H), 1,25-1,19 (m, 1H), 1,06-0,90 (m, 1H). ^{31}P RMN (161 MHz, CDCl_3) δ 156,12. FAB-HRMS: calculado para $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 802,2869. Encontrado; 802,2874.

[Síntesis de monómero de oxazafosfolidina [(Sp)-20b]]

Se obtuvo el producto bruto de (Sp)-20b de 9b (1,01 g, 1,46 mmol) y (4R,5S)-18 (1,00 g, 3,67 mmol), mediante el mismo método que (Rp)-20a. Se realizó purificación mediante cromatografía de gel de sílice en columna [NH-gel de sílice, tolueno-AcOEt (7:3, v/v), Et_3N al 0,1%] para dar (Sp)-20b (0,55 g, 0,59 mmol, 40%) como un material espumado incoloro.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8,36 (d, 1H), 7,43-7,16 (m, 13H), 6,94-6,84 (m, 8H), 6,24 (t, 1H), 5,68 (d, 1H), 5,13 (s, 2H), 4,90-4,83 (m, 1H), 4,18 (q, 1H), 3,87-3,76 (m, 14H), 3,57-3,44 (m, 3H), 3,21-3,13 (m, 1H), 2,69-2,63 (m, 1H), 2,41-2,32 (m, 1H), 1,69-1,60 (m, 2H), 1,25-1,17 (m, 1H), 1,04-0,95 (m, 1H). ^{31}P RMN (161 MHz, CDCl_3) δ 155,97. FAB-HRMS: calculado para $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 951,3346. Encontrado; 951,3349.

[Síntesis de monómero de oxazafosfolidina [(Sp)-20c]]

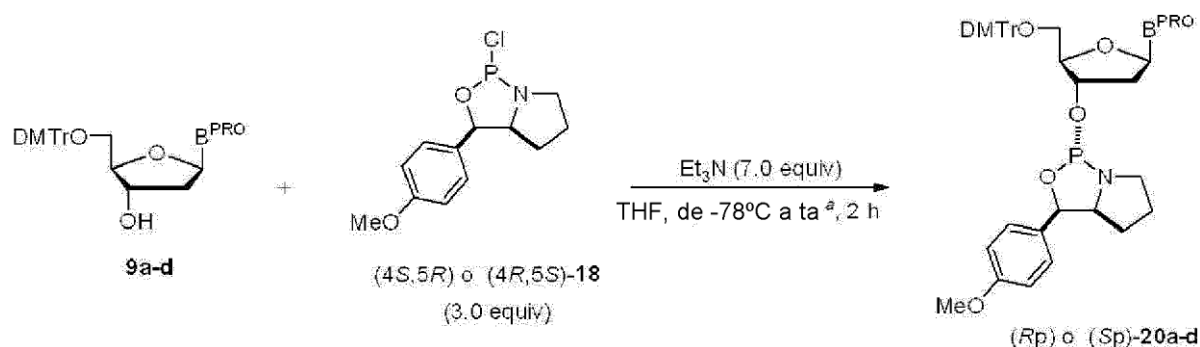
Se obtuvo el producto bruto de (Sp)-20c de 9c (1,05 g, 1,46 mmol) y (4R,5S)-18 (1,00 g, 3,67 mmol), mediante el mismo método que (Rp)-20a. Se realizó purificación mediante cromatografía de gel de sílice en columna [NH-gel de sílice, tolueno-AcOEt (8:2, v/v), Et_3N al 0,1%] para dar (Sp)-20c (0,67 g, 0,70 mmol, 48%) como un material espumado incoloro.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8,67 (s, 1H), 8,29 (a, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,41-7,35 (m, 4H), 7,30-7,12 (m, 9H), 6,91-6,74 (m, 8H), 6,46 (t, 1H), 5,72 (d, 1H), 5,22 (s, 2H), 5,06-5,00 (m, 1H), 4,34 (q, 1H), 3,91-3,85 (m, 1H), 3,80 (s, 6H), 3,76 (s, 6H), 3,62-3,52 (m, 1H), 3,48-3,34 (m, 2H), 3,22-3,13 (m, 1H), 2,94-2,88 (m, 1H), 2,63-2,58 (m, 1H), 1,69-1,58 (m, 2H), 1,26-1,19 (m, 1H), 1,06-0,98 (m, 1H). ^{31}P RMN (161 MHz, CDCl_3) δ 155,36. FAB-HRMS: calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$; 953,3639. Encontrado; 953,3643.

[Síntesis de monómero de oxazafosfolidina [(Sp)-20d]]

Se obtuvo el producto bruto de (Sp)-20d de 9d (0,67 g, 1,00 mmol) y (4R,5S)-18 (1,07 g, 3,95 mmol), mediante el mismo método que (Rp)-20a. Se realizó purificación mediante cromatografía de gel de sílice en columna [NH-gel de sílice, tolueno-AcOEt (9:1, v/v), Et_3N al 0,1%] para dar (Sp)-20d (0,34 g, 0,38 mmol, 38%) como un material espumado incoloro.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,73 (s, 1H), 7,44-7,13 (m, 11H), 6,88-6,78 (m, 6H), 6,30 (t, 1H), 5,71 (d, 1H), 5,01 (m, 1H), 4,61-4,53 (m, 4H), 4,30 (q, 1H), 3,90-3,77 (m, 10H), 3,62-3,52 (m, 1H), 3,46-3,42 (m, 1H), 3,33-3,30 (m, 1H), 3,22-3,13 (m, 1H), 2,52-2,48 (m, 1H), 2,25-2,20 (m, 1H), 1,66-1,59 (m, 2H), 1,26-1,19 (m, 3H), 1,07-0,98 (m, 1H), 0,08 (s, 9H). ^{31}P RMN (161 MHz, CDCl_3) δ 155,36. FAB-HRMS: calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$; 905,3823. Encontrado; 905,3825.



Se describen 9a a 9d (base protegida por un grupo protector), el compuesto 18 usado para la síntesis de cada monómero, un rendimiento de cada monómero, y una razón en masa de un isómero Rp y un isómero Sp contenido en el monómero obtenido en la tabla 1.

En la tabla 1, Th representa timina, Cy^{MCbz} representa citosina cuyo grupo amino está protegido por un grupo MCbz, Ad^{MCbz} representa adenina cuyo grupo amino está protegido por un grupo MCbz, y Gu^{Tse} representa guanina cuyo grupo amino está protegido por un grupo trimetilsililo, respectivamente.

[Tabla 1]

Entrada	9a a 9d		18	20	
	Compuesto usado	Base incluida		Rendimiento (%)	Rp : Sp ^b
1	9a	Th	(4S, 5R)	43	> 99 : 1
2	9b	Cy ^{MCbz}	(4S, 5R)	47	> 99 : 1
3	9c	Ad ^{MCbz}	(4S, 5R)	44	> 99 : 1
4	9d	Gu ^{Tse}	(4S, 5R)	37	> 99 : 1
5	9a	Th	(4R, 5S)	67	> 1 : 99
6	9b	Cy ^{MCbz}	(4R, 5S)	40	> 1 : 99
7	9c	Ad ^{MCbz}	(4R, 5S)	48	> 1 : 99
8	9d	Gu ^{Tse}	(4R, 5S)	38	>1 : 99

^a En las entradas 4 a 8, una condición de procesamiento mediante Et₃N descrita anteriormente estaba a -78°C.
^b Se usó ³¹P RMN para la medición.

<Síntesis 1 de ADN de boranofosfato>

Se realizó síntesis en fase sólida manual de ADN de boranofosfato (PB-DNA) (24a-d,25,26) usando un vidrio de poro controlado (CPG) como soporte sólido y un filtro de vidrio (10 mm × 50 mm) que tiene una espita en la parte inferior como recipiente de reacción.

En primer lugar, se trató 5'-O-(DMTr)timidina (27) soportado sobre CPG mediante grupo de unión succinilo con TFA al 1% /CH₂Cl₂ (4 × 5 s) para retirar un grupo 5'-O-DMTr, y se realizaron las siguientes etapas (i) a (v) para sintetizar ADN de H-fosfonato (23).

(i) Lavado (CH₂Cl₂, CH₃CN)

(ii) acoplamiento (monómero 20a-d 0,2 M y CMPT(21) 1,0 M en CH₃CN;5 min),

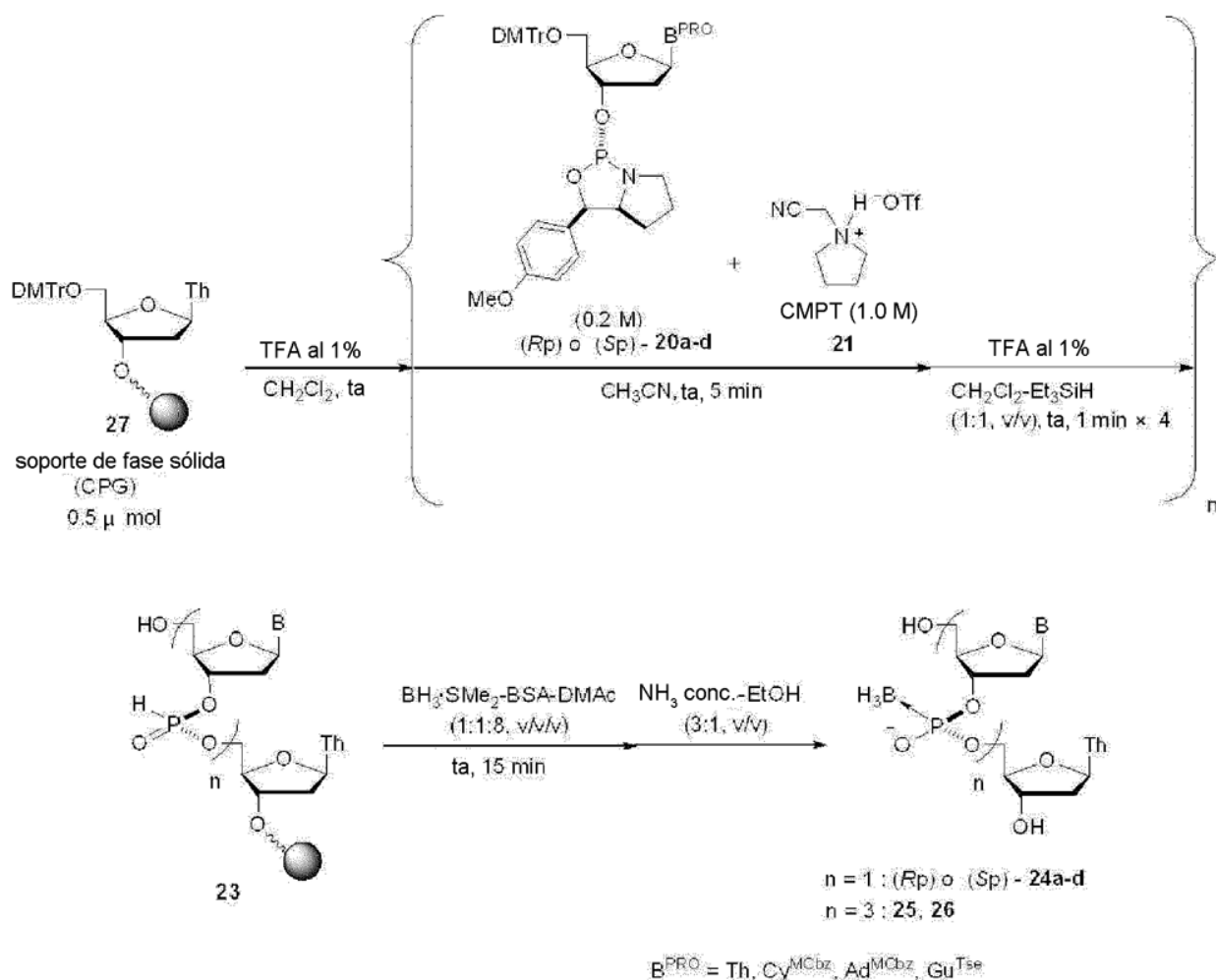
(iii) lavado (CH₃CN, CH₂Cl₂)

(iv) TFA al 1%/CH₂Cl₂-Et₃SiH (1:1,v/v)(4×1min)

(v) lavado (CH₃CN, CH₂Cl₂)

Posteriormente, se añadieron DMAc (0,8 ml), BSA (0,1 ml) y BH₃ • SMe₂ (0,1 ml) al producto sintetizado 23 a temperatura ambiente. Después de 15 minutos, se retiró la disolución de reacción y se lavó CPG con DMAc y CH₃CN. Se trató CPG con disolución de NH₃ acuosa concentrada-EtOH (3:1, v/v) a 25°C durante 3 horas o 55°C

durante 12 horas, se eliminó CPG por filtración, y se concentró el filtrado a presión reducida. Se analizó e identificó el residuo mediante RP-HPLC y ESI-EM.



Se enumeran una secuencia del ADN de boranofosfato (PB-ADN) obtenido, condiciones de reacción para liberar el oligómero del CPG (temperatura y tiempo de retención en una condición de NH₃ conc.-EtOH (3:1, v/v)), un rendimiento y una pureza estereoquímica de un dímero en la tabla 2, respectivamente. Además, en la tabla 2, la descripción de Rp o Sp indica si la configuración absoluta de una estructura de boranofosfato en el oligómero es Sp o Rp. La descripción de todo-(Rp) indica que la configuración absoluta de una estructura de boranofosfato en el oligómero es todo Rp, y la descripción de todo-(Sp) indica que la configuración absoluta de una estructura de boranofosfato en el oligómero es todo Sp, respectivamente.

[Tabla 2]

Entrada	Secuencia de PB-ADN ^a		Condiciones de reacción para liberar el oligómero del CPG	Rendimiento (%) ^b	Pureza estereoquímica ^b
1	(Rp)-24a	(Rp)-T _B T	25°C, 3 h	91	98: 2
2	(Rp)-24b	(Rp)-dC _B T	25°C, 3 h	91	> 99 : 1
3	(Rp)-24c	(Rp)-dA _B T	25°C, 3 h	-	> 99 : 1
4	(Rp)-24c	(Rp)-dA _B T	55°C, 12 h	88	> 99 : 1
5	(Rp)-24d	(Rp)-dG _B T	55°C, 12 h	77	> 99 : 1
6	(Sp)-24a	(Sp)-T _B T	25°C, 3 h	88	> 99 : 1
7	(Sp)-24b	(Sp)-dC _B T	25°C, 3 h	93	98: 2
8	(Sp)-24c	(Sp)-dA _B T	25°C, 3 h	-	> 99 : 1
9	(Sp)-24c	(Sp)-dA _B T	55°C, 12 h	87	> 99 : 1

10	(Sp)-24d	(Sp)-dG _B T	55°C, 12 h	77	97 : 3
11	25	todo-(Rp)- d(C _B A _B G _B T)	55°C, 12 h	14 ^c	-
12	26	todo-(Sp)- d(C _B A _B G _B T)	55°C, 12 h	23 ^c	-
^a "B" representa que está unido mediante una estructura de boranofosfato. ^b Calculado mediante HPLC de fase inversa. Los gráficos de HPLC se muestran en las figuras 1 a 7. ^c Rendimiento aislado					

La figura 1 son gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (A) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Rp)-T_BT [(Rp)-24a] y (B) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Sp)-T_BT [(Sp)-24a].

Las condiciones de medición de la HPLC de fase inversa fueron tal como sigue a continuación.

Ciclo de gradiente: después de un gradiente lineal de acetonitrilo desde el 0% hasta el 10% durante 30 minutos en una disolución tampón de trietilamonio 0,1 M (pH 7,0), se mantuvo el acetonitrilo al 10% durante 30 minutos.

Temperatura de medición: 30°C

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

Columna: columna μ Bondasphere 5 μ m C18 (100 Å, 3,9 mm $\times$ 150 mm) (Waters)

La figura 2 son gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (C) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Rp)-dC_BT [(Rp)-24b] y (D) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Sp)-dC_BT [(Sp)-24b].

Las condiciones de medición de la HPLC de fase inversa fueron tal como sigue a continuación.

Ciclo de gradiente: después de un gradiente lineal de acetonitrilo desde el 0% hasta el 10% durante 30 minutos en una disolución tampón de trietilamonio 0,1 M (pH 7,0), se mantuvo el acetonitrilo al 10% durante 20 minutos.

Temperatura de medición: 30°C

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

Columna: columna μ Bondasphere 5 μ m C18 (100 Å, 3,9 mm $\times$ 150 mm) (Waters)

La figura 3 son gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (E) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Rp)-dA_BT [(Rp)-24c] y (D) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Sp)-dA_BT [(Sp)-24c].

Las condiciones de medición de la HPLC de fase inversa fueron tal como sigue a continuación.

Ciclo de gradiente: un gradiente lineal de acetonitrilo desde el 0% hasta el 30% durante 60 minutos en una disolución tampón de trietilamonio 0,1 M (pH 7,0).

Temperatura de medición: 30°C

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

Columna: columna μ Bondasphere 5 μ m C18 (100 Å, 3,9 mm $\times$ 150 mm) (Waters)

La figura 4 son gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (G) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Rp)-dA_BT [(Rp)-24c] y (H) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Sp)-dA_BT [(Sp)-24c].

Las condiciones de medición de la HPLC de fase inversa fueron tal como sigue a continuación.

Ciclo de gradiente: un gradiente lineal de acetonitrilo desde el 0% hasta el 30% durante 60 minutos en una disolución tampón de trietilamonio 0,1 M (pH 7,0).

Temperatura de medición: 30°C

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

5 Columna: columna μ Bondasphere 5 μ m C18 (100 Å, 3,9 mm $\times$ 150 mm) (Waters)

La figura 5 son gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (I) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Rp)-dG_BT [(Rp)-24d] y (J) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de (Sp)-dG_BT [(Sp)-24d].

10 Las condiciones de medición de la HPLC de fase inversa fueron tal como sigue a continuación.

Ciclo de gradiente: un gradiente lineal de acetonitrilo desde el 0% hasta el 30% durante 60 minutos en una disolución tampón de trietilamonio 0,1 M (pH 7,0).

15 Temperatura de medición: 30°C

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

20 Columna: columna μ Bondasphere 5 μ m C18 (100 Å, 3,9 mm $\times$ 150 mm) (Waters)

La figura 6 son gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (K) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de todo-(Rp)-d (C_BA_BG_BT) [25] y (L) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de todo-(Sp)-d (C_BA_BG_BT) [26].

25 Las condiciones de medición de la HPLC de fase inversa fueron tal como sigue a continuación.

Ciclo de gradiente: un gradiente lineal de acetonitrilo desde el 0% hasta el 20% durante 60 minutos en una disolución tampón de trietilamonio 0,1 M (pH 7,0).

30 Temperatura de medición: 30°C

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

35 Columna: columna μ Bondasphere 5 μ m C18 (100 Å, 3,9 mm $\times$ 150 mm) (Waters)

La figura 7 son gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (K) un producto purificado de todo-(Rp)-d (C_BA_BG_BT) [25] y (L) un producto purificado de todo-(Sp)-d (C_BA_BG_BT) [26].

40 Las condiciones de medición de la HPLC de fase inversa fueron tal como sigue a continuación.

Ciclo de gradiente: un gradiente lineal de acetonitrilo desde el 0% hasta el 20% durante 60 minutos en una disolución tampón de trietilamonio 0,1 M (pH 7,0).

45 Temperatura de medición: 30°C

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

50 Columna: columna μ Bondasphere 5 μ m C18 (100 Å, 3,9 mm $\times$ 150 mm) (Waters)

La secuencia del ADN de boranofosfato (PB-ADN) obtenido, la fórmula química [H⁺], el valor teórico de un peso molecular (EM), y el valor medido mediante ESI-EM se muestran en la tabla 3, respectivamente. Además, en la tabla 3, la descripción de Rp o Sp indica si la configuración absoluta de una estructura de boranofosfato en el oligómero es Sp o Rp. La descripción de todo-(Rp) indica que la configuración absoluta de una estructura de boranofosfato en el oligómero es todo Rp, y la descripción de todo-(Sp) indica que la configuración absoluta de una estructura de boranofosfato en el oligómero es todo Sp, respectivamente.

[Tabla 3]

PB-ADN ^a		Fórmula química [H ⁺]	Valor teórico	Valor medido
(Rp)-24a	(Rp)-T _B T	C ₂₀ H ₂₉ BN ₄ O ₁₁ P ⁻	542,1705	542,1695
(Rp)-24b	(Rp)-dC _B T	C ₁₉ H ₂₈ BN ₅ O ₁₀ P ⁻	527,1709	527,1708
(Rp)-24c	(Rp)-dA _B T	C ₂₀ H ₂₈ BN ₇ O ₉ P ⁻	551,1821	551,1826

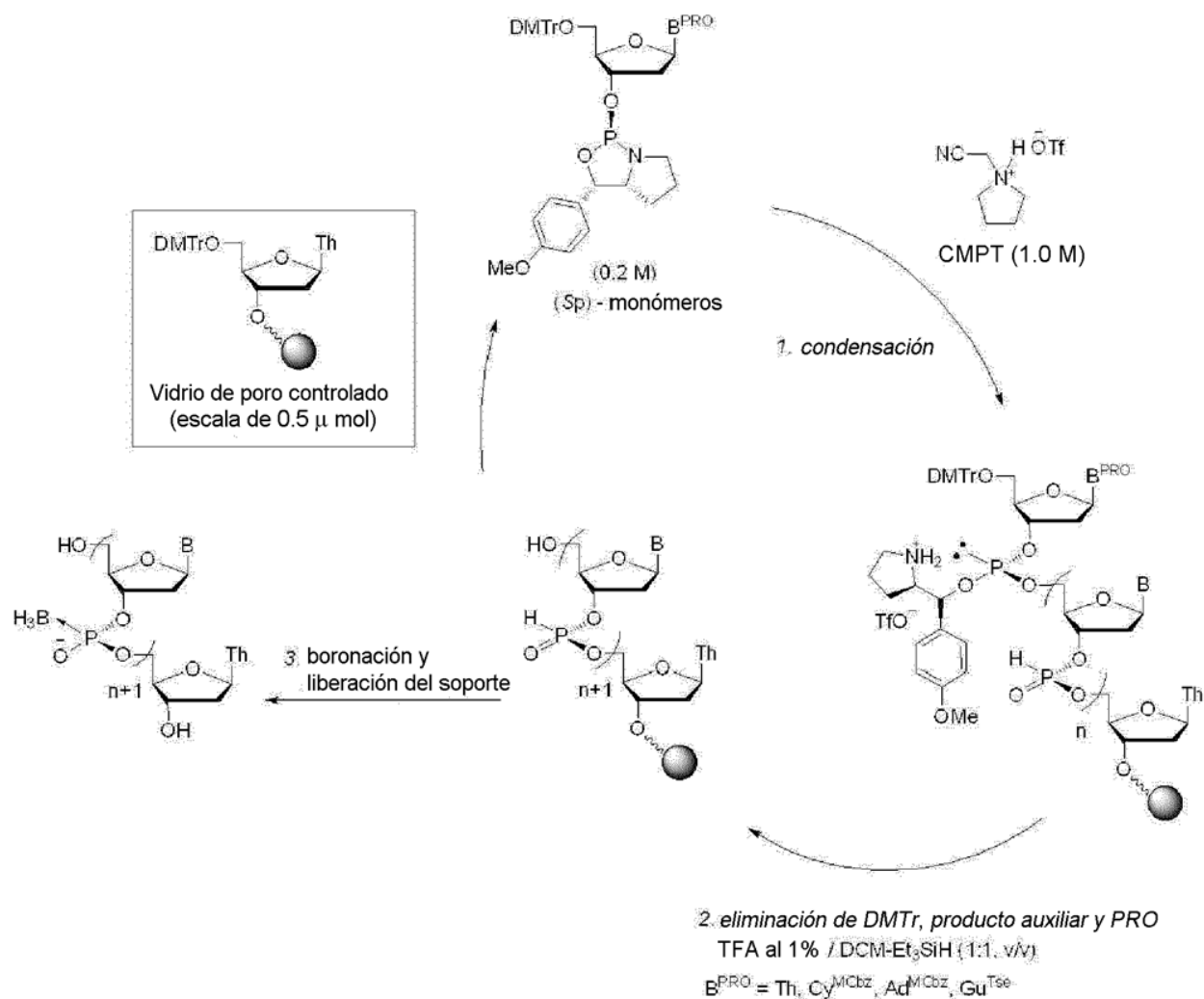
(Rp)-24d	(Rp)-dG _B T	C ₂₀ H ₂₈ BN ₇ O ₁₀ P ⁻	567,1770	567,1761
(Sp)-24a	(Sp)-T _B T	C ₂₀ H ₂₉ BN ₄ O ₁₁ P ⁻	542,1705	542,1700
(Sp)-24b	(Sp)-dC _B T	C ₁₉ H ₂₈ BN ₅ O ₁₀ P ⁻	527,1709	527,1710
(Sp)-24c	(Sp)-dA _B T	C ₂₀ H ₂₈ BN ₇ O ₉ P ⁻	551,1821	551,1821
(Sp)-24d	(Sp)-dG _B T	C ₂₀ H ₂₈ BN ₇ O ₁₀ P ⁻	567,1770	567,1763
25	todo-(Rp)- d(C _B A _B G _B T)	C ₃₉ H ₅₇ B ₃ N ₁₅ O ₁₉ P ₃ ⁻	1166,3549	1166,3547
26	todo-(Sp)- d(C _B A _B G _B T)	C ₃₉ H ₅₇ B ₃ N ₁₅ O ₁₉ P ₃ ⁻	1166,3549	1166,3542

^a “B” representa que está unido mediante una estructura de boranofosfato.

<Síntesis 2 de ADN de boranofosfato>

Según el siguiente esquema, se sintetizó ADN de boranofosfato (PB-DNA) [27]. La secuencia era todo-(Sp)-
5 d(G_BT_B(A_BC_BT_B)₃T). Se usaron un vidrio de poro controlado (CPG) como soporte sólido y un filtro de vidrio (10 mm ×
50 mm) que tiene una espita en la parte inferior de un recipiente de reacción. El rendimiento aislado fue del 1.5%.

Otras condiciones de reacción detalladas se muestran en la siguiente tabla 4.



[Tabla 4]

etapa	manipulación	reactivos y disolventes	tiempo
-------	--------------	-------------------------	--------

1	destritilación	TFA al 1% en DCM	15 s
2	lavado	(1) DCM (2) CH ₃ CN	---
3	secado		5 min
4	condensación	unidades monoméricas (0,2 M), CMPT (1,0 M) /CH ₃ CN	5 min
5	lavado	CH ₃ CN	---
6	secado		5 min
7	lavado	(1) DCM (2) CH ₃ CN	---
8	destritilación y desprotección	TFA al 1% en DCM-Et ₃ SiH (1:1, v/v)	5 min
	<i>repetir las etapas 2-8 en orden para sintetizar la secuencia objetivo</i>		
9	lavado	(1) DCM (2) CH ₃ CN	---
10	boronación	BH ₃ ·SMe ₂ -BSA-DMAc (1:1:8, v/v/v)	15 min
11	lavado	(1) DMAc (2) CH ₃ CN	---
12	liberar el oligómero del CPG	NH ₃ sat. ac-EtOH.(3:1, v/v, 50°C)	12 h

En la tabla 4, las unidades monoméricas representan el compuesto 20a-d.

- 5 La figura 8 son gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (O) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de todo-(Sp)-d(G_BT_B(A_BC_BT_B)₃T) [27] y (P) un producto purificado de todo-(Sp)-d(G_BT_B(A_BC_BT_B)₃T) [27].

Las condiciones de medición de la HPLC de fase inversa fueron tal como sigue a continuación.

- 10 Ciclo de gradiente: un gradiente lineal de acetonitrilo desde el 0% hasta el 40% durante 60 minutos en una disolución tampón de trietilamonio 0,1 M (pH 7,0).

Temperatura de medición: 30°C

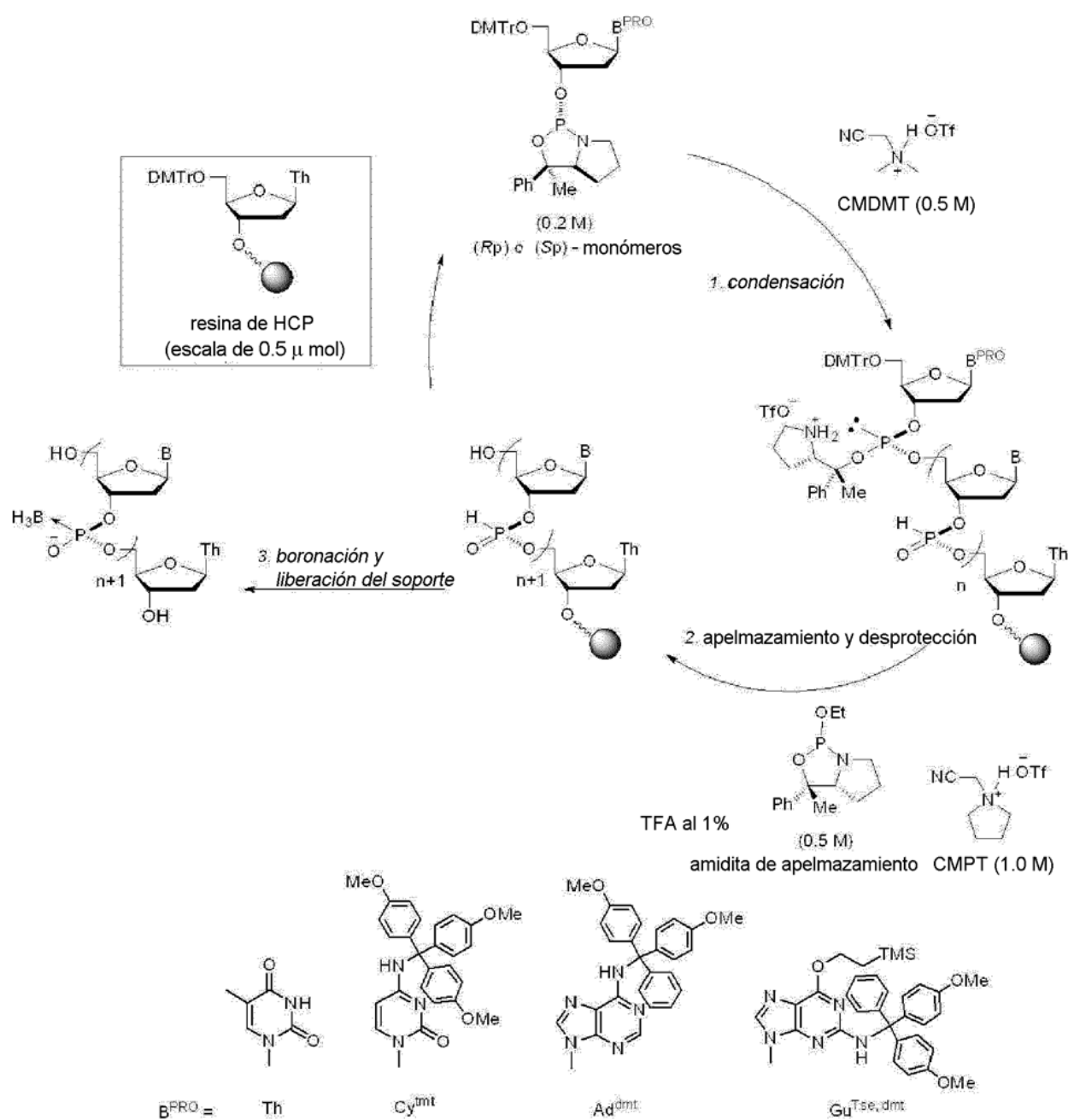
- 15 Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

Columna: columna μ Bondasphere 5 μ m C18 (100 Å, 3,9 mm $\times$ 150 mm) (Waters)

<Síntesis 3 de ADN de boranofosfato (ejemplo comparativo)>

- 20 Según el siguiente esquema, se sintetizó ADN de boranofosfato (PB-DNA) [28, 29]. La secuencia era todo-(Sp)-d(C_BA_BG_BT_B)₂(C_BA_BG_B)T [28] o todo-(Rp)-d(C_BA_BG_BT_B)₂(C_BA_BG_B)T [29]. Se usaron un vidrio de poro controlado (CPG) como soporte sólido y un filtro de vidrio (10 mm $\times$ 50 mm) que tiene una espita en la parte inferior del recipiente de reacción.

- 25 Otras condiciones de reacción detalladas se muestran en la siguiente tabla 5.



[Tabla 5]

etapa	manipulación	reactivos y disolventes	tiempo
1	destritilación	TFA al 1% en DCM	15 s
2	lavado	(1) DCM (2) CH ₃ CN	---
3	secado	---	10 min
4	condensación	unidades monoméricas (0,2 M), CMDMT (0,5 M) /CH ₃ CN-NMP (4:1, v/v)	5 min
5	lavado	CH ₃ CN	---
6	secado	---	5 min
7	apelmazamiento	amidita de apelmazamiento (0,5 M), CMPT (1,0 M) /CH ₃ CN	5 min
8	lavado	(1) DCM (2) CH ₃ CN	---

9	destritilación y desprotección	TFA al 1% en DCM- Et ₃ SiH (1:1, v/v)	15 s
	<i>repetir las etapas 2-9 con el fin de sintetizar la secuencia objetivo</i>		
10	lavado	(1) DCM (2) CH ₃ CN	---
11	boronación	BH ₃ ·SMe ₂ -BSA-DMAc (1:1:8, v/v/v)	15 min
12	lavado	(1) DMAc (2) CH ₃ CN (3) CH ₃ OH	---
13	liberar el oligómero de la resina de HCP	NH ₃ sat. en CH ₃ OH (50°C, 0,1 mM)	12 h

La figura 9 son gráficos de HPLC que muestran resultados de HPLC de fase inversa de (Q) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de todo-(Sp)-d(C_BA_BG_BT_B)₂(C_BA_BG_B)T[28] y (R) una disolución de reacción de síntesis (bruta) de todo-(Rp)-d(C_BA_BG_BT_B)₂(C_BA_BG_B)T [29].

5

Las condiciones de medición de la HPLC de fase inversa fueron tal como sigue a continuación.

Ciclo de gradiente: un gradiente lineal de acetonitrilo desde el 0% hasta el 40% durante 60 minutos en una disolución tampón de trietilamonio 0,1 M (pH 7,0).

10

Temperatura de medición: 30°C

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

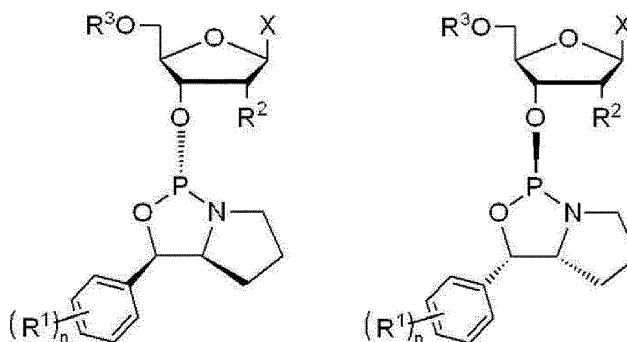
15

Columna: columna μ Bondasphere 5 μ m C18 (100 Å, 3,9 mm $\times$ 150 mm) (Waters)

Tal como puede observarse a partir de la figura 9, según el ejemplo comparativo, fue imposible sintetizar ADN de boranofosfato.

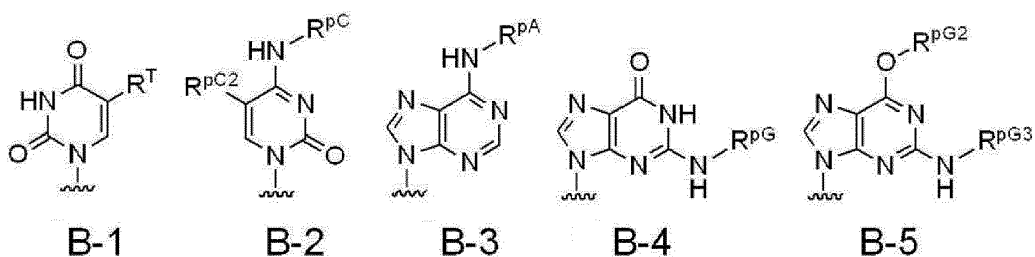
REIVINDICACIONES

1. Compuesto polimerizable representado por la siguiente fórmula A-1 o fórmula A-2:



A-1

A-2



B-1

B-2

B-3

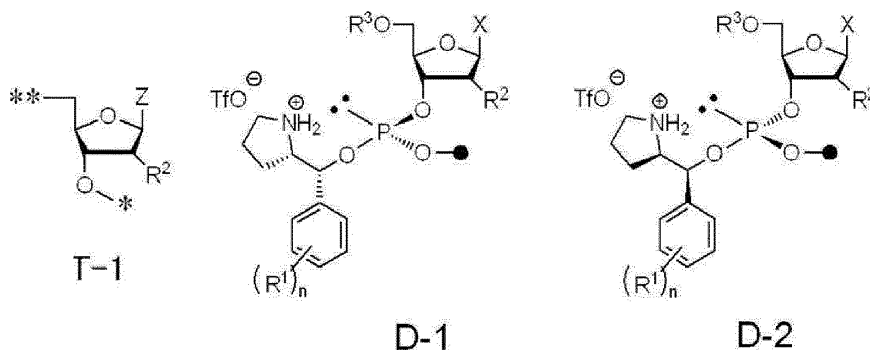
B-4

B-5

en la que, en la fórmula A-1 o fórmula A-2, R^1 representa un grupo donador de electrones; n representa un número entero desde 1 hasta 5; R^2 representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o $-OR^0$, en la que R^0 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo protector de un grupo hidroxilo; R^3 representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de un grupo hidroxilo; y X representa una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-1 a la fórmula B-5, y

en la que, en la fórmula B-1 a la fórmula B-5, R^T representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquénilo o un grupo alquínico; cada uno de R^{pC} , R^{pA} y R^{pG} representa un grupo protector que se retira en una condición ácida; R^{pC2} representa un átomo de hidrógeno; R^{pG2} representa un grupo protector; R^{pG3} representa un grupo protector que se retira en una condición ácida, o un átomo de hidrógeno; y representa un sitio de unión a otra estructura.

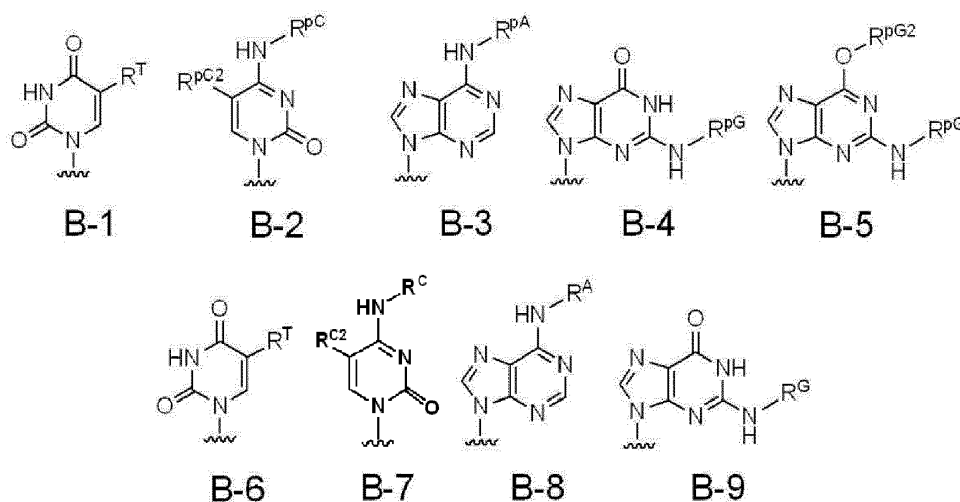
2. Compuesto que comprende una unidad estructural representada por la siguiente fórmula T-1 y una unidad estructural representada por la siguiente fórmula D-1 o fórmula D-2:



T-1

D-1

D-2



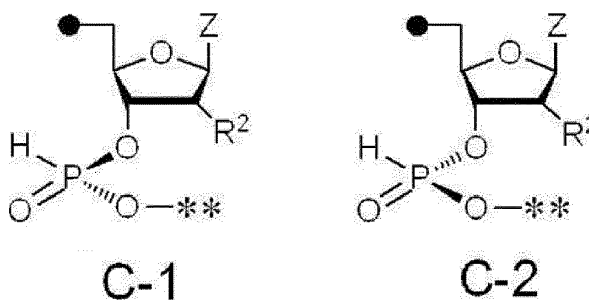
5 en la que, en la fórmula T-1, R^2 representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o $-OR^O$, en la que R^O representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo protector de un grupo hidroxilo; Z representa una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-6 a la fórmula B-9; y cada uno de * y ** representa un sitio de unión con otra estructura,

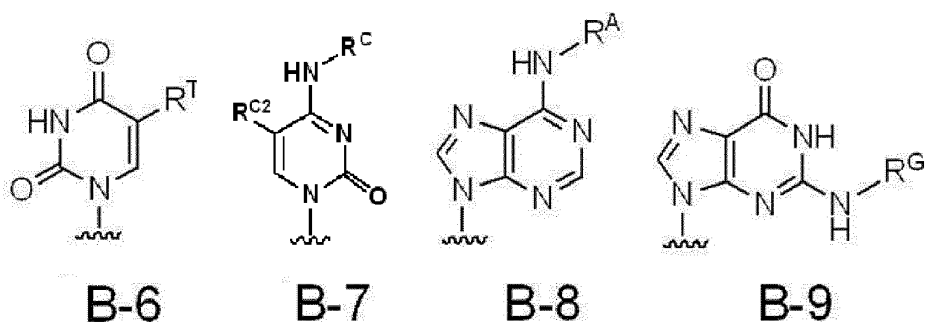
10 en la que, en la fórmula D-1 o fórmula D-2, R^1 representa un grupo donador de electrones; n representa un número entero desde 1 hasta 5; R^2 representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o $-OR^O$, en la que R^O representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo protector de un grupo hidroxilo; R^3 representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de un grupo hidroxilo; X representa una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-1 a la fórmula B-5; TfO representa un anión triflato; y ● representa un sitio de unión con otra estructura,

15 en la que, en la fórmula B-1 a la fórmula B-5, R^T representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquénilo o un grupo alquínilo; cada uno de R^{pC} , R^{pA} y R^{pG} representa un grupo protector que se retira en una condición ácida; R^{pC2} representa un átomo de hidrógeno; R^{pG2} representa un grupo protector; R^{pG3} representa un grupo protector que se retira en una condición ácida, o un átomo de hidrógeno; y  representa un sitio de unión a otra estructura, y

20 en la que, en la fórmula B-6 a la fórmula B-9, R^T representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquénilo o un grupo alquínilo; cada uno de R^C , R^A y R^G representa un átomo de hidrógeno; R^{C2} representa un átomo de hidrógeno; y  representa un sitio de unión a otra estructura.

- 25 3. Compuesto según la reivindicación 2, que comprende además una o ambas unidades estructurales representadas por la siguiente fórmula C-1 o fórmula C-2:





5 en la que, en la fórmula C-1 o fórmula C-2, R^2 representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno o $-OR^O$, en la que R^O representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo protector de un grupo hidroxilo; Z representa una estructura representada por una cualquiera de la fórmula B-6 a la fórmula B-9; y cada uno de $**$ y $\bullet$ representa un sitio de unión con otra estructura, y

10 en la que, en la fórmula B-6 a la fórmula B-9, R^T representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo, un grupo alquenilo o un grupo alquinilo; cada uno de R^C , R^A y R^G representa un átomo de hidrógeno; R^{C2} representa un átomo de hidrógeno; y representa un sitio de unión a otra estructura.

4. Método de producción de un oligómero de boranofosfato, que comprende condensar el compuesto polimerizable según la reivindicación 1.

FIG.1

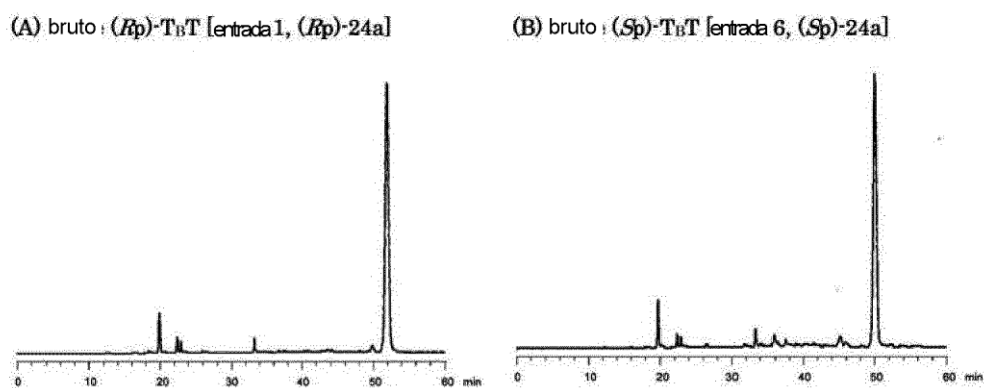


FIG.2

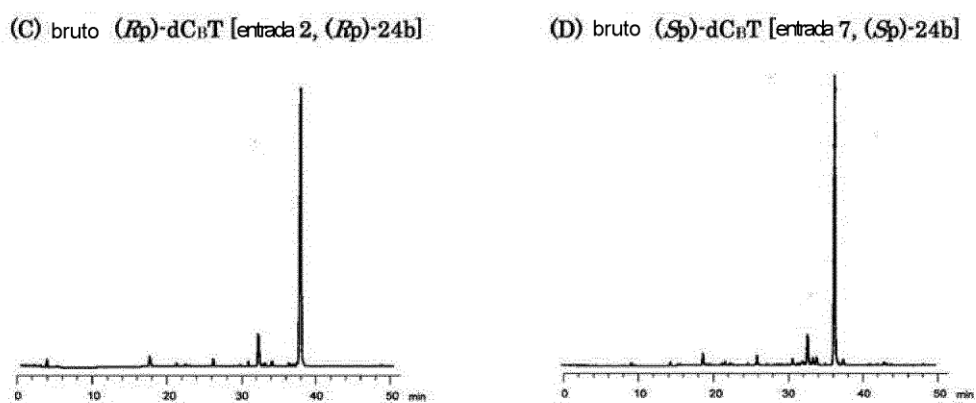


FIG.3

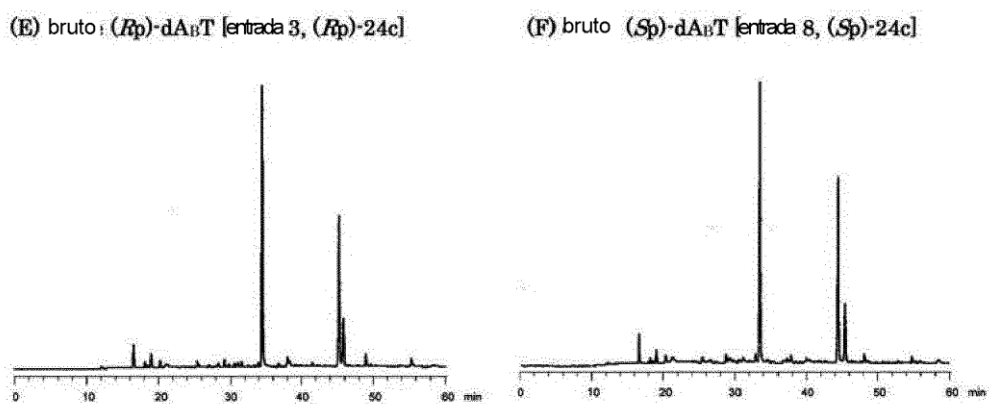
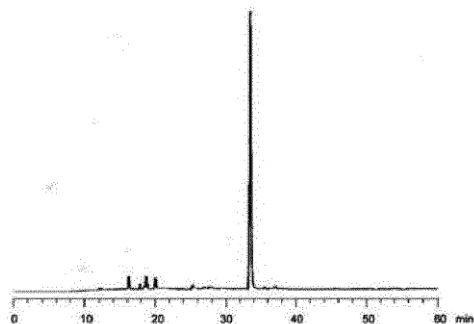


FIG.4

(G) bruto (Rp)-dAdT [entrada 4, (Rp)-24c]



(H) bruto (Sp)-dAdT [entrada 9, (Sp)-24c]

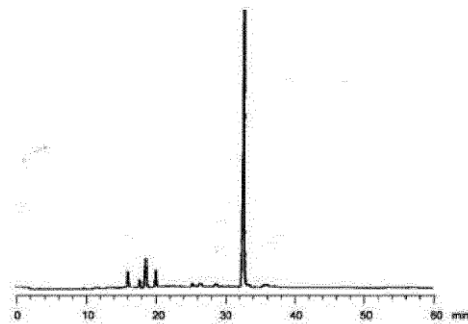
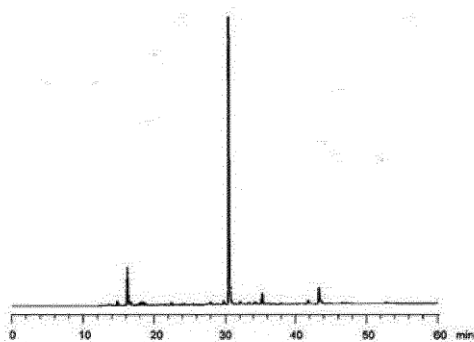


FIG.5

(I) bruto (Rp)-dGdT [entrada 5, (Rp)-24d]



(J) bruto (Sp)-dGdT [entrada 10, (Sp)-24d]

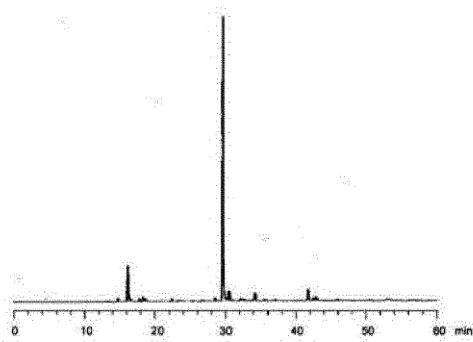
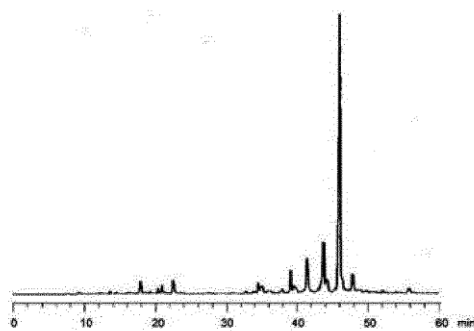


FIG.6

(K) todo-(Rp)-d (CBAAGT) [entrada 11, 25]
(bruto)



(L) todo-(Sp)-d (CBAAGT) [entrada 12, 26]
(bruto)

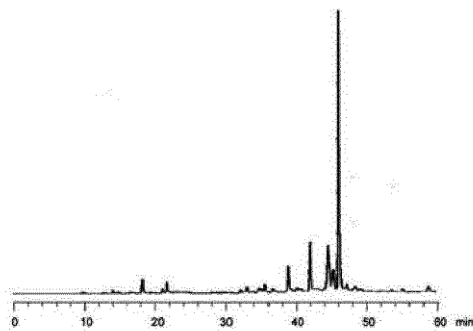
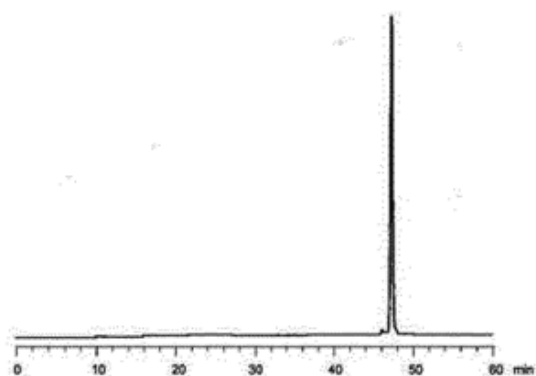


FIG.7

(M) todo-(Rp)-d (C_RA_BG_BT) [entrada 11, 25]
(purificado)



(N) todo-(Sp)-d (C_RA_BG_BT) [entrada 12, 26]
(purificado)

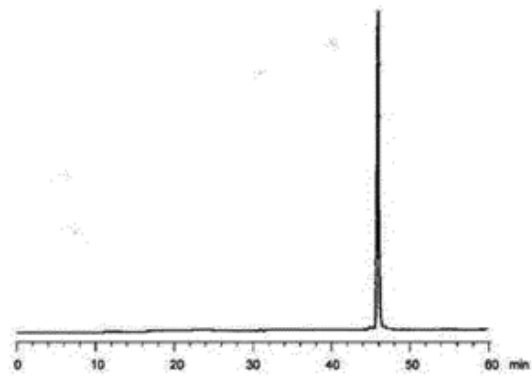


FIG.8

(O) bruto todo-(Sp)-d(G_BT_B(A_BC_BT_B)₃T) (P) purificado todo-(Sp)-d(G_BT_B(A_BC_BT_B)₃T)

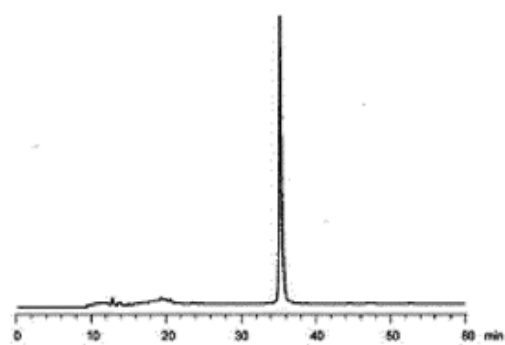
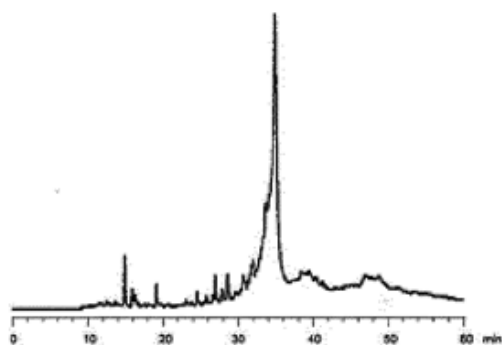
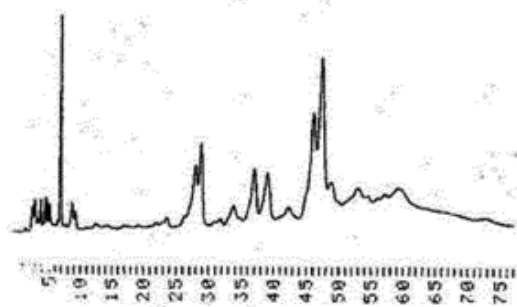


FIG.9

(Q) bruto todo-(Sp)-d(C_RA_BG_BT_B)₂(C_RA_BG_B)T



(R) bruto todo-(Rp)-d(C_RA_BG_BT_B)₂(C_RA_BG_B)T

