



DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

ENTRADA EN FASE NACIONAL

21. EXPEDIENTE No.

04-57566

54. TITULO

NUCLEOSIDOS 3-B-D-RIBOFURANOSILTIAZOL(4,5-d)PIRIMIDINA Y SUS USOS

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K31/7052.

71. SOLICITANTE

ANADYS PHARMACEUTICALS, INC.

DOMICILIO

SAN DIEGO, CALIFORNIA 92121, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

74. APODERADO

RAMIRO CASTRO DUQUE

22. SANTAFE DE BOGOTA, D.C.

18 / 06 / 2004.

SS

PETITORIO

AS: 94.282

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 04057566 00000000 Folios: 132
Fecha (ARD): 2004-06-18 17:13:26
Tramite : 011 PCT-PATENT 378 FASE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PC T

ENTRADA EN FASE NACIONAL

1

SOLICITUD DE:



Patente de Invención.



Patente de Modelo de Utilidad.



Capítulo I.



Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: ANADYS PHARMACEUTICALS, INC.

Dirección: 9050 Camino Santa Fe, San Diego, CA
92121, Estados Unidos de América

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América

Lugar de Constitución: Estados Unidos de América

Teléfono:

Fax:

E-mail

IDENTIFICACION

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: RAMIRO CASTRO DUQUE

Dirección: Cra. 7 No. 16-56 Piso 9

Teléfono: 380-2200

Fax: 380-2700

E-mail:

IDENTIFICACION

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número 170.322 TP 1003

4

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: Devron R. Averett, Stephen E. Webber, Joseph R. Lennox, Erik J. Rueden

Dirección: 2529 Newport Avenue, Cardiff By The Sea, California 92007, US; 3531 Millikin
Avenue, San Diego, California 92122, US; 2212 Crol View Drive, Apt.315, Cardiff By The
Sea, California 92007, US; 9249 Carlton Oaks Drive Santee, California 92071, Estados
Unidos de América

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América

5 PCT (86)

Solicitud Internacional No.

PCT/US02/38001

Fecha

27-11-2002

Publicación Internacional No.

WO 03/045968 A1

Fecha

05-06-2003

Título (54): NUCLEOSIDOS 3-B-D-RIBOFURANOSILTIAZOL[4,5-d]PIRIMIDINA Y SUS USOS

7 Clasificación Internacional (51)

A61K31/7052

8 Prioridad

SI



NO



(33) Pais de
Origen

US

(32) Fecha

27-11-2001

(31) Número de Solicitud

60/333,460

9 Comprobante de pago No. 04-39,546

Fecha

17-06-2004

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

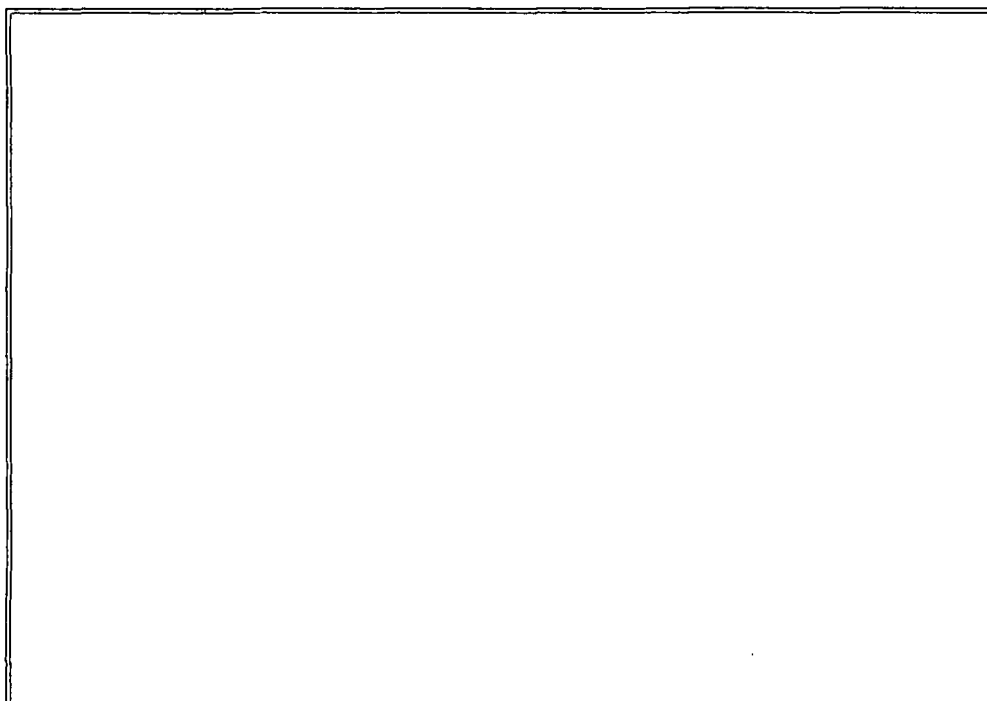
10

ANEXOS

2

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. \$422.000
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☐ Poderes, si fuere el caso.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros Tarjeta de propietarios.

11 FIGURA CARACTERÍSTICA:



12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: RAMIRO CASTRO DUQUE

FIRMA:

C.C. 170.322 de Bogotá T.P. 1003 del C.S.J.

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página.

M

INDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 04057566 00000000 Folia: 132
Fecha (AMB): 2004-05-18 17:13:20
Tramite : 011 PCT-PATENT 378 FASE NNCI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

MIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 04 - 39,546
FECHA : MAYO 17 DE 2004

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
BRIGARD & CASTRO LTDA	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	21740989	17/05/2004	22,697,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
1		TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	422,000.00
		TOTAL :	\$ 422,000.00

SOM: CUATROCIENTOS VEINTIDOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

AS 94282
4

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
5 June 2003 (05.06.2003)

PCT

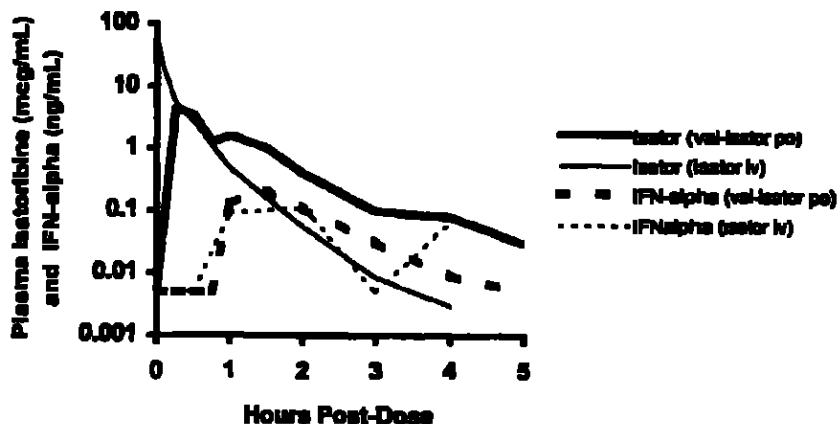
(10) International Publication Number
WO 03/045968 A1

- (51) International Patent Classification⁷: C07H 19/24, A61K 31/7052, A61P 37/02
- (21) International Application Number: PCT/US02/38001
- (22) International Filing Date:
27 November 2002 (27.11.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60/333,460 27 November 2001 (27.11.2001) US
- (71) Applicant: ANADYS PHARMACEUTICALS, INC.
[US/US]: 9050 Camino Santa Fe, San Diego, CA 92121 (US).
- (72) Inventors: AVERETT, Devron, R.; 2529 Newport Avenue, Cardiff by the Sea, CA 92007 (US). WEBBER, Stephen, E.; 3531 Millikin Avenue, San Diego, CA 92122 (US).
- (74) Agent: DAIGNAULT, Ronald, A.; Merchant & Gould P.C., P.O. Box 2903, Minneapolis, MN 55402-0903 (US).
- (81) Designated States (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (*regional*): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI patent (BF, BI, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TO).
- Published:
— with international search report

[Continued on next page]

(54) Title: 3- β -D-RIBOFURANOSYLTHIAZOLO[4,5-*d*]PYRIDIMINE NUCLEOSIDES AND USES THEREOF

Murine Interferon-alpha Response
Isatoribine 25 mg/kg i.v. vs Val-isatoribine 50 mg/kg p.o.



(57) Abstract: The invention is directed to 3- β -D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyridimine nucleosides and pharmaceutical compositions containing such compounds that have immunomodulatory activity. The invention is also directed to the therapeutic or prophylactic use of such compounds and compositions, and to methods of treating diseases and disorders described herein, by administering effective amounts of such compounds.

WO 03/045968 A1



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

5

26

**3-β-D-RIBOFURANOSYLTHIAZOLO[4,5-d]PYRIDIMINE
NUCLEOSIDES AND USES THEREOF**

This application is being filed as a PCT international patent application in the
5 names of Devron R. Averett and Stephen B. Webber, both citizens and residents of
the U.S., on 27 November 2002, designating all countries except the U.S.

FIELD OF THE INVENTION

The invention is directed to 3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyridimine
10 nucleosides and pharmaceutical compositions containing such compounds that have
immunomodulatory activity. The invention is also directed to the therapeutic or
prophylactic use of such compounds and compositions, and to methods of treating
diseases and disorders described herein, by administering effective amounts of such
compounds.

15

BACKGROUND OF THE INVENTION

The last few decades have seen significant efforts expended in exploring
possible therapeutic uses of D- and L-purine nucleoside analogs. A number of
nucleoside analogs are currently being marketed as antiviral drugs, including the
20 HIV reverse transcriptase inhibitors (AZT, ddI, ddC, d4T, and 3TC).

A variety of D- and L-purine nucleoside analogs have also been explored
in search of immunomodulators. Guanosine analogs having substituents at the
7-and/or 8-positions, for example, have been shown to stimulate the immune
system. See Reitz et al, *J. Med. Chem.*, 37, 3561-78 (1994); Michael et al., *J.*
25 *Med. Chem.*, 36, 3431-36 (1993). In other research, U.S. Patent No. 5,821,236
to Krenitsky et al. discloses 6-alkoxy derivatives of arabinofuranosyl purine
derivatives that are useful for tumor therapy. Also reported in U.S. Patent No.
5,539,098 to Krenitaky et al. are inhibitors of varicella zoster virus, including 5'-
O-propionyl and 5'-O-butyryl esters of 2-amino-6-methoxy-9-(β-D-
30 arabinofuranosyl)-9H-purine. 7-Deazaguanosine and analogs have been shown
to exhibit antiviral activity in mice against a variety of RNA viruses, even
though the compound lacks antiviral properties in cell culture. 3-Deazaguanine

7
X

nucleosides and nucleotides have also demonstrated significant broad spectrum antiviral activity against certain DNA and RNA viruses. Revankar et al., *J. Med. Chem.*, 27, 1489-96 (1984). Certain 7- and 9-deazaguanine C-nucleosides exhibit the ability to protect against a lethal challenge of Semliki Forest virus.

- 5 Girgis et al., *J. Med. Chem.*, 33, 2750-55 (1990). Selected 6-sulfenamide and 6-sulfinamide purine nucleosides are disclosed in U.S. Patent No. 4,328,336 to Robins et al. as having demonstrated significant antitumor activity.

- Certain pyrimido[4,5-*d*]pyridimine nucleosides are disclosed in U.S. Patent No. 5,041,542 to Robins et al. as being effective in treatment against
- 10 L1210 in BDF1 mice. These particular nucleosides were suggested to be as a result of their role as immunomodulators. See Bonnet et al., *J. Med. Chem.*, 36, 635-53 (1993). Also, Wang et al. (WIPO International Publication No. WO 98/16184) report that purine L-nucleoside compounds and analogs thereof were used to treat an infection, infestation, a neoplasm, an autoimmune disease, or to
- 15 modulate aspects of the immune system. In addition, 3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyridimines demonstrating significant immunoactivity, including murine spleen cell proliferation and *in vivo* activity against Semliki Forest virus, are disclosed U.S. Patent Nos. 5,041,426 and 4,880,784 to Robins et al.

- 20 One possible target of immunomodulation involves stimulation or suppression of Th1 and Th2 lymphokines. Type 1 (Th1) cells produce interleukin 2 (IL-2), tumor necrosis factor (TNFα) and interferon gamma (IFNγ) and they are responsible primarily for cell-mediated immunity such as delayed type hypersensitivity and antiviral immunity. Type 2 (Th2) cells produce
- 25 interleukins, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, and IL-13 and are primarily involved in assisting humoral immune responses such as those seen in response to allergens. See, e.g., Mosmann, *Annu. Rev. Immunol.*, 7, 145-73 (1989). D-guanosine analogs have been shown to elicit various effects on lymphokines IL-1, IL-6, INFα and TNFα (indirectly) *in vitro* (Goodman, *Int. J.*
- 30 *Immunopharmacol.*, 10, 579-88 (1988); U.S. Patent No. 4,746,651 to Goodman) and *in vivo* (Smee et al., *Antiviral Res.*, 15, 229 (1991); Smee et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33, 1487-92 (1989)). However, the

8

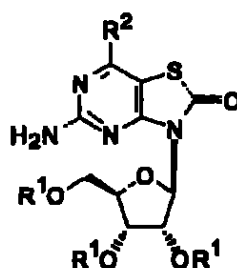
ability of the D-guanosine analogs such as 7-thio-8-oxoguanosine to modulate Type 1 or Type 2 cytokines directly in T cells was ineffective or had not been described.

Moreover, it is known that the oral administration of many purine nucleoside analogs are subject to difficulties arising from poor absorption, poor solubility, or degradation in the digestive tract as a result of acidic or alkaline conditions or the action of enzymes, and/or combinations of these phenomena. Thus there remains a need for purine nucleoside analogs with improved oral availability, tolerability, and administration that are used to modulate aspects of the immune system.

SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention has addressed this need by the discovery of 3- β -D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyridimine nucleosides, pharmaceutically acceptable prodrugs, pharmaceutically active metabolites, and pharmaceutically acceptable salts thereof (such compounds, prodrugs, metabolites and salts are collectively referred to as "agents") described below, which are useful as immunomodulators.

In a general aspect, the invention relates to compounds of the Formula I:



I

wherein:

R^1 is independently H, $-C(O)R^3$, or a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CHNH_2R^4$, wherein R^3 is a substituted or unsubstituted alkyl, and R^4 is H, or a substituted or unsubstituted alkyl;

A 9

R^2 is H, OR^5 , or $N(R^6)_2$, wherein R^5 is independently H or alkyl, and wherein R^6 is independently H, substituted or unsubstituted alkyl, cycloalkyl, or together with nitrogen forms a substituted or unsubstituted heterocycloalkyl ring; and

5 wherein if R^2 is $-OH$, at least one of the R^1 groups is a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CHNH_2R^4$.

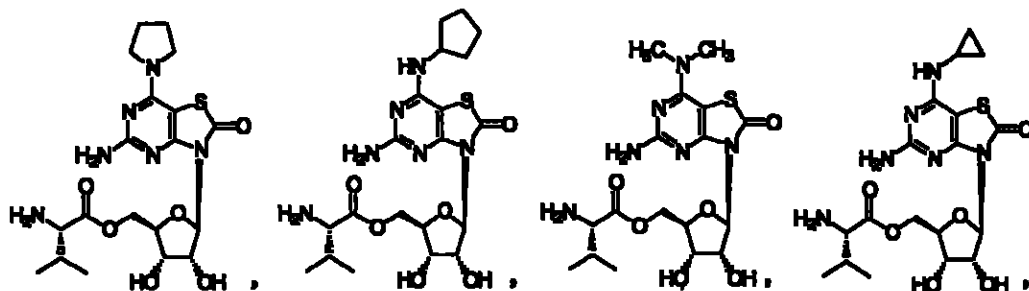
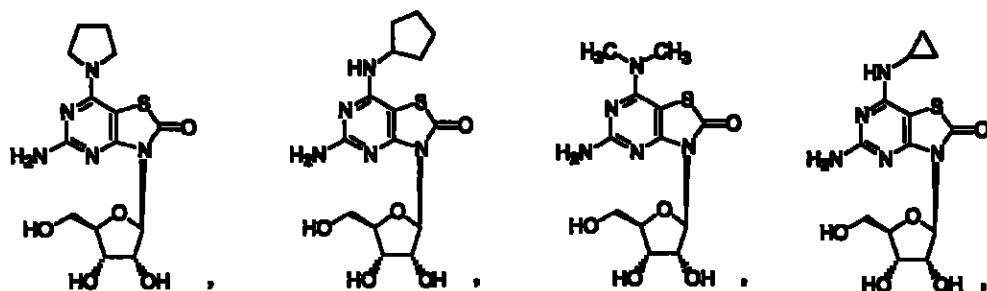
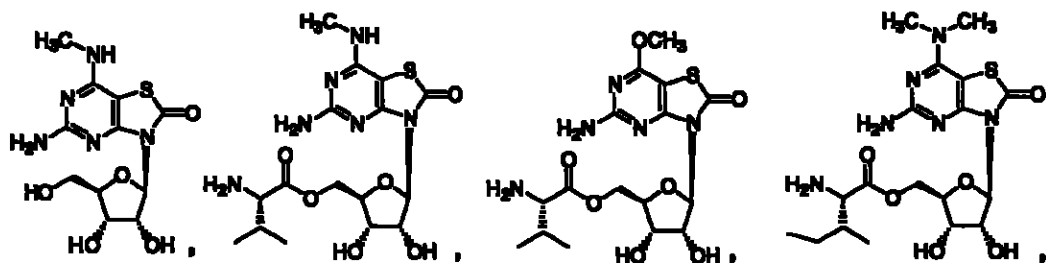
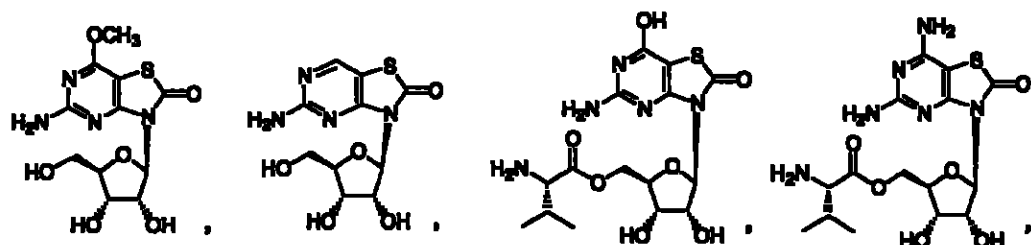
In a preferred embodiment, the invention relates to compounds having Formula I, wherein at least one of the R^1 groups is a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CHNH_2R^4$, wherein R^4 is a substituted or unsubstituted alkyl, and wherein the remaining R^1 groups are H; R^2 is OR^5 or $N(R^6)_2$, wherein R^5 is
10 independently selected from H or alkyl, and wherein R^6 is independently H, substituted or unsubstituted alkyl, cycloalkyl, or together with nitrogen forms a substituted or unsubstituted heterocycloalkyl ring.

In another preferred embodiment, the invention relates to compounds having Formula I, wherein at least one of the R^1 groups is a L- amino acid group —
15 $C(O)CHNH_2R^4$, wherein R^4 is a substituted or unsubstituted alkyl, and wherein the remaining R^1 groups are H; R^2 is OR^5 or $N(R^6)_2$, wherein R^4 is a substituted alkyl, and wherein R^6 is independently H or substituted or unsubstituted alkyl.

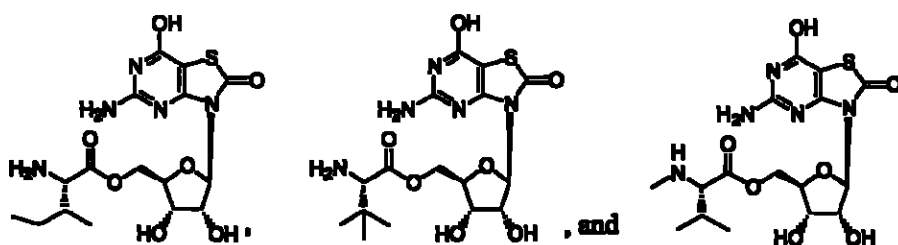
In yet another preferred embodiment, the invention relates to compounds having Formula I, wherein at least one of the R^1 groups is a L- amino acid group —
20 $C(O)CHNH_2R^4$, wherein R^4 is $-CH(CH_3)_2$, and wherein the remaining R^1 groups are H; and R^2 is OH.

In another aspect of the invention, compounds of the invention are selected from:

10



5



The invention is also directed to pharmaceutically acceptable prodrugs, pharmaceutically active metabolites, and pharmaceutically acceptable salts of the

711

compounds, prodrugs, or metabolites of Formula I. Advantageous methods of making the compounds of Formula I are also described.

The compounds of Formula I are useful as immune system enhancers and have certain immune system properties including modulation, mitogenicity, augmentation, and/or potentiation or they are intermediates for compounds that have these properties. The compounds are expected to express effects on at least the natural killer, macrophages, and lymphocyte cells of the immune system of a host. Because of these properties they are useful as antiviral and antitumor agents or as intermediates for antiviral and antitumor agents. They can be used to treat an affected host by serving as the active ingredients of suitable pharmaceutical compositions.

In one aspect of the invention, Formula I compounds are utilized to treat the full range of viral diseases in mammals by administering to the mammal a therapeutically effective amount of the compounds. Viral diseases contemplated to be treated with Formula I compounds include acute and chronic infections caused by both RNA and DNA viruses. Without limiting in any way the range of viral infections that may be treated, compounds of Formula I are particularly useful in the treatment of infections caused by adenovirus, cytomegalovirus, hepatitis A virus (HAV), hepatitis B virus (HBV), flaviviruses including Yellow Fever virus and hepatitis C virus (HCV), herpes simplex type 1 and 2, herpes zoster, human herpesvirus 6, human immunodeficiency virus (HIV), human papilloma virus (HPV), influenza A virus, influenza B virus, measles, parainfluenza virus, poliovirus, poxvirus (including smallpox and monkeypox virus), rhinovirus, respiratory syncytial virus (RSV), multiple families of viruses that cause hemorrhagic fevers, including the Arenaviruses (LCM, Junin virus, Machupo virus, Guanarito virus, and Lassa Fever), the Bunyaviruses (Hanta viruses and Rift Valley Fever) and Filoviruses (Ebola and Marburg virus), a range of viral encephalitides including West Nile virus, LaCrosse virus, California Encephalitis virus, Venezuelan Equine Encephalitis virus, Eastern Equine Encephalitis virus, Western Equine Encephalitis virus, Japanese Encephalitis virus, Kyasanur Forest virus, and tickborne viruses such as Crimean-Congo Hemorrhagic fever virus.

In another aspect of the invention, Formula I compounds are utilized to treat bacterial, fungal, and protozoal infections in mammals by administering to

the mammal a therapeutically effective amount of the compounds. The full range of pathogenic microorganisms is contemplated to be treatable by the compounds of the present invention, including without limitation those organisms that are resistant to antibiotics. The ability of Formula I compounds to activate multiple components of the immune system bypasses resistance mechanisms commonly found to reduce susceptibility to antibiotics, and thus treatment of infections in a mammal caused by such resistant microorganisms by Formula I compounds is a particular utility of the present invention.

In another aspect of the invention, Formula I compounds are utilized to treat tumors in mammals by administering to the mammal a therapeutically effective amount of the compounds. Tumors or cancers contemplated to be treated include those caused by virus, and the effect may involve inhibiting the transformation of virus-infected cells to a neoplastic state, inhibiting the spread of viruses from transformed cells to other normal cells, and/or arresting the growth of virus-transformed cells. The compounds of Formula I are expected to be useful against a broad spectrum of tumors including but not limited to carcinomas, sarcomas, and leukemias. Included in such a class are mammary, colon, bladder, lung, prostate, stomach, and pancreas carcinomas and lymphoblastic and myeloid leukemias.

In another aspect of the invention, a method of treating a mammal comprises administering a therapeutically and/or prophylactically effective amount of a pharmaceutical containing a compound of the invention. In this aspect the effect may relate to modulation of some portion of the mammal's immune system, especially modulation of cytokine activities of Th1 and Th2, including but not restricted to the interleukin family, e.g., IL-1 through IL-12, and other cytokines such as TNF alpha, and interferons including interferon alpha, interferon theta, and interferon gamma, and their downstream effectors. Where modulation of Th1 and Th2 cytokines occurs, it is contemplated that the modulation may include stimulation of both Th1 and Th2, suppression of both Th1 and Th2, stimulation of either Th1 or Th2, and suppression of the other, or a bimodal modulation in which one effect on Th1/Th2 levels (such as generalized suppression) occurs at a high concentration, while another effect (such as

P 13

stimulation of either Th1 or Th2 and suppression of the other) occurs at a lower concentration.

In another aspect of the invention, pharmaceutical compositions containing a compound of Formula I are administered in a therapeutically effective dose to a mammal that is receiving anti-infective drugs not included in Formula I. In a preferred aspect of this invention, the pharmaceutical compositions containing a compound of Formula I are administered in a therapeutically effective dose with anti-infective drug(s) that act directly upon the infectious agent to inhibit the growth of or kill the infectious agent.

In a preferred aspect of the invention, a pharmaceutical composition comprising a therapeutically effective amount of a compound according to Formula I provides for improved oral availability and administration as an immunomodulator. In another preferred aspect of the invention, a pharmaceutical composition comprising a therapeutically effective amount of a compound according to Formula I provides for masking the active structure as the agent passes through lymphoid tissue lining the stomach, thereby minimizing activation of this tissue and allowing for improved oral tolerability.

BRIEF DESCRIPTION OF THE FIGURES

Figure 1 is a graphical depiction of plasma levels of isatoribine and interferon alpha in mice.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION AND PREFERRED EMBODIMENTS

Where the following terms are used in this specification, they are used as defined below:

The terms "comprising" and "including" are used herein in their open, non-limiting sense.

The term "nucleoside" refers to a compound composed of any pentose or modified pentose moiety attached to a specific position of a heterocycle or to the natural position of a purine (9-position) or pyrimidine (1-position) or to the equivalent position in an analog.

X14

The term "purine" refers to nitrogenous bicyclic heterocycles.

The term "pyrimidine" refers to nitrogenous monocyclic heterocycles.

The term "D-nucleosides" refers to the nucleoside compounds that have a D-ribose sugar moiety (e.g., Adenosine).

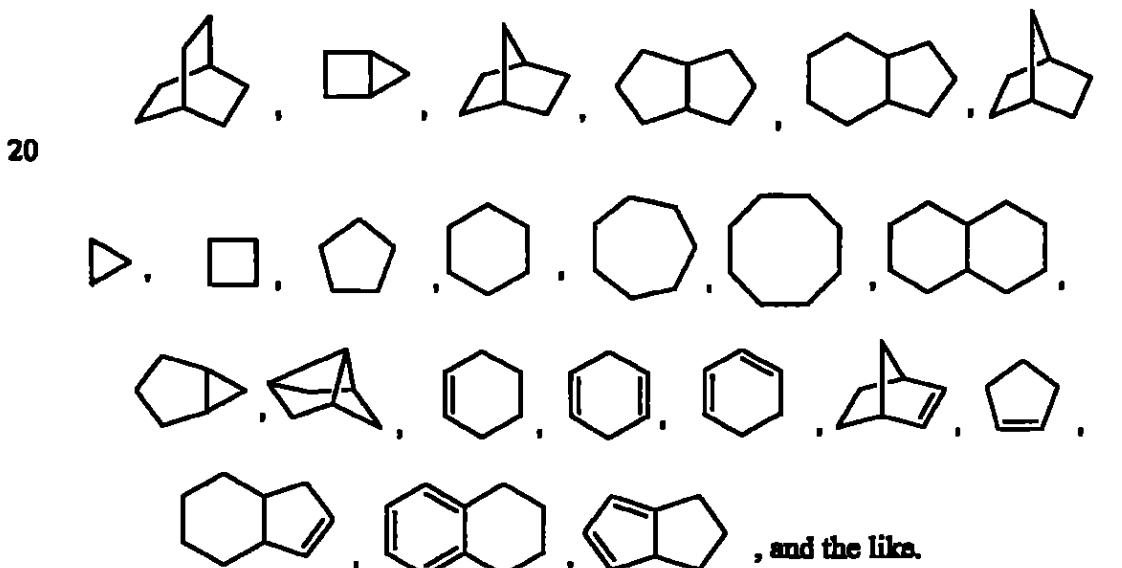
5 The term "L-nucleosides" refers to the nucleoside compounds that have a L-ribose sugar moiety.

The term "alkyl" as used herein refers to a straight- or branched-chain alkyl group having one to twelve carbon atoms. Exemplary alkyl groups include methyl (Me, which also may be structurally depicted by "/"), ethyl (Et), n-propyl, isopropyl, 10 butyl, isobutyl, sec-butyl, tert-butyl (tBu), pentyl, isopentyl, tert-pentyl, hexyl, isohexyl, and the like.

The term "alkoxy" refers to -O-alkyl. Illustrative examples include methoxy, ethoxy, propoxy, and the like.

15 The term "halogen" represents chlorine, fluorine, bromine or iodine. The term "halo" represents chloro, fluoro, bromo or iodo.

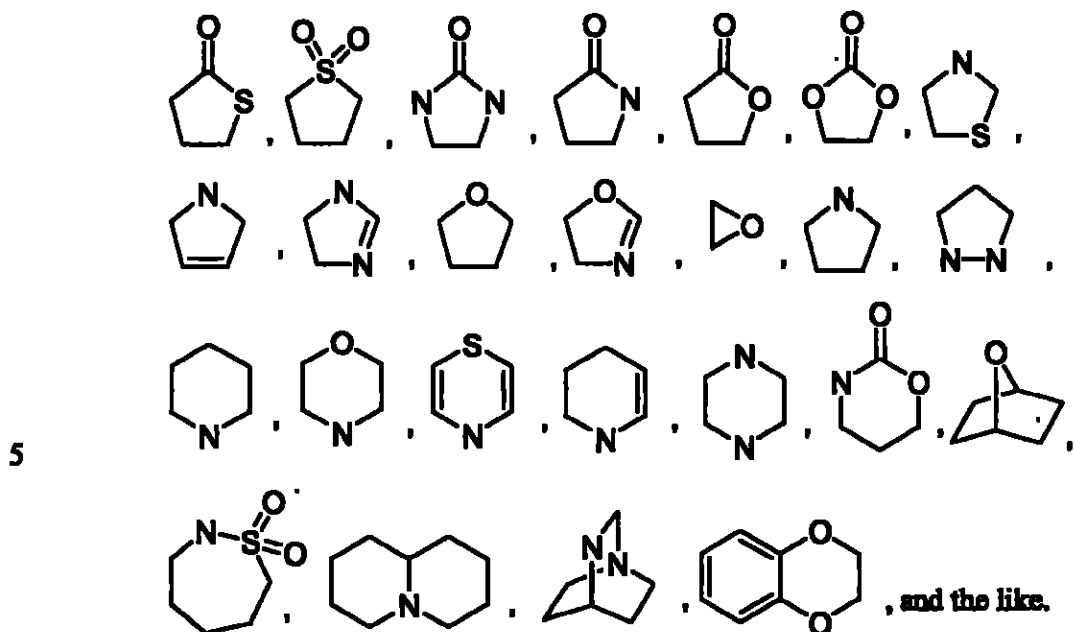
The term "cycloalkyl" refers to a saturated or partially saturated, monocyclic or fused or spiro polycyclic, carbocycle having from three to twelve ring atoms per ring. Illustrative examples of cycloalkyl groups include the following moieties:



25 A "heterocycloalkyl" refers to a monocyclic, or fused or spiro polycyclic, ring structure that is saturated or partially saturated and has from three to twelve ring

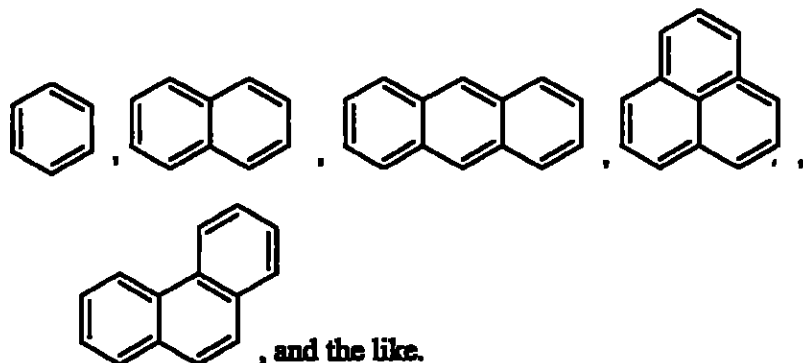
8/15

atoms per ring selected from C atoms and N, O, and S heteroatoms. Illustrative examples of heterocycloalkyl groups include:



The term "aryl" (Ar) refers to a monocyclic, or fused or spiro polycyclic, aromatic carbocycle (ring structure having ring atoms that are all carbon) having from three to twelve ring atoms per ring. Illustrative examples of aryl groups

10 include the following moieties:



The term "substituted" means that the specified group or moiety bears one or more substituents. The term "unsubstituted" means that the specified group bears no substituents.

15 A substituted alkyl, cycloalkyl, or heterocycloalkyl is substituted by one or more substituents including halogen (F, Cl, Br, or I), lower alkyl (C₁₋₆), -OH, -NO₂, -CN, -CO₂H, -O-lower alkyl, -aryl, -aryl-lower alkyl, -CO₂CH₃, -CONH₂,

16

-OCH₂CONH₂, -NH₂, -SO₂NH₂, haloalkyl (e.g., -CF₃, -CH₂CF₃), -O-haloalkyl (e.g., -OCF₃, -OCHF₂), and the like.

5 The term "immunomodulator" refers to natural or synthetic products capable of modifying the normal or aberrant immune system through stimulation or suppression.

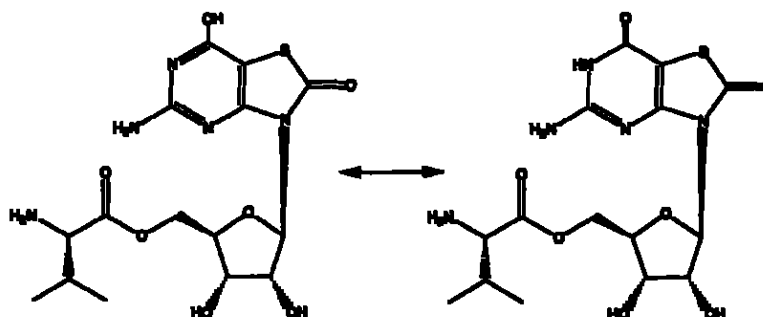
The term "preventing" refers to the ability of a compound or composition of the invention to prevent a disease identified herein in patients diagnosed as having the disease or who are at risk of developing such disease. The term also encompasses preventing further progression of the disease in patients who are
10 already suffering from or have symptoms of such disease.

The term "treating" refers to:

- (i) preventing a disease, disorder, or condition from occurring in an animal that may be predisposed to the disease, disorder and/or condition, but has not yet been diagnosed as having it;
- 15 (ii) inhibiting the disease, disorder, or condition, i.e., arresting its development; and
- (iii) relieving the disease, disorder, or condition, i.e., causing regression of the disease, disorder, and/or condition.

The terms "α" and "β" indicate the specific stereochemical configuration of a substituent at an asymmetric carbon atom in a chemical structure as drawn. The
20 compounds described herein are all in the D-furanosyl configuration.

The compounds of the invention may exhibit the phenomenon of tautomerism. While Formula I cannot expressly depict all possible tautomeric forms, it is to be understood that Formula I is intended to represent any
25 tautomeric form of the depicted compound and are not to be limited merely to a specific compound form depicted by the formula drawings. For example, it is understood for Formula I that regardless of whether or not the substituents are shown in their enol or their keto form, they represent the same compound (as shown in the example below).



Some of the inventive compounds may exist as single stereoisomers (i.e., essentially free of other stereoisomers), racemates, and/or mixtures of enantiomers and/or diastereomers. All such single stereoisomers, racemates and mixtures thereof are intended to be within the scope of the present invention. Preferably, the inventive compounds that are optically active are used in optically pure form.

As generally understood by those skilled in the art, an optically pure compound having one chiral center (i.e., one asymmetric carbon atom) is one that consists essentially of one of the two possible enantiomers (i.e., is enantiomerically pure), and an optically pure compound having more than one chiral center is one that is both diastereomerically pure and enantiomerically pure. Preferably, the compounds of the present invention are used in a form that is at least 90% optically pure, that is, a form that contains at least 90% of a single isomer (80% enantiomeric excess ("e.e.") or diastereomeric excess ("d.e.")), more preferably at least 95% (90% e.e. or d.e.), even more preferably at least 97.5% (95% e.e. or d.e.), and most preferably at least 99% (98% e.e. or d.e.).

Additionally, the Formula I is intended to cover solvated as well as unsolvated forms of the identified structures. For example, Formula I includes compounds of the indicated structure in both hydrated and non-hydrated forms. Other examples of solvates include the structures in combination with isopropanol, ethanol, methanol, DMSO, ethyl acetate, acetic acid, or ethanolamine.

In addition to compounds of Formula I, the invention includes pharmaceutically acceptable prodrugs, pharmaceutically active metabolites, and pharmaceutically acceptable salts of such compounds and metabolites.

"A pharmaceutically acceptable prodrug" is a compound that may be converted under physiological conditions or by solvolysis to the specified compound or to a pharmaceutically acceptable salt of such compound prior to exhibiting its

pharmacological effect (s). Typically, the prodrug is formulated with the objective(s) of improved chemical stability, improved patient acceptance and compliance, improved bioavailability, prolonged duration of action, improved organ selectivity, improved formulation (e.g., increased hydrosolubility), and/or decreased side effects (e.g., toxicity). The prodrug can be readily prepared from the compounds of Formula I using methods known in the art, such as those described by *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Chemistry*, 1, 172-178, 949-982 (1995). See also Bertolini et al., *J. Med. Chem.*, 40, 2011-2016 (1997); Shan, et al., *J. Pharm. Sci.*, 86 (7), 765-767; Bagshawe, *Drug Dev. Res.*, 34, 220-230 (1995); Bodor, *Advances in Drug Res.*, 13, 224-331 (1984); Bundgaard, *Design of Prodrugs* (Elsevier Press 1985); Larsen, *Design and Application of Prodrugs*, Drug Design and Development (Krogsgaard-Larsen et al., eds., Harwood Academic Publishers, 1991); Dear et al., *J. Chromatogr. B*, 748, 281-293 (2000); Spraul et al., *J. Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 10, 601-605 (1992); and Prox et al., *Xenobiol.*, 3, 103-112 (1992).

"A pharmaceutically active metabolite" is intended to mean a pharmacologically active product produced through metabolism in the body of a specified compound or salt thereof. After entry into the body, most drugs are substrates for chemical reactions that may change their physical properties and biologic effects. These metabolic conversions, which usually affect the polarity of the Formula I compounds, alter the way in which drugs are distributed in and excreted from the body. However, in some cases, metabolism of a drug is required for therapeutic effect. For example, anticancer drugs of the anti-metabolite class must be converted to their active forms after they have been transported into a cancer cell.

Since most drugs undergo metabolic transformation of some kind, the biochemical reactions that play a role in drug metabolism may be numerous and diverse. The main site of drug metabolism is the liver, although other tissues may also participate.

A feature characteristic of many of these transformations is that the metabolic products, or "metabolites," are more polar than the parent drugs, although a polar drug does sometime yield a less polar product. Substances with high lipid/water partition coefficients, which pass easily across membranes, also diffuse

§ 19

back readily from tubular urine through the renal tubular cells into the plasma. Thus, such substances tend to have a low renal clearance and a long persistence in the body. If a drug is metabolized to a more polar compound, one with a lower partition coefficient, its tubular reabsorption will be greatly reduced. Moreover, the specific secretory mechanisms for anions and cations in the proximal renal tubules and in the parenchymal liver cells operate upon highly polar substances.

As a specific example, phenacetin (acetophenetidin) and acetanilide are both mild analgesic and antipyretic agents, but are transformed within the body to a more polar and more effective metabolite, p-hydroxyacetanilid (acetaminophen), which is widely used today. When a dose of acetanilide is given to a person, the successive metabolites peak and decay in the plasma sequentially. During the first hour, acetanilide is the principal plasma component. In the second hour, as the acetanilide level falls, the metabolite acetaminophen concentration reaches a peak. Finally, after a few hours, the principal plasma component is a further metabolite that is inert and can be excreted from the body. Thus, the plasma concentrations of one or more metabolites, as well as the drug itself, can be pharmacologically important.

"A pharmaceutically acceptable salt" is intended to mean a salt that retains the biological effectiveness of the free acids and bases of the specified compound and that is not biologically or otherwise undesirable. A compound of the invention may possess a sufficiently acidic, a sufficiently basic, or both functional groups, and accordingly react with any of a number of inorganic or organic bases, and inorganic and organic acids, to form a pharmaceutically acceptable salt. Exemplary pharmaceutically acceptable salts include those salts prepared by reaction of the compounds of the present invention with a mineral or organic acid or an inorganic base, such as salts including sulfates, pyrosulfates, bisulfates, sulfites, bisulfites, phosphates, monohydrogenphosphates, dihydrogenphosphates, metaphosphates, pyrophosphates, chlorides, bromides, iodides, acetates, propionates, decanoates, caprylates, acrylates, formates, isobutyrate, caproates, heptanoates, propiolates, oxalates, malonates, succinates, suberates, sebacates, fumarates, maleates, butyne-1,4-diols, hexyne-1,6-diols, benzoates, chlorobenzoates, methylbenzoates, dinitrobenzoates, hydroxybenzoates, methoxybenzoates, phthalates, sulfonates, xylenesulfonates, phenylacetates, phenylpropionates, phenylbutyrates, citrates, lactates, γ -hydroxybutyrates, glycolates, tartrates, methane-sulfonates,

20

propanesulfonates, naphthalene-1-sulfonates, naphthalene-2-sulfonates, and mandelates.

If the inventive compound is a base, the desired pharmaceutically acceptable salt may be prepared by any suitable method available in the art, for example, treatment of the free base with an inorganic acid, such as hydrochloric acid, hydrobromic acid, sulfuric acid, nitric acid, phosphoric acid and the like, or with an organic acid, such as acetic acid, maleic acid, succinic acid, mandelic acid, fumaric acid, malonic acid, pyruvic acid, oxalic acid, glycolic acid, salicylic acid, a pyranosidyl acid, such as glucuronic acid or galacturonic acid, an alpha-hydroxy acid, such as citric acid or tartaric acid, an amino acid, such as aspartic acid or glutamic acid, an aromatic acid, such as benzoic acid or cinnamic acid, a sulfonic acid, such as p-toluenesulfonic acid or ethanesulfonic acid, or the like.

If the inventive compound is an acid, the desired pharmaceutically acceptable salt may be prepared by any suitable method, for example, treatment of the free acid with an inorganic or organic base, such as an amine (primary, secondary or tertiary), an alkali metal hydroxide or alkaline earth metal hydroxide, or the like. Illustrative examples of suitable salts include organic salts derived from amino acids, such as glycine and arginine, ammonia, primary, secondary, and tertiary amines, and cyclic amines, such as piperidine, morpholine and piperazine, and inorganic salts derived from sodium, calcium, potassium, magnesium, manganese, iron, copper, zinc, aluminum and lithium.

In the case of agents that are solids, it is understood by those skilled in the art that the inventive compounds and salts may exist in different crystal or polymorphic forms, all of which are intended to be within the scope of the present invention and specified formulas.

A further aspect of the present invention is directed to a pharmaceutical composition comprising a pharmaceutically acceptable carrier or a diluent and a therapeutically effective amount of a Formula I compound, a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, ester, solvate, prodrug, metabolite, or stereoisomer.

Formula I compounds are useful in the manufacture of pharmaceutical formulations comprising an effective amount thereof in conjunction with or as an admixture with excipients or carriers suitable for either enteral or parenteral

§ 21

application. As such, formulations of the present invention suitable for oral administration may be in the form of discrete units such as capsules, cachets, tablets, troche or lozenges, each containing a predetermined amount of the active ingredient; in the form of a powder or granules; in the form of a solution or a suspension in an aqueous liquid or nonaqueous liquid; or in the form of an oil-in-water emulsion or a water-in-oil emulsion. The active ingredient may also be in the form of a bolus, electuary, or paste.

The composition will usually be formulated into a unit dosage form, such as a tablet, capsule, aqueous suspension or solution. Such formulations typically include a solid, semisolid, or liquid carrier. Exemplary carriers include lactose, dextrose, sucrose, sorbitol, mannitol, starches, gum acacia, calcium phosphate, mineral oil, cocoa butter, oil of theobroma, alginates, tragacanth, gelatin, syrup, methyl cellulose, polyoxyethylene sorbitan monolaurate, methyl hydroxybenzoate, propyl hydroxybenzoate, talc, magnesium stearate, and the like.

Particularly preferred formulations include tablets and gelatin capsules comprising the active ingredient together with (a) diluents, such as lactose, dextrose, sucrose, mannitol, sorbitol, cellulose, dried corn starch, and glycine; and/or (b) lubricants, such as silica, talcum, stearic acid, its magnesium or calcium salt, and polyethylene glycol.

Tablets may also contain binders, such as magnesium aluminum silicate, starch paste, gelatin, tragacanth, methylcellulose, sodium carboxymethylcellulose and polyvinylpyrrolidone; carriers, such as lactose and corn starch; disintegrants, such as starches, agar, alginic acid or its sodium salt, and effervescent mixtures; and/or absorbents, colorants, flavors, and sweeteners. The compositions of the invention may be sterilized and/or contain adjuvants, such as preserving, stabilizing, swelling or emulsifying agents, solution promoters, salts for regulating osmotic pressure, and/or buffers. In addition, the composition may also contain other therapeutically valuable substances.

Aqueous suspensions may contain emulsifying and suspending agents combined with the active ingredient. All oral dosage forms may further contain sweetening and/or flavoring and/or coloring agents.

22

These compositions are prepared according to conventional mixing, granulating, or coating methods, respectively, and contain about 0.1 to 75% of the active ingredient, preferably about 1 to 50% of the same. A tablet may be made by compressing or molding the active ingredient optionally with one or more accessory ingredients. Compressed tablets may be prepared by compressing, in a suitable machine, the active ingredient in a free-flowing form such as a powder or granules, optionally mixed with a binder, lubricant, inert diluent, surface active, or dispersing agent. Molded tablets may be made by molding, in a suitable machine, a mixture of the powdered active ingredient and a suitable carrier moistened with an inert liquid diluent.

When administered parenterally, the composition will normally be in a unit dosage, sterile injectable form (aqueous isotonic solution, suspension, or emulsion) with a pharmaceutically acceptable carrier. Such carriers are preferably non-toxic, parenterally-acceptable and contain non-therapeutic diluents or solvents. Examples of such carriers include water, aqueous solutions, such as saline (isotonic sodium chloride solution), Ringer's solution, dextrose solution, and Hanks' solution; and nonaqueous carriers, such as 1, 3-butanediol, fixed oils (e.g., corn, cottonseed, peanut, sesame oil, and synthetic mono- or diglyceride), ethyl oleate, and isopropyl myristate.

Oleaginous suspensions can be formulated according to techniques known in the art using suitable dispersing or wetting agents and suspending agents. Among the acceptable solvents or suspending mediums are sterile fixed oils. For this purpose, any bland fixed oil may be used. Fatty acids, such as oleic acid and its glyceride derivatives, including olive oil and castor oil, especially in their polyoxyethylated forms, are also useful in the preparation of injectables. These oil solutions or suspensions may also contain long-chain alcohol diluents or dispersants.

Sterile saline is a preferred carrier, and the compounds are often sufficiently water soluble to be made up as a solution for all foreseeable needs. The carrier may contain minor amounts of additives, such as substances that enhance solubility, isotonicity, and chemical stability, e.g., anti-oxidants, buffers and preservatives.

23

When administered rectally, the composition will usually be formulated into a unit dosage form such as a suppository or cachet. These compositions can be prepared by mixing the compound with suitable non-irritating excipients that are solid at room temperature, but liquid at rectal temperature, such that they will melt in the rectum to release the compound. Common excipients include cocoa butter, beeswax and polyethylene glycols or other fatty emulsions or suspensions.

Formulations suitable for nasal or buccal administration (such as self-propelling powder dispensing formulations), may comprise about 0.1% to about 5% w/w of the active ingredient or, for example, about 1% w/w of the same. In addition, some formulations can be compounded into a sublingual troche or lozenge.

Moreover, the compounds may be administered topically, especially when the conditions addressed for treatment involve areas or organs readily accessible by topical application, including disorders of the eye, the skin or the lower intestinal tract.

For topical application to the eye, or ophthalmic use, the compounds can be formulated as micronized suspensions in isotonic, pH-adjusted sterile saline or, preferably, as a solution in isotonic, pH-adjusted sterile saline, either with or without a preservative such as benzylalkonium chloride. Alternatively, the compounds may be formulated into ointments, such as petrolatum.

For topical application to the skin, the compounds can be formulated into suitable ointments containing the compounds suspended or dissolved, for example, mixtures with one or more of the following: mineral oil, liquid petrolatum, white petrolatum, propylene glycol, polyoxyethylene compound, polyoxypropylene compound, emulsifying wax and water. Alternatively, the compounds can be formulated into suitable lotions or creams containing the active compound suspended or dissolved in, for example, a mixture of one or more of the following: mineral oil, sorbitan monostearate, polysorbate 60, cetyl ester wax, cetearyl alcohol, 2-octyldodecanol, benzyl alcohol and water.

Topical application to the lower intestinal tract can be effected in rectal suppository formulations (see above) or in suitable enema formulations.

24

The formulations may conveniently be presented in unit dosage form and may be prepared by any of the methods well known in the art of pharmacy. All methods include the step of bringing the active ingredient into association with the carrier, which constitutes one or more accessory ingredients. In general, the formulations are prepared by uniformly and intimately bringing the active ingredient into association with a liquid carrier or a finely divided solid carrier or both, and then, if necessary, shaping the product into the desired formulation.

The pharmaceutical composition of the present invention is used in amount that are therapeutically effective and the amounts used may depend upon the desired release profile, the concentration of the pharmaceutical composition required for the sensitizing effect, and the length of time that the pharmaceutical composition has to be released for treatment.

The Formula I compounds of the invention are preferably administered as a capsule or tablet containing a single or divided dose of the compound, or as a sterile solution, suspension, or emulsion, for parenteral administration in a single or divided dose.

The compounds of the invention are used in the composition in amounts that are therapeutically effective. While the effective amount of the Formula I compounds will depend upon the particular compound being used, amounts of these compounds varying from about 1% to about 65% have been easily incorporated into liquid or solid carrier delivery systems.

For medical use, the amount required of a Formula I compound to achieve a therapeutic effect will vary according to the particular compound administered, the route of administration, the mammal under treatment, and the particular disorder in disease concerned. A suitable systemic dose of a Formula I compound for a mammal suffering from, or likely to suffer from, any condition as described herein is typically in the range of about 0.1 to about 100 mg of base per kilogram of body weight. It is understood that the ordinarily skilled physician or veterinarian will readily be able to determine and prescribe the amount of the compound effective for the desired prophylactic or therapeutic treatment.

In so proceeding, the physician or veterinarian may employ an intravenous bolus followed by an intravenous infusion and repeated administrations, as considered appropriate. In the methods of the present invention, the compounds

25

may be administered, for example, orally, parentally, in inhalation spray, topically, rectally, nasally, buccally, sublingually, vaginally, intraventricularly, or via an implanted reservoir in dosage formulations containing conventional non-toxic pharmaceutically-acceptable carriers, adjuvants and vehicles.

5 Parenteral includes, but is not limited to, the following examples of administration: intravenous, subcutaneous, intramuscular, intraspinal, intraosseous, intraperitoneal, intrathecal, intraventricular, intrasternal or intracranial injection and infusion techniques, such as by subdural pump. Invasive techniques are preferred, particularly direct administration to damaged neuronal tissue. While it is possible
10 for the Formula I compound(s) to be administered alone, it is preferable to provide it as part of a pharmaceutical formulation.

To be effective therapeutically as central nervous system targets, the compounds used in the methods of the present invention should readily penetrate the blood-brain barrier when peripherally administered. Compounds that cannot
15 penetrate the blood-brain barrier, however, can still be effectively administered by an intraventricular route.

The compounds used in the methods of the present invention may be administered by a single dose, multiple discrete doses or continuous infusion. Since the compounds are small, easily diffusible and relatively stable, they are well suited
20 to continuous infusion. Pump means, particularly subcutaneous or subdural pump means, are preferred for continuous infusion.

For the methods of the present invention, any effective administration regimen regulating the timing and sequence of doses may be used. Doses of the compounds preferably include pharmaceutical dosage units comprising an
25 efficacious quantity of active compound. By an efficacious quantity is meant a quantity sufficient to provide immune enhancing response and/or derive the desired beneficial effects through administration of one or more of the pharmaceutical dosage units.

An exemplary daily dosage unit for a vertebrate host comprises an amount of
30 from about 0.001 mg/kg to about 50 mg/kg. Typically, dosage levels on the order of about 0.1 mg to about 10,000 mg of the active ingredient compound are useful in the treatment of the above conditions, with preferred levels being about 0.5 mg to about 2,000 mg. The specific dose level for any particular patient will vary depending

upon a variety of factors, including the activity of the specific compound employed; the age, body weight, general health, sex, and diet of the patient; the time of administration; the rate of excretion, any combination of the compound with other drugs; the severity of the particular disease being treated; and the form and route of administration. Typically, in vitro dosage-effect results provide useful guidance on the proper doses for patient administration. Studies in animal models can also be helpful. The considerations for determining the proper dose levels are well known in the art.

The compounds and compositions can be co-administered with one or more therapeutic agents either (i) together in a single formation, or (ii) separately in individual formulations designed for optimal release rates of their respective active agent. Each formulation may contain from about 0.01% to about 99.99% by weight, preferably from about 3.5% to about 60% by weight, of the compound of the invention, as well as one or more pharmaceutical excipients, such as wetting, emulsifying and pH buffering agents. When the compounds used in the methods of the invention are administered in combination with one or more other therapeutic agents, specific dose levels for those agents will depend upon considerations such as those identified above for compositions and methods of the invention in general.

For the methods of the present invention, any administration regimen regulating the timing and sequence of delivery of the compound can be used and repeated as necessary to effect treatment. Such regimen may include pretreatment and/or co-administration with additional therapeutic agents.

The inventive agents may be prepared using the reaction routes and synthesis schemes as described below, employing the general techniques known in the art using starting materials that are readily available. The synthesis of non-exemplified compounds according to the invention may be successfully performed by modifications apparent to those skilled in the art, e.g., by appropriately protecting interfering groups, by changing to other suitable reagents known in the art, or by making routine modifications of reaction conditions. Alternatively, other reactions disclosed herein or generally known in the art will be recognized as having applicability for preparing other compounds of the invention.

Z27

Preparation of Compounds

In the synthetic schemes described below, unless otherwise indicated all temperatures are set forth in degrees Celsius and all parts and percentages are by weight. Reagents were purchased from commercial suppliers such as Aldrich Chemical Company or Lancaster Synthesis Ltd. and were used without further purification unless otherwise indicated. Tetrahydrofuran (THF) and N, N-dimethylformamide (DMF) were purchased from Aldrich in Sure Seal bottles and used as received. Unless otherwise indicated, the following solvents and reagents were distilled under a blanket of dry nitrogen. THF, and Et₂O were distilled from Na-benzophenone ketyl; CH₂Cl₂, diisopropylamine, pyridine and Et₃N were distilled from CaH₂; MeCN was distilled first from P₂O₅, then from CaH₂; MeOH was distilled from Mg; PhMe, EtOAc and *i*-PrOAc were distilled from CaH₂; TFAA was purified via simple atmospheric distillation under dry argon.

The reactions set forth below were done generally under a positive pressure of argon at an ambient temperature (unless otherwise stated) in anhydrous solvents, and the reaction flasks were fitted with rubber septa for the introduction of substrates and reagents via syringe. Glassware was oven dried and/or heat dried. The reactions were assayed by TLC and terminated as judged by the consumption of starting material. Analytical thin layer chromatography (TLC) was performed on aluminum-backed silica gel 60 F₂₅₄ 0.2 mm plates (EM Science), and visualized with UV light (254 nm) followed by heating with commercial ethanolic phosphomolybdic acid. Preparative thin layer chromatography (TLC) was performed on aluminum-backed silica gel 60 F₂₅₄ 1.0 mm plates (EM Science) and visualized with UV light (254 nm).

Work-ups were typically done by doubling the reaction volume with the reaction solvent or extraction solvent and then washing with the indicated aqueous solutions using 25% by volume of the extraction volume unless otherwise indicated. Product solutions were dried over anhydrous Na₂SO₄ and/or Mg₂SO₄ prior to filtration and evaporation of the solvents under reduced pressure on a rotary evaporator and noted as solvents removed *in vacuo*. Column chromatography was completed under positive pressure using 230-400 mesh silica gel or 50-200 mesh neutral alumina. Hydrogenolysis was done at the pressure indicated in the examples or at ambient pressure.

28

¹H-NMR spectra were recorded on a Varian Mercury-VX400 instrument operating at 400 MHz and ¹³C-NMR spectra were recorded operating at 75 MHz. NMR spectra were obtained as CDCl₃ solutions (reported in ppm), using chloroform as the reference standard (7.27 ppm and 77.00 ppm), CD₃OD (3.4 and 4.8 ppm and 49.3 ppm), DMSO-d₆, or internally tetramethylsilane (0.00 ppm) when appropriate. Other NMR solvents were used as needed. When peak multiplicities are reported, the following abbreviations are used: s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet), m (multiplet), br (broadened), dd (doublet of doublets), dt (doublet of triplets). Coupling constants, when given, are reported in Hertz (Hz).

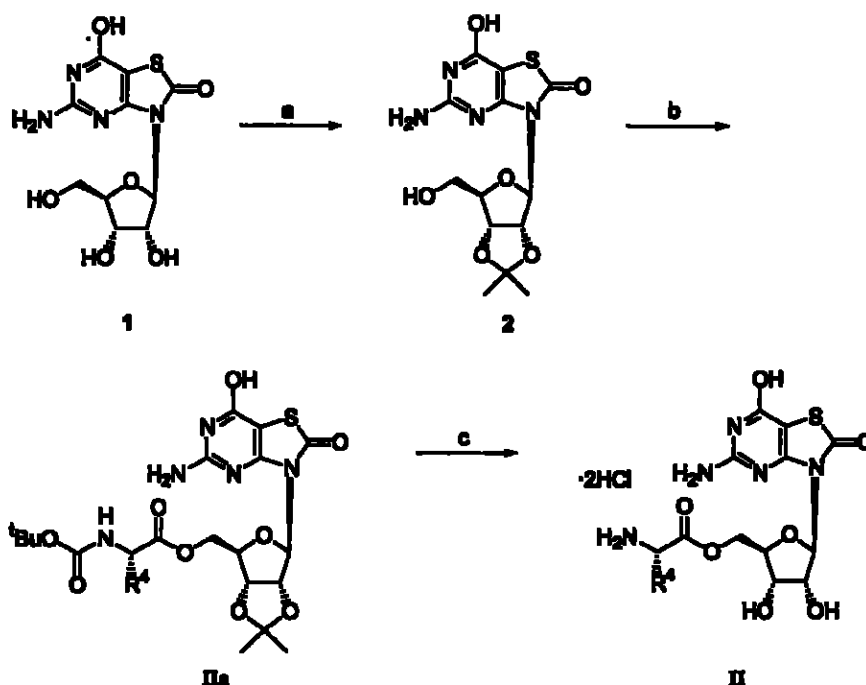
10 Infrared (IR) spectra were recorded on a FT-IR Spectrometer as neat oils, as KBr pellets, or as CDCl₃ solutions, and when given are reported in wave numbers (cm⁻¹). Mass spectra reported are (+)-ES LC/MS conducted by the Analytical Chemistry Department of Anadys Pharmaceuticals, Inc. Elemental analyses were conducted by the Atlantic Microlab, Inc. in Norcross, GA. Melting points (mp) 15 were determined on an open capillary apparatus, and are uncorrected.

The described synthetic pathways and experimental procedures utilize many common chemical abbreviations, THF (tetrahydrofuran), DMF (N,N-dimethylformamide), EtOAc (ethyl acetate), DMSO (di-methyl sulfoxide), DMAP (4-dimethylaminopyridine), DBU (1,8-diazacyclo[5.4.0]undec-7-ene), DCM (4-(dicyanomethylene)-2-methyl-6-(4-dimethylamino-styryl)-4 H-pyran), MCPBA (3-chloroperoxybenzoic acid), EDC (1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride), HATU (O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate), HOBT (1-hydroxybenzotriazole hydrate), TFAA (trifluoroacetic anhydride), pyBOP (benzotriazol-1-ylloxy)tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate), DIEA (diisopropylethylamine), and the like.

Scheme 1 shows a general procedure to prepare the 5'-amino acid esters of 5-amino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione.

29

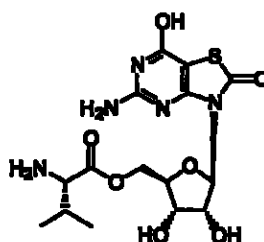
Scheme 1



- a) 2,2-dimethoxypropane, acetone, DMSO, MeSO_3H , 0°C
 b) $\text{BOC-NHCHR}^4\text{CO}_2\text{H}$, EDC, DMAP, PhMe, $0^\circ\text{C} - \text{rt}$
 c) anh. HCl, $i\text{PrOAc}$, $i\text{PrOH}$

In a typical synthetic route, the 2',3'-hydroxyl groups of the β -D-ribose moiety of 5-amino-3- β -D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyrimidine-2,7-dione is first protected, preferably with an acetamide as shown in 2. The free 5'-hydroxyl can then be subjected to a variety of esterification methods with a *N*-protected amino acid to form IIa. The nitrogen of the amino acid ester and the 2',3'-hydroxyls of the ribose unit are then subjected to various deprotection conditions, preferably concurrently, followed by salt formation of the free amine of the amino acid ester as illustrated for II.

Example 1: 5-Amino-3-(5'-*O*-L-valinyl- β -D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-*d*]pyrimidine-2,7-dione Dihydrochloride (3)



X
30

Step 1: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropylidene- β -D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione

To a heterogeneous mixture of 1 (5.37 g, 17.0 mmol, prepared according to the procedure given in U.S. Patent No. 5,041,426 (Example 2), which is incorporated by reference in its entirety) in acetone (40 mL) contained in a 250 mL Morton flask was added successively 2,2-DMP (6.26 mL, 50.9 mmol), DMSO (6.6 mL), and MeSO₃H (220 μ L, 3.39 mmol) at room temperature. The reaction mixture was stirred vigorously, becoming homogeneous and golden yellow as the diol was consumed. TLC analysis (SiO₂, 10% MeOH-CHCl₃) indicated reaction completion after 6 h. Undissolved solids were removed via gravity filtration using fluted Whatman type 1 filter paper. This was followed by pouring of the filtrate into 10 volumes of ice water (~400 mL), resulting in immediate precipitation of a white solid. After a brief period of stirring, NaHCO₃ (285 mg, 3.39 mmol) dissolved in water (10 mL) was added to neutralize the MeSO₃H. Vigorous stirring in the Morton reactor was continued for 15 min, whereupon the mixture was filtered through a coarse scintered glass funnel. The solid material was washed with ice water (100 mL), air dried, then dried further under high vacuum at 65 °C, affording 5.36 g (88%) of the acetonide 2 as a white solid: mp 280-81 °C; ¹H (DMSO-*d*₆) δ 1.28 (s, 3H), 1.47 (s, 3H), 3.43-3.55 (m, 2H), 3.95-3.99 (m, 1H), 4.77-4.80 (m, 1H), 4.88-4.91 (m, 1H), 5.24-5.26 (m, 1H), 5.99 (s, 1H), 6.97 (br s, 2H), 11.25 (s, 1H).

Step 2: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropylidene-5'-N-tert-butoxycarbonyl-L-valinyl)- β -D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione (4)

To a solution of N-butoxycarbonyl-(L)-valine (671 mg, 2.81 mmol) in THF (9 mL) at 0 °C was added EDC (588 mg, 3.07 mmol). The resultant homogeneous mixture was stirred 45 min at 0 °C, at which point it had become heterogeneous, and solid acetonide 2 from Step 1 above (1.00 g, 2.81 mmol) was added as one portion. Subsequently added was solid DMAP (522 mg, 4.27 mmol). The reaction mixture was permitted to reach room temperature, and stirred an additional 5 h, whereupon it was concentrated at 25 °C via rotary evaporation to a yellow syrup. The residue was dissolved in EtOAc (50 mL), partitioned with 1 N HCl (10 mL) followed by neutralization of acid with saturated aqueous NaHCO₃ (10 mL). The acidic aqueous phase was further extracted with EtOAc (2 x 50 mL), and then partitioned with the

2731

basic aqueous phase. The combined organic phases were dried over Na_2SO_4 , filtered through a short pad of SiO_2 , and concentrated, affording 1.480 g (96%) of Boc-protected amino acid ester 4 as a foam: mp 158 °C (dec); ^1H (CDCl_3) δ 0.86 (d, $J=7.0$, 3H), 0.95 (d, $J=7.0$, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.44 (s, 9H), 1.56 (s, 3H), 1.75 (br s, 1H), 2.08-2.19 (m, 1H), 4.20-4.24 (m, 2H), 4.30-4.37 (m, 1H), 4.56 (dd, $J=11.0$, 5.9, 1H), 4.96 (dd, $J=6.2$, 3.7, 1H), 5.11 (br d, $J=8.8$, 1H), 5.29 (br d, $J=6.6$, 1H), 5.88 (br s, 2H), 6.23 (s, 1H).

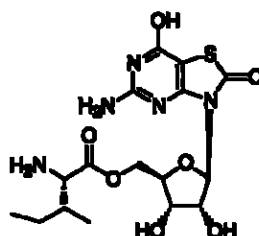
Step 3: Preparation of 5-Amino-3-(5'-O-L-valinyl- β -D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione Dihydrochloride (3)

10 A stream of HCl gas was passed through a bubbler of concentrated H_2SO_4 , and subsequently directed (via fritted dispersion tube) into a 250 mL 3-neck Morton flask containing dry isopropyl acetate (80 mL) at 0 °C until a saturated solution was obtained. To this was added a solution of the Boc-amino acid ester from Step 2 above (5.53 g, 9.95 mmol) in isopropyl acetate (30 mL), resulting in the formation of a white solid precipitate within 5 min. To this was added 10% (v/v) IPA (11 mL). 15 The reaction mixture was warmed to room temperature, then stirred 12 h. The heterogeneous reaction mixture was diluted with dry toluene (100 mL). Filtration using a medium pore sintered glass funnel under N_2 provided an off-white, amorphous solid. Trituration of the solid in dry THF was followed by filtration and vacuum drying at 65 °C, affording 3.677 g (81%) of the title compound 3 as a white solid: mp 166-68 °C (dec); ^1H ($\text{DMSO}-d_6$) δ 0.90 (d, $J=7.0$, 3H), 0.94 (d, $J=7.0$, 3H), 2.14-2.18 (m, 1H), 3.83-3.85 (m, 1H), 3.96-4.00 (m, 1H), 4.23-4.28 (m, 2H), 4.42 (dd, $J=11.7$, 3.4, 1H), 4.75 (dd, $J=10.3$, 5.5, 1H), 5.81 (d, $J=4.4$, 1H), 6.46 (br s, 3H), 7.23 (br s, 2H), 8.47 (s, 3H), 11.5 (br s, 1H). 20

25 Elemental analysis for $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{N}_7\text{O}_7\text{S} \cdot 2\text{HCl}$: calc'd: C, 36.89; H, 4.75; Cl, 14.52; N, 14.34; S, 6.57; found: C, 37.03; H, 4.74; Cl, 14.26; N, 14.24; S, 6.42.

32

EXAMPLE 2: 5-Amino-3-(5'-O-L-Isoleucyl-β-D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione 3/2 Hydrochloride (5)



Step 1: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-O-Isopropylidene-5'-N-tert

butoxycarbonyl-L-isoleucyl)-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione (6)

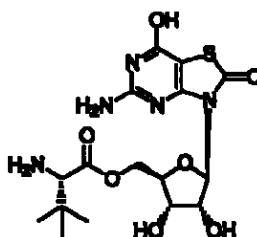
In a manner similar to step 2 of Example 1, 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropylidene-5'-N-tert-butoxycarbonyl-L-isoleucyl)-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione 6 was prepared in a yield of 93% from 5-

*Amino-3-(2',3'-O-isopropylidene-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione 2 and N-tert-butoxy-L-isoleucine 7 as an off-white foam: ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) δ 11.29 (s, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.0, 1H), 7.02 (br s, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.28 (d, *J* = 6.2, 1H), 5.06 (br s, 1H), 4.16-4.22 (m, 2H), 3.85 (dd, *J* = 8.0, 6.6, 1H), 1.68 (br s, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.34 (s, 9H), 1.29 (s, 3H), 0.71-0.89 (m, 5H).*

Step 2: Preparation of 5-Amino-3-(5'-O-L-Isoleucyl-β-D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione Dihydrochloride (5)

In a manner similar to Step 3 of Example 2 was prepared the title compound as a white solid from the above intermediate in an 80% yield: mp 173-174 °C (dec); ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) δ 11.41 (br s, 1H), 8.41 (br s, 3H), 7.15 (br s, 2H), 5.82 (d, *J* = 4.8, 1H), 4.50-5.00 (m, 2H), 4.40 (dd, *J* = 11.7, 3.3, 1H), 4.21-4.30 (m, 2H), 3.91-4.0 (m, 2H), 1.84-1.91 (m, 1H), 1.37-1.44 (m, 1H), 1.19-1.27 (m, 1H), 0.80-0.87 (m, 6H). Elemental analysis for C₁₆H₂₃N₅O₇S•3/2HCl: calc'd: C, 39.69; H, 5.10; N, 14.47; Cl, 10.98; S, 6.62; found: C, 39.05; H, 5.13; N, 13.73; Cl, 11.08; S, 6.02.

EXAMPLE 3: 5-Amino-3-(5'-O-[α -L-*tert*-butylglycyl]- β -D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-*d*]pyrimidine-2,7-dione Hydrochloride (8)



*Step 1: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropylidene-5'-N-*tert*-butoxycarbonyl-[α -L-*tert*-butylglycyl]- β -D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidine-2,7-dione (9)*

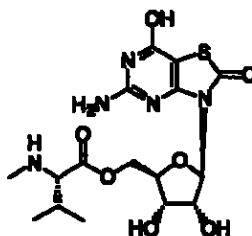
In a manner similar to Step 2 of Example 1, 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropylidene-5'-N-*tert*-butoxycarbonyl-[α -L-*tert*-butylglycyl]- β -D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidine-2,7-dione 10 was prepared in a yield of 66% from 5-Amino-3-(2,3-O-isopropylidene- β -D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidinone-2,7-dione 2 and N- α -L-*tert*-butoxyglycine as an off-white foam: ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) δ 11.28 (br s, 1H), 6.70-7.40 (m, 3H), 6.02 (s, 1H), 5.30 (d, *J* = 6.2, 1H), 5.05 (br s, 1H), 4.17-4.24 (m, 3 H), 3.77 (d, *J* = 8.4, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.33 (s, 9H), 1.29 (s, 3H), 0.85 (s, 9H).

*Step 2: Preparation of 5-Amino-3-(5'-O-[α -L-*tert*-butylglycyl]- β -D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidine-2,7-dione (8)*

In a manner similar to Step 3 of Example 1 was prepared the title compound 8 as a white solid from the above intermediate in an 80% yield: mp 202-203 °C (dec); ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) δ 11.35 (br s, 1H), 8.31 (br s, 3H), 7.08 (br s, 2H), 5.83 (d, *J* = 4.0, 1H), 5.45 (br s, 1H), 5.21 (br s, 1H), 4.77-4.82 (m, 1H), 4.42 (dd, *J* = 11.4, 2.6, 1H), 4.23-4.28 (m, 1H), 3.96-4.04 (m, 1H), 3.74 (s, 1H), 0.97 (s, 9H). Elemental analysis for C₁₆H₂₀N₅O₇S o HCl: calc'd: C, 41.25; H, 5.19; N, 15.03; Cl, 7.61; S, 6.88; found: C, 40.41; H, 5.41; N, 14.16; Cl, 7.01; S, 6.23.

34

Example 4: 5-Amino-3-(5'-O-[α -L-N-methylvalinyl]- β -D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione Hydrochloride (11)



Step 1: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropylidene-5'-N-tert-butoxycarbonyl-[α -L-N-methylvalinyl]- β -D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione (12)

In a manner similar to Step 2 of Example 1, 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropylidene-5'-N-tert-butoxycarbonyl-[α -L-N-methylvalinyl]- β -D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione 12 was prepared in a yield of 63% from 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropylidene- β -D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione 2 and N-tert-butoxy-L-N-methylvaline 13 as an off-white foam: ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) rotameric carbamate δ 11.28 (br s, 1H), 7.00 (br s, 2H), 6.02 (s, 1H), 5.27 (d, $J = 6.6$, 1H), 5.04 (br s, 1H), 4.14-4.28 (m, 3H), 3.91 (d, $J = 9.5$, 1H), 2.79 (br s, 3H), 2.09 (br s, 1H), 1.46 (s, 3H), 1.36 (s, 4.5H), 1.32 (s, 4.5H), 1.28 (s, 3H), 0.78-0.89 (m, 6H).

Step 2: 5-Amino-3-(5'-O-[α -L-N-methylvalinyl]- β -D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione hydrochloride (11)

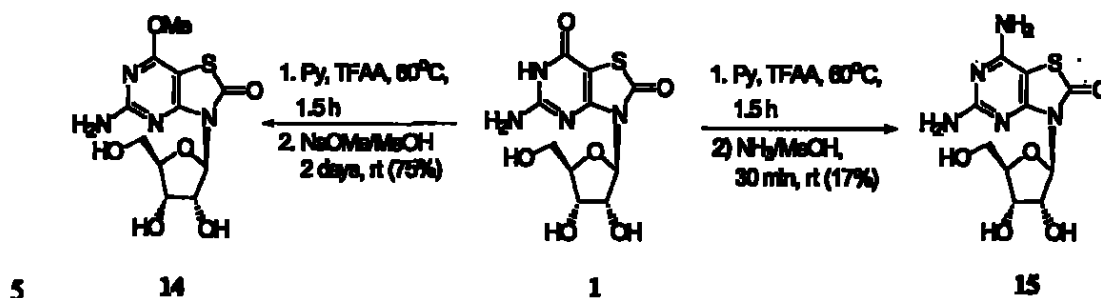
In a manner similar to Step 3 of Example 1 was prepared the title compound 11 as a slightly impure white solid from the above intermediate in an 60% yield: mp $>180^\circ\text{C}$ (dec); ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 11.31 (br s, 1H), 9.05 (br s, 2H), 7.05 (br s, 2H), 5.83 (d, $J = 4.4$, 1H), 5.46 (br s, 1H), 5.21 (br s, 1H), 4.76-4.82 (m, 1H), 4.42-4.48 (m, 1H), 4.28-4.38 (m, 1H), 4.22-4.28 (m, 1H), 3.94-4.04 (m, 2H), 2.54 (br s, 3H), 2.23 (br s, 1H), 0.98 (d, $J = 7.0$, 3H), 0.88 (d, $J = 7.0$, 3H).

Elemental analysis for $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}$ o HCl: calc'd: C, 41.25; H, 5.02; N, 15.03; S, 6.88; Cl, 7.61; found: C, 40.57; H, 5.37; N, 13.57; S, 6.16; Cl, 7.29.

35

Scheme 2

Scheme 2 shows a general procedure for preparing 5-Amino-7-methoxy-3- β -D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-ones and 5,7-Diamino-3- β -D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-ones.



Example 5: 5-Amino-3- β -D-ribofuranosyl-7-methoxy-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (14)

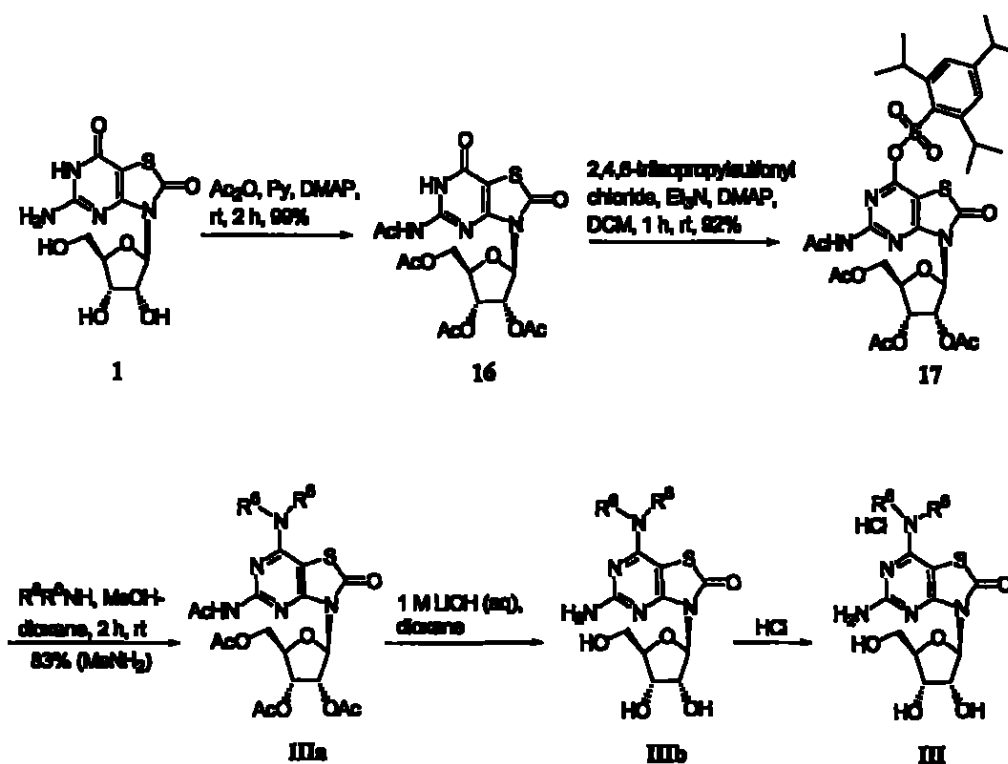
Anhydrous 1 (2.0 g, 6.3 mmol) was dissolved in dry pyridine under an argon atmosphere. The solution was cooled to 0 °C, whereupon TFAA (13.3 g, 63 mmol) was added dropwise to the mixture. After five minutes, the reaction was placed in a 60 °C oil bath for 1.5 h, and was monitored by TLC (SiO₂, 20% MeOH-CHCl₃) for the formation of the pyridinium cation. The 0.2 R_f starting material was converted to a baseline spot that underwent blue fluorescence upon exposure to 254 nm UV light. Upon conversion to the activated intermediate, freshly made sodium methoxide (1.8 g Na, 78 mmol, 300 ml methanol) solution was added to the reaction at 0 °C. The reaction was allowed to warm to room temperature and progress for two days. The mixture was then quenched with 1M NH₄Cl (100 mL), and extracted with a 25% IPA-CHCl₃ (5 x 100 mL). The crude material was filtered through a silica gel plug, and then concentrated to afford 1.6 g (75%) of the title compound 14. An analytical sample was obtained by preparative TLC (SiO₂; water, methanol, ethyl acetate, 5:10:85) as a white solid: mp > 160 °C (dec); [M+H]⁺ 330.9, [2M+H]⁺ 661.1, [3M+H]⁺ 991.0; R_f = 0.6 (20% MeOH-CHCl₃); mp 200.4°C-200.9°C; ¹H NMR (400MHz, *d*₆-DMSO) δ 6.92 (s, 2H), 5.86 (d, *J* = 5.2, 1H), 5.28 (d, *J* = 5.6, 1H), 4.96 (d, *J* = 5.2, 1H), 4.78 (dd, *J* = 10.8, 5.6, 1H), 4.67 (t, *J* = 6.0, 1H), 4.07-4.10 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.70-3.80 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.40-3.45 (m, 1H). Elemental Analysis for C₁₁H₁₄N₄O₆S: calc'd: C, 40.00; H, 4.27; N, 16.96; S, 9.71; found: C, 40.07; H, 4.43; N, 16.71; S, 9.53.



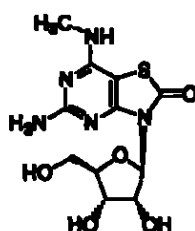
Example 6: 5,7-Diamino-3- β -D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (15)

Anhydrous **1** (0.3 g, 0.9 mmol) was dissolved in dry pyridine under an argon atmosphere. The solution was cooled to 0 °C, then TFAA (1.2 mL, 9.5 mmol) was added dropwise to the mixture. After five minutes, the reaction was placed in a 60 °C oil bath for 1.5 h, and was monitored by TLC (20% MeOH-CHCl₃) for the formation of the pyridinium cation. The 0.2 R_f starting material was converted to a baseline spot that underwent blue fluorescence upon exposure to 254 nm UV light. Upon conversion to the activated intermediate, the reaction flask was placed in an ice bath. After allowing the temperature to equilibrate, 30% aqueous NH₃ (25 mL) was added dropwise until cessation of exotherm, and the remainder was added. Within a few minutes, the product formed as indicated by analytical TLC R_f 0.25 (SiO₂, 20% MeOH-CHCl₃). The flask was warmed to room temperature over 30 min, then the aqueous solution was degassed under rotary vacuum then extracted with 25% IPA-CHCl₃ (5 x 100 mL). The product was submitted to flash chromatography (SiO₂, 10% MeOH-CHCl₃), yielding 55 mg (17%) of slightly impure title compound **15**. An analytical sample was obtained by preparative TLC (SiO₂; water-MeOH- EtOAc, 5:10:85) as a white solid: mp > 155 °C (dec); [M+H]⁺ 316.0; R_f = 0.25 (SiO₂, 20% MeOH-CHCl₃); ¹H NMR (400MHz, d₆-DMSO) δ 6.76 (s, 2H), 6.14(s, 2H), 5.85 (d, J = 5.2, 1H), 5.22 (d, J = 4.8, 1H), 4.92 (d, J = 2.8, 1H), 4.70-4.83 (m, 2H), 4.05-4.10 (m, 1H), 3.65-3.80 (m, 1H), 3.52-3.62 (m, 1H) 3.40-3.50 (m, 1H). Elemental Analysis for C₁₀H₁₃N₅O₅S • ½ H₂O: calc'd: C, 37.03; H, 4.35; N, 21.59; S, 9.89; found: C, 37.27; H, 4.32; N, 20.43; S, 10.11.

Scheme 3



Example 7: 5-Amino-7-Methylamino-3- β -D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (18)



Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7(6H)-dione (16)

10 Anhydrous **1** (8.0 g, 39.5 mmol) was dissolved in dry pyridine (65 mL). DMAP (3.1 g, 25.3 mmol) and acetic anhydride (19.1 mL 202.4 mmol) were added sequentially. The reaction was allowed to progress for 2 h at room temperature, whereupon it was quenched with saturated NaHCO_3 (100 mL) and extracted with DCM (3 x 200 mL). The organic phase was concentrated, and then triturated with

15 ether. This provided 12.5 g (103%) of slightly impure 5-acetylamino-3-(2,3,5-tri-O-

38

acetyl- β -D-ribofuranosyl)thiazolo-[4,5-d]pyrimidin-2,7(6H)-dione as a white solid
16: mp 246.7-248.1 °C; R_f = 0.20 (SiO₂, 50% EtOAc-CHCl₃); ¹H NMR (400MHz, *d*₆-DMSO) δ 12.23 (s, 1H), 11.85 (s, 1H), 5.97 (m, 2H), 5.48 (t, *J* = 6, 1H), 4.35-4.40 (m, 1H), 4.25-4.31 (m, 1H), 4.08-4.18 (m, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 2.00 (s, 3H).

Step 2: Preparation of 5-Acetylamino-7-(2,4,6-triisopropyl-benzenesulfonyloxy)-3-(2,3,5-tri-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (17)

The intermediate from Step 1 above (500 mg, 0.98 mmol) was dissolved in DCM (15 mL) at ambient temperature. DMAP (7.3 mg, 0.06 mmol), and TEA (16 ml, 11 mmol) were added to the solution, followed by 2,4,6-triisopropylbenzenesulfonyl chloride (454 mg, 1.5 mmol). After 1 h the reaction had gone to completion, the crude mixture was concentrated, and then purified by flash chromatography (SiO₂, 10% EtOAc-CHCl₃), affording 690 mg (92%) of 5-acetylamino-7-(2,4,6-triisopropyl-benzenesulfonyloxy)-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one as a foaming white solid 17: 74.5-76.3 °C; R_f = 0.7 (SiO₂, 20% EtOAc-CHCl₃); ¹H (400MHz, *d*₆-DMSO) δ 10.83 (s, 1H), 7.39 (s, 2H), 6.03 (d, *J* = 4.0, 1H), 5.91-5.96 (m, 1H), 5.69 (t, *J* = 6.4, 1H), 4.30-4.70 (m, 1H), 4.22-4.26 (m, 1H), 4.16-4.20 (m, 1H), 3.90-4.00 (m, 2H), 2.97-3.01 (m, 1H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.88 (s, 3H), 1.17-1.25 (m, 18H).

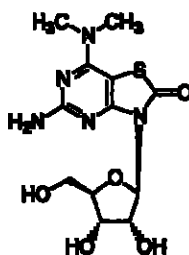
Step 3: Preparation of 5-Acetylamino-7-methylamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (19)

The intermediate from Step 2 above (1.7 g, 2.27 mmol) was dissolved in dioxane (20 mL) at ambient temperature. Added to this was a 2.0 M solution of methylamine (3.4 mL, 6.8 mmol) in methanol. After 2 h the starting material was consumed. The reaction mixture concentrated, and then purified by flash chromatography (SiO₂, gradient elution, 20-80% EtOAc-CHCl₃), affording 945 mg (83%) of pure title compound as a yellow oil: [M+H]⁺ 498.2, [2M+H]⁺ 995.4; R_f = 0.55 (10% CH₃OH-CHCl₃); ¹H NMR (400MHz, *d*₆-DMSO) δ 10.13 (s, 1H), 7.70 (d, *J* = 4.41, 1H), 5.95-6.02 (m, 2H), 5.69 (s, 1H), 4.35-4.39 (m, 1H), 4.16-4.23 (m, 2H), 2.90 (d, *J* = 4.8, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.00 (s, 3H).

Step 4: Preparation of 5-Amino-7-Methylamino-3- β -D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (18)

- The intermediate from step 3 above (420 mg, 0.85 mmol) was dissolved in dioxane (4 mL), and 1 M LiOH (8.5 mL, 8.5 mmol) was added to the solution. The *O*-acetyl groups were removed within 40 min to give a intermediate at $R_f = 0.15$ (SiO₂, 5% MeOH-EtOAc). After 2 h the *N*-acetyl was removed as indicated by TLC
- 5 $R_f = 0.20$ (SiO₂, 5% MeOH-EtOAc). The reaction mixture was neutralized with stoichiometric acetic acid, extracted with 25% IPA-CHCl₃, and then concentrated to afford 195 mg (70%) of 18. An analytical sample of the title compound 18 was obtained by preparative TLC (SiO₂; water-MeOH-EtOAc, 10:20:70) as a white solid: $[M+H]^+$ 330.0; $R_f = 0.20$ (5% MeOH-EtOAc); mp > 108 °C; ¹H NMR
- 10 (400MHz, *d*₆-DMSO) δ 7.06 (d, *J* = 3.6, 1H), 6.24 (s, 2H), 5.85 (d, *J* = 5.2, 1H), 5.22 (d, *J* = 4.8, 1H), 4.93 (d, *J* = 5.2, 1H), 4.70-4.80 (m, 2H), 4.07 (d, *J* = 4.8, 1H), 3.75 (d, *J* = 4.4, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.40-3.50 (m, 1H), 2.82 (d, *J* = 4.4, 3H).

- Example 8: 5-Amino-7-dimethylamino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-**
- 15 **d]pyrimidin-2-one (20)**



Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-dimethylamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one

- In a manner similar to Example 7, step 2, 5-acetylamino-7-dimethylamino-3-
- 20 (2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one was generated in an 80% yield as a yellow oil: M^+ 511.14; $R_f = 0.70$ (SiO₂, 10% MeOH-CHCl₃); ¹H NMR (400MHz, *d*₆-DMSO) δ 10.15 (s, 1H), 6.10-6.15 (m, 1H), 5.98-6.09 (m, 1H), 5.5.66-5.70 (m, 1H), 4.35-4.40 (m, 1H), 4.22-4.27 (m, 1H), 4.14-4.08 (m, 1H), 3.18 (s, 6H), 2.19 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.99 (s, 3H).

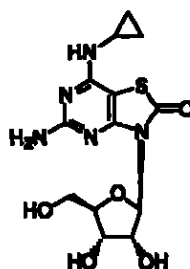
- 25 *Step 2: Preparation of 5-Amino-7-dimethylamino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (20)*

In a manner similar to Example 7, step 3, the title compound 20 was generated in 82% yield. An analytical sample was obtained by preparative TLC

40

(SiO₂; water-MeOH-EtOAc, 10:20:70) as a white solid: [M+H]⁺ 344.0; [2M+H]⁺ 687.4; mp > 112 °C; R_f = 0.20 (5% MeOH-EtOAc); ¹H NMR (400MHz, d₆-DMSO) δ 6.27 (s, 2H), 5.91 (d, J = 4.8, 1H), 5.22 (d, J = 6.0, 1H), 4.93 (d, J = 5.2, 1H), 4.71-4.76 (m, 2H), 4.07-4.09 (m, 1H), 3.7-3.8 (m, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.09 (s, 6H). Elemental analysis for C₁₂H₁₇N₅O₅S: calc'd: C, 41.98; H, 4.99; N, 20.40; found: C, 41.32; H, 5.14; N, 18.59.

Example 9: 5-Amino-7-cyclopropylamino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one monohydrochloride salt (21)



10

Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-cyclopropylamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one

In a manner similar to Example 3, step 2, 5-acetylamino-7-cyclopropylamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one was generated in 80% yield as a yellow oil: R_f = 0.45 (SiO₂, 75% EtOAc-CHCl₃); ¹H NMR (400MHz, d₆-DMSO) δ 10.11 (s, 1H), 7.87 (d, J = 2.8, 1H), 5.98-6.01 (m, 1H), 5.70-5.76 (s, 1H), 4.32-4.39 (m, 1H), 4.16-4.30 (m, 2H), 3.85 (s, 1H), 2.87 (s, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 0.73-0.76 (m, 2H), 0.57-0.60 (m, 2H).

Step 2: Preparation of 5-Amino-7-cyclopropylamino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one

In a manner similar to Example 7, step 3, 5-amino-7-cyclopropylamino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one was generated in 79% yield. An analytical sample was obtained by preparative TLC (SiO₂; water-MeOH-EtOAc, 10:20:70) as a white solid: R_f = 0.20 (5% MeOH-EtOAc); mp > 100 °C; [M+H]⁺ 356.0; ¹H (400MHz, d₆-DMSO) δ 7.24 (s, 1H), 6.28 (s, 2H), 5.86 (d, J = 5.6, 1H), 5.22 (d, J = 6, 1H), 4.92 (d, J = 5.2, 1H), 4.70-4.80 (m, 2H), 4.05-4.10 (m, 1H), 3.7-

25

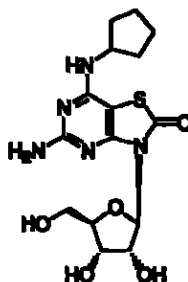
41

3.8 (m, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.45-3.50 (m, 1H), 2.8 (s, 1H), 0.68-0.70 (m, 2H), 0.54-0.57 (m, 2H).

Step 3: Preparation of 5-Amino-7-cyclopropylamino-3- β -D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one hydrochloride salt (21)

- 5 The title compound was prepared by addition of the solid material prepared in step 2 above to vigorously stirring 4 M HCl in dioxane, affording the title compound as a white solid: mp > 99 °C; ¹H NMR (400MHz, *d*₆-DMSO) δ 7.25 (d, 1H, *J* = 2.8, 1H), 6.23 (s, 2H), 5.87 (d, *J* = 5.2, 1H), 5.21 (bs, 1H), 4.98 (bs, 1H), 4.73-4.79 (m, 2H), 4.09 (t, *J* = 5.6, 1H), 3.72-3.79 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.45-
10 3.37 (m, 1H), 2.75-2.82 (m, 1H), 0.72-0.79 (m, 2H), 0.55-0.63 (m, 2H). Elemental analysis for C₁₃H₁₇N₅O₅S·HCl: calc'd: C, 39.85; H, 4.63; N, 17.87; Cl, 9.05; found: C, 39.66; H, 4.85; N, 16.57; Cl, 8.13.

15 **Example 10: 5-Amino-7-cyclopentylamino-3- β -D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (22)**



Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-pyrrolidino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one

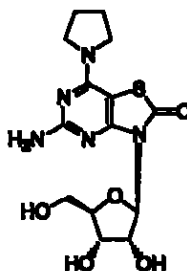
- 20 In a manner similar to Example 7, step 2, 5-acetylamino-7-pyrrolidino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one was generated in 70% yield. An analytical sample was obtained via preparative TLC (SiO₂; water-MeOH-EtOAc, 10:20:70) as a white solid: mp > 108 °C (dec); R_f = 0.80 (10% water and 20% methanol in ethyl acetate); [M+H]⁺ 384.0; ¹H NMR (400MHz, *d*₆-DMSO) δ 7.00 (d, *J* = 7.2, 1H), 6.17 (s, 2H), 5.18 (d, *J* = 5.2, 1H),
25 5.21 (d, *J* = 5.6, 1H), 4.92 (d, *J* = 5.6, 1H), 4.74-4.80 (m, 2H), 4.30-4.35 (m, 1H), 4.05-4.10 (m, 1H), 3.70-3.80 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.30-3.45 (m, 1H), 1.40-2.0 (m, 8H).

372

Step 2: Preparation of 5-Amino-7-cyclopentylamino-3- β -D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one

In a manner similar to Example 7, step 3, the title compound 22 was generated in 70% yield. An analytical sample was obtained via preparative TLC (SiO₂; water-MeOH-EtOAc, 10:20:70) as a white solid: mp > 108 °C (dec); R_f = 0.80 (10% water and 20% methanol in ethyl acetate); [M+H]⁺ 384.0; ¹H NMR (400MHz, d₆-DMSO) δ 7.00 (d, J = 7.2, 1H), 6.17 (s, 2H), 5.18 (d, J = 5.2, 1H), 5.21 (d, J = 5.6, 1H), 4.92 (d, J = 5.6, 1H), 4.74-4.80 (m, 2H), 4.30-4.35 (m, 1H), 4.05-4.10 (m, 1H), 3.70-3.80 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.30-3.45 (m, 1H), 1.40-2.0 (m, 8H).

Example 11: 5-Amino-7-pyrrolidino-3- β -D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (23)



Step 1): Preparation of 5-Acetylamino-7-pyrrolidino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one

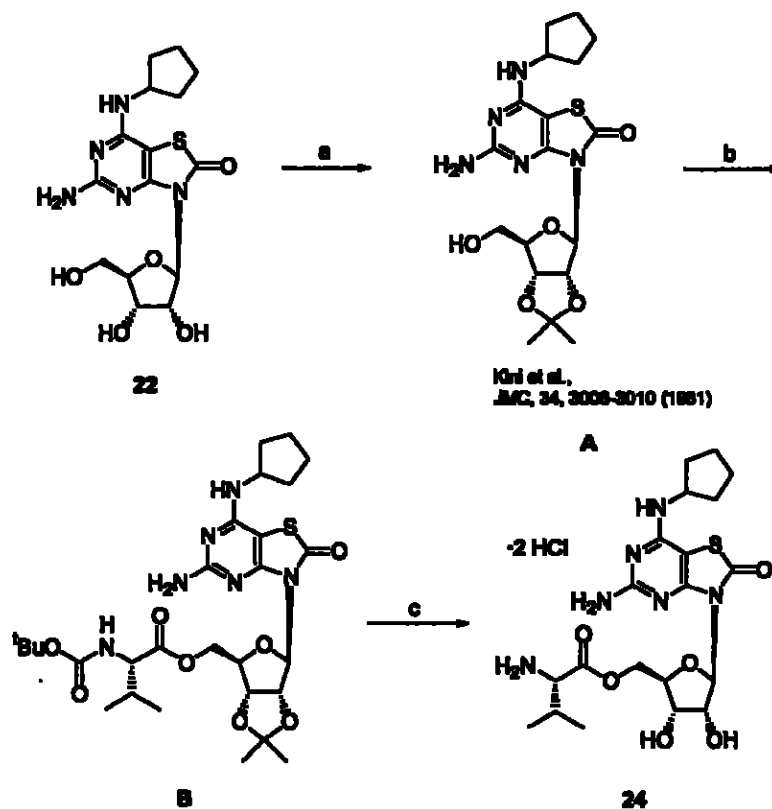
In a manner similar to Example 7, step 2, 5-acetylamino-7-pyrrolidino-3-(2,3,5-tri-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one was generated in 79% yield as a yellow oil: [M+H]⁺ 538.1; R_f = 0.80 (SiO₂, water-MeOH-EtOAc, 10:20:70); ¹H (400MHz, d₆-DMSO) δ 10.04 (s, 1H), 5.97-6.02 (m, 2H), 5.68 (s, 1H), 4.38 (dd, J = 11.6, 3.6, 1H), 4.15-4.23 (m, 2H), 3.58 (s, 4H), 2.23 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.89 (s, 4H).

Step 2: Preparation of 5-Amino-7-pyrrolidino-3- β -D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one

In a manner similar to Example 7, step 3, the title compound 23 was generated in 81% yield. An analytical sample was obtained via preparative TLC (SiO₂; water-MeOH-EtOAc, 10:20:70) as a white solid: mp > 112.4 °C (dec); [M+H]⁺ 370.3; ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 6.22 (s, 2H), 5.90 (d, J = 4.8, 1H),

5.23 (d, $J=5.2$, 1H), 4.94 (d, $J=4.4$, 1H), 4.68–4.75 (m, 2H), 4.08 (d, $J=4.8$, 1H), 3.71–3.76 (m, 1H), 3.55 (bs, 5H), 3.38–3.54 (m, 1H), 1.87 (s, 4H).

Scheme 4



a) 2,2-dimethoxypropane, acetone, DMSO, MeSO_3H , 0 °C

b) BOC-L-valine, EDC, DMAP, PhMe, 0 °C - rt

c) anh. HCl, *i*PrOAc, *i*PrOH

5

Example 12: 5-Amino-7-cyclopentylamino-3-(5'-O-L-vallyl)-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one Hydrochloride (24)

With vigorous stirring, intermediate B is dissolved in a solution of anhydrous hydrogen chloride in isopropyl acetate at 0 °C and allowed to warm to room temperature. To the heterogeneous mixture is added additional isopropyl acetate. The reaction mixture is stirred for an additional 12 h. Toluene is added and the product is filtered and dried under vacuum to yield the desired di-HCl salt 24.

The intermediates are prepared as follows:

5-Amino-7-cyclopentylamino-3-(2',3'-O-isopropylidene-β-D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (A)

15

44
✓

Compound A is prepared according to the procedure of Kini et al., by stirring a mixture of 5-amino-7-cyclopentylamino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyrimidine-2-one 22 with acetone, DMSO, methanesulfonic acid and an excess of dimethoxypropane at 0 °C until starting material is consumed. The reaction mixture is added to ice water and neutralized to pH 7 with saturated NaHCO₃ and extracted with EtOAc. The organic layer is concentrated and subjected to column chromatography on silica providing the 2',3'-protected diol product.

5-Amino-7-cyclopentylamino-3-(5'-O-(N-(tert-butoxycarbonyl)-L-valinyl)-2',3'-O-isopropylidene-β-D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2-one (B)

To a solution of 1.0 equivalents of *N*-(tert-butoxycarbonyl)-L-valine in THF at 0 °C is added 1.1 equivalents of EDC. After stirring for 30 min. 1.0 equivalent of 5-amino-7-cyclopentyl-3-(2',3'-O-isopropylidene-β-D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2-one, A, and 1.5 equivalents DMAP are added. The reaction mixture is warmed to room temperature and allowed to stir for 5 h, and concentrated. The residue is dissolved in EtOAc, partitioned with 1 N HCl, and neutralized with saturated aqueous NaHCO₃ (10 mL). The aqueous phase is further extracted with EtOAc. The combined organic phases are dried over Na₂SO₄, filtered, and evaporated under vacuum to give intermediate B that is purified by column chromatography on silica.

BIOLOGICAL TESTING

The ability of compounds of Formula I to demonstrate favorable oral delivery characteristics and to induce immune responses when administered by a selected route was readily demonstrated in experiments in mice and beagle dogs. The results of such measurements for compounds of Formula I can be compared with the results of similar experiments with compounds described in the literature referenced in the present disclosure (e.g., U.S. Patent Nos. 5,041,426 and 4,880,784) to reveal the advantages of Formula I compounds with respect to pharmacokinetic and pharmacodynamic properties.

Interferon Alpha (Mu-IFN-α) Concentrations in Mice

The normal mouse provides a useful system for the assessment of the degree to which the inventions described herein provide material improvement in the oral delivery of 1 (isatoribine). Not only can one measure the plasma concentrations of isatoribine arising from oral administration of the said prodrug(s) but also the

45

extensive immunological research conducted in the mouse has provided reagents suitable for measuring the levels of interferon alpha, a cytokine of interest reflecting one of the desired biologic activities of isatoribine.

We have used the murine system in a series of experiments that demonstrate that 3, the 5'-valine ester of 1 (val-isatoribine) elicits an interferon response substantially improved over that resulting from administration of isatoribine itself.

Table 1 records the results of an assay for murine interferon alpha in the plasma of mice that were dosed two times with isatoribine, formulated in bicarbonate, at a level of 50 mg/kg by the oral route. It is evident that no interferon was measurable even when the dose was repeated after an interval of four hours.

Table 1
Interferon Alpha (Mu-IFN-α) Plasma Concentration (pg/mL) in Mice Following Two Oral 50 mg/kg Doses of Isatoribine 4 Hours Apart

Time, h	Individual Value			Mean	SD
First Dose					
0.00	BQL ²⁰	BQL ¹²⁵	BQL ²⁰	0.00	0.00
0.03	BQL ²⁵	BQL ²⁵⁰	BQL ²⁵	0.00	0.00
0.08	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
0.25	BQL ²⁰	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
0.50	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
1.00	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
1.50	BQL ¹⁰⁰	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
2.00	BQL ²⁵	BQL ⁷⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
3.00	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.00	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
Second Dose					
4.03	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.08	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.25	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.50	BQL ²⁰	BQL ^{37.5}	BQL ²⁰	0.00	0.00
5.00	BQL ²⁰	BQL ²⁰	BQL ²⁰	0.00	0.00
5.50	BQL ^{37.5}	BQL ^{37.5}	BQL ^{37.5}	0.00	0.00
6.00	BQL ²⁰	BQL ^{41.5}	BQL ^{37.5}	0.00	0.00
7.00	BQL ²⁰	BQL ²⁰	BQL ²⁰	0.00	0.00
8.00	BQL ²⁰	BQL ²⁵	BQL ²⁰	0.00	0.00

BQL^a - Below Elevated Quantifiable Limit < a pg/mL.

Table 2 records the results of assays for murine interferon alpha in the plasma of mice that first were dosed with bicarbonate and then four hours later were dosed orally with isatoribine, formulated in bicarbonate, at a level of 50 mg/kg. Interferon was reported in the plasma from four mice, including two that had received the bicarbonate vehicle dose. All the values reported in this experiment were low, and the reported interferon levels were not consistently reported for all three mice assessed at each time point, suggesting that these signals may be artifacts arising from measurement near the lower limits of the assay.

Table 2

Interferon Alpha (Mu-IFN-α) Plasma Concentration (pg/mL) in Mice Following One Vehicle Dose and One 50 mg/kg Doses of Isatoribine 4 Hours Later

Time, h	Individual Values			Mean	SD
First Dose					
0.00	BQL ⁵⁰	BQL ¹⁰⁰	BQL ^{62.5}	0.00	0.00
0.03	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ^{37.5}	0.00	0.00
0.08	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	0.00	0.00
0.25	BQL ⁵⁰	BQL ^{62.5}	BQL ⁵⁰	0.00	0.00
0.50	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	0.00	0.00
1.00	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ¹⁰⁰	0.00	0.00
1.50	BQL ⁵⁰	BQL ¹⁰⁰	BQL ⁵⁰	0.00	0.00
2.00	34.9	BQL ²⁵	BQL ²⁵	11.6	20.15
3.00	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.00	BQL ²⁵	35.4	BQL ¹⁰⁰	11.8	20.44
Second Dose					
4.03	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.08	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.25	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.50	BQL ¹⁰⁰	BQL ²⁵	133.2	44.4	76.90
5.00	74.9	BQL ⁵⁰	NR	37.5	52.96
5.50	BQL ²⁵⁰	BQL ⁷⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
6.00	BQL ²⁵	BQL ⁷⁵	BQL ⁷⁵	0.00	0.00
7.00	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ²⁵	0.00	0.00
8.00	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00

BQL^a - Below Elevated Quantifiable Limit < a pg/mL.
NR - Not reportable.

2
47

Table 3 records the results of assays for murine interferon alpha in the plasma of mice that were dosed orally with val-isatoribine, dissolved in bicarbonate, at a dose that is equivalent to 50/mg/kg of isatoribine on a molar basis. It is evident that interferon was readily measurable at 1.0 hour, 1.5 hours, and 2.0 hours after dosing. Interferon was detected in all mice assayed at a given time point, indicating the reliability of the effect following val-isatoribine administration. Thus a single administration of val-isatoribine was superior to either a single dose or a repeated dose of isatoribine.

Table 3

10 **Plasma Concentration (pg/mL) of Interferon Alpha (Mu-IFN-α) in Mice Following a Single 73.0 mg/kg Dose of Val-Isatoribine**

Time, h	Individual Values			Mean	SD
0.00	BQL	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
0.25	BQL	BQL	BQL	0.00	0.00
0.50	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL	0.00	0.00
0.75	BQL	BQL	BQL ²⁵	0.00	0.00
1.00	173.2	125.1	89.0	129.1	42.24
1.50	202.9	145.9	294.8	214.5	75.13
2.00	49.2	137.9	138.3	108.5	51.33
3.00	BQL ²⁵	NR	NR	0.00	0.00
4.00	BQL ²⁵	27.6	BQL	9.20	15.90
5.00	BQL	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00

BQL - Below the Quantifiable Limit < 12.5 pg/mL
BQL²⁵ - Below the Elevated Quantifiable Limit < n pg/mL
NR - Not Reportable

15 The data tabulated in Tables 1, 2, and 3 may be also considered from the point of view of the incidence of measurable interferon levels. Interferon was detected in the plasma of only 4 of the 114 mice used in the studies of isatoribine, whereas 10 of the 30 mice dosed with val-isatoribine had detectable interferon in their plasma. Thus, the prodrug increased the proportion of mice exhibiting an interferon response from 4% to 30 % and the magnitude of both the average and peak response was increased twofold.

25 In other experiments, plasma levels of isatoribine and interferon alpha were measured in mice that were dosed with isatoribine by the intravenous route, and these levels were compared to the levels of isatoribine and interferon alpha arising

after oral administration of val- isatoribine. These data are summarized in Figure 1. In this figure it is evident that the levels of interferon alpha induced by oral val-isatoribine ("val-isator") (at 50mg/kg isatoribine molar equivalent) was similar to that from intravenous isatoribine ("isator") at 25 mg/kg. Thus, oral val-isatoribine provides levels of isatoribine and interferon that are approximately 50% of those observed after intravenous administration of isatoribine itself.

Beagle Dog

The effect of a prodrug (val-isatoribine, 3) on the systemic exposure to isatoribine (1) after oral administration to beagle dogs was investigated. Isatoribine was prepared in sodium bicarbonate solution. Val-isatoribine and isatoribine were prepared as the following formulations, which were chosen to ensure solubility:

Formulation 1: Isatoribine in sodium bicarbonate solution, 1 and 4 mg/mL.

Formulation 2: Val-isatoribine in phosphate buffered saline, 1.62 and 6.48 mg/mL, equivalent to 1 and 4 mg/mL of isatoribine on a molar basis.

Four male and four female adult beagle dogs weighing between 15 to 27 kg and approximately 1-2 years old were used at the beginning of the study. The animals were divided into 2 groups of 2 males and 2 females each. The test material was administered by gavage on Days 1 and 8, allowing a 7-day washout period between administrations. Blood samples (2 mL) were collected from each animal at predose, 15, 30 minutes, 1, 2, 3, 4, 6, 8 and 10 hours into lithium heparin tubes after each dosing. The plasma was frozen at -70 °C until analysis. The plasma was analyzed for isatoribine by an HPLC-MS/MS assay.

The pharmacokinetic parameters for isatoribine arising from isatoribine or val-isatoribine in each dog are summarized in Tables 4 and 5. The ratios for the key pharmacokinetic parameters defining the maximum concentration (C_{max}) and total exposure as measured by the area under the time-concentration curve (AUC) for the prodrug and the bicarbonate solution at the 50 mg/kg dose are summarized in Table 6. For the prodrug 3, the C_{max} ratio was 2.98 ± 0.695 and the AUC ratio was 2.38 ± 0.485 . These results indicate that at 50 mg/kg dose, the prodrug val-isatoribine provided substantially higher C_{max} and greater bioavailability than isatoribine in bicarbonate solution.

The ratios for the C_{max} and AUC for the prodrug to the bicarbonate solution for the 10 mg/kg dose are summarized in Table 7. For the prodrug, the C_{max} ratio

P249

was 2.24 ± 0.249 and the AUC ratio was 1.82 ± 0.529 . These results indicate that at 10 mg/kg dose, the prodrug val-isatoribine provided higher C_{max} and greater bioavailability than isatoribine in bicarbonate solution.

Thus, the maximum concentrations of isatoribine achieved after oral dosing are at least doubled, and the systemic exposure to isatoribine is enhanced by approximately 2-fold following oral administration of the prodrug val-isatoribine, compared to isatoribine itself, at both 10 and 50 mg/kg dose.

Table 4

10 Pharmacokinetic Parameters of Isatoribine in Dogs dosed at 50 mg/kg

Animal Number	Dosing Period		1	2
	Formulation		Isatoribine	Val-isatoribine
	Dose, mg/kg molar equivalent isatoribine		50	50
Dog 3517322	C _{max} , ng/mL		3038.7	11741.5
	T _{max} , h		0.50	0.50
	AUC(0-inf), ng-h/mL		15227.0	33038.1
	T _{1/2} , h		6.4	2.4
Dog 3521451	C _{max} , ng/mL		3354.0	10652.1
	T _{max} , h		1.00	1.00
	AUC(0-inf), ng-h/mL		9422.2	26552.7
	T _{1/2} , h		1.9	1.6
Dog 3528707	C _{max} , ng/mL		8915.3	20340.6
	T _{max} , h		0.50	0.50
	AUC(0-inf), ng-h/mL		29701.7	53273.0
	T _{1/2} , h		2.2	2.3
Dog 3532828	C _{max} , ng/mL		6134.7	15987.9
	T _{max} , h		0.50	0.50
	AUC(0-inf), ng-h/mL		12069.7	32987.0
	T _{1/2} , h		1.4	1.6

150

Table 5
Pharmacokinetic Parameters of Isatoribine in Dogs Dosed at 10 mg/kg

Animal Number	Dosing Period		1	2
	Formulation		Isatoribine	Val-isatoribine
	Dose, mg/kg molar equivalent isatoribine		10	10
Dog 3524523	C _{max} , ng/mL		4091.5	8594.6
	T _{max} , h		1.00	0.50
	AUC(0-inf), ng·h/mL		13305.8	17166.2
	T _{1/2} , h		2.1	1.7
Dog 3526402	C _{max} , ng/mL		1859.5	4047.0
	T _{max} , h		1.00	1.00
	AUC(0-inf), ng·h/mL		5774.4	10548.9
	T _{1/2} , h		1.6	2.2
Dog 357450	C _{max} , ng/mL		1620.3	4228.7
	T _{max} , h		0.50	1.00
	AUC(0-inf), ng·h/mL		4387.3	11158.0
	T _{1/2} , h		1.5	2.3
Dog 354708	C _{max} , ng/mL		2781.2	5784.8
	T _{max} , h		0.50	0.50
	AUC(0-inf), ng·h/mL		7522.1	12259.1
	T _{1/2} , h		1.6	2.0

51
1/2

Table 6
Ratio of Pharmacokinetic Parameters of Isatoribine in Dogs Dosed at 50 mg/kg

Animal Number	Formulation	Isatoribine	Val- isatoribine
Dog 3517322	C _{max} Ratio	1.00	3.86
	AUC Ratio	1.00	2.17
Dog 3521451	C _{max} Ratio	1.00	3.18
	AUC Ratio	1.00	2.82
Dog 3528707	C _{max} Ratio	1.00	2.28
	AUC Ratio	1.00	1.79
Dog 3532828	C _{max} Ratio	1.00	2.61
	AUC Ratio	1.00	2.73
	Mean C _{max} Ratio	N/A	2.98
	SD C _{max} Ratio	N/A	0.695
	Mean AUC Ratio	N/A	2.38
	SD AUC Ratio	N/A	0.485

52

Table 7
Ratio of Pharmacokinetic Parameters of Isatoribine in Dogs Dosed at 10 mg/kg

Animal Number	Formulation	Isatoribine	Val- isatoribine
Dog 3524523	C _{max} Ratio	1.00	2.10
	AUC Ratio	1.00	1.29
Dog 3526402	C _{max} Ratio	1.00	2.18
	AUC Ratio	1.00	2.20
Dog 3527450	C _{max} Ratio	1.00	2.61
	AUC Ratio	1.00	2.54
Dog 355708	C _{max} Ratio	1.00	2.08
	AUC Ratio	1.00	1.63
	Mean C _{max} Ratio	N/A	2.24
	SD C _{max} Ratio	N/A	0.249
	Mean AUC Ratio	N/A	1.82
	SD AUC Ratio	N/A	0.529

- 5 The prodrug is preferred for several reasons. First, the prodrug is easily formulated to provide a high proportion of active agent. This results in small capsule sizes for a given dose, which is an advantage for an oral product. Second, the prodrugs offer the prospect of masking the active structure as the agent passes through lymphoid tissue lining the gut, which should minimize activation of this
- 10 tissue and thereby improve oral tolerability. Finally, at the doses tested, val-isatoribine provides plasma levels of isatoribine that are well within the range desirable for biologic effect after oral administration, which is not the case for isatoribine itself.

24/53

The exemplary compounds described above may be formulated into pharmaceutical compositions according to the following general examples.

Example 1: Parenteral Composition

To prepare a parenteral pharmaceutical composition suitable for administration by injection, 100 mg of a water-soluble salt of a compound of the Formula I is dissolved in DMSO and then mixed with 10 mL of 0.9% sterile saline. The mixture is incorporated into a dosage unit form suitable for administration by injection.

Example 2: Oral Composition

To prepare a pharmaceutical composition for oral delivery, 100 mg of a compound of Formula I is mixed with 750 mg of lactose. The mixture is incorporated into an oral dosage unit for, such as a hard gelatin capsule, which is suitable for oral administration.

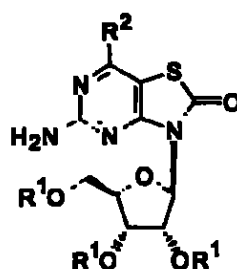
It is to be understood that the foregoing description is exemplary and explanatory in nature, and is intended to illustrate the invention and its preferred embodiments. Through routine experimentation, the artisan will recognize apparent modifications and variations that may be made without departing from the spirit of the invention. Thus, the invention is intended to be defined not by the above description, but by the following claims and their equivalents.

20

54

What is claimed is:

1. A compound represented by Formula I:

**I**

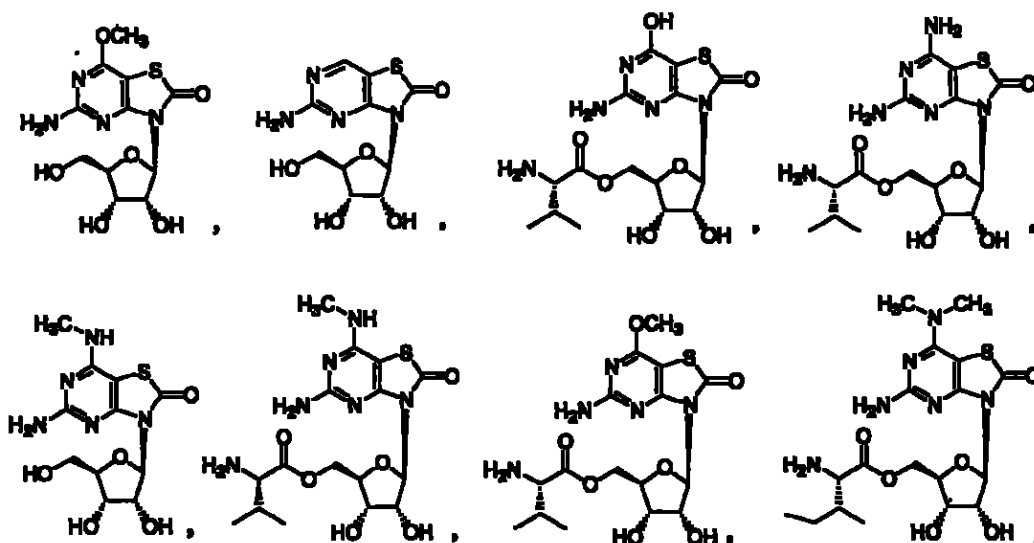
wherein:

- 5 R^1 is independently H, $-C(O)R^3$, or a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CHNH_2R^4$, wherein R^3 is a substituted or unsubstituted alkyl, and R^4 is H, or a substituted or unsubstituted alkyl;
- R^2 is H, OR^5 , or $N(R^6)_2$, wherein R^5 is independently H or alkyl, and wherein R^6 is independently H, substituted or unsubstituted alkyl, cycloalkyl, or together
- 10 with nitrogen forms a substituted or unsubstituted heterocycloalkyl ring; and
- wherein if R^2 is $-OH$, at least one of the R^1 groups is a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CHNH_2R^4$;
- or a pharmaceutically acceptable salt.
- 15 2. The compound or pharmaceutically acceptable salt according to claim 1, wherein at least one of the R^1 groups is a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CHNH_2R^4$, wherein R^4 is a substituted or unsubstituted alkyl, and wherein the remaining R^1 groups are H; R^2 is OR^5 or $N(R^6)_2$, wherein R^5 is independently
- 20 selected from H or alkyl, and wherein R^6 is independently H, substituted or unsubstituted alkyl, cycloalkyl, or together with nitrogen forms a substituted or unsubstituted heterocycloalkyl ring.
3. The compound or pharmaceutically acceptable salt according to claim 2, wherein at least one of the R^1 groups is a L- amino acid group $-C(O)CHNH_2R^4$,
- 25 wherein R^4 is a substituted or unsubstituted alkyl, and wherein the remaining R^1 groups are H; R^2 is OR^5 or $N(R^6)_2$, wherein R^5 is a substituted alkyl, and wherein R^6 is independently H or substituted or unsubstituted alkyl.

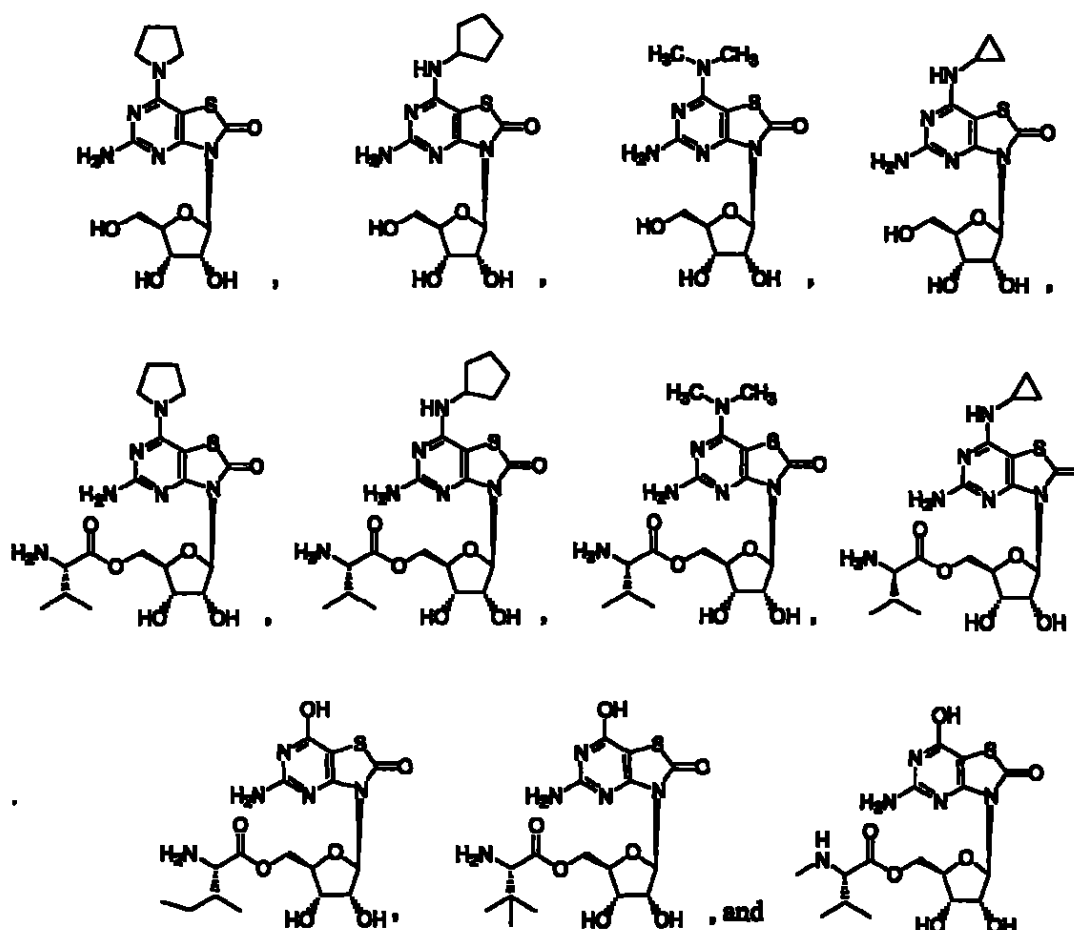
A55

4. The compound or pharmaceutically acceptable salt according to claim 3, wherein at least one of the R^1 groups is a L- amino acid group $-C(O)CHNH_2R^4$, wherein R^4 is $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, and wherein the remaining R^1 groups are H; and R^2 is
- 5 OH.

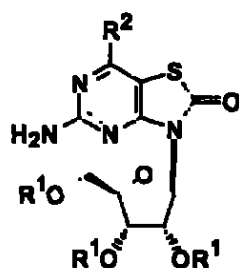
5. The compound or pharmaceutically acceptable salt according to claim 1, selected from the group consisting of:



56



6. A pharmaceutical composition comprising a pharmaceutically acceptable carrier and a compound represented by Formula I:



I

5

wherein:

R^1 is independently H , $-C(O)R^3$, or a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CHNH_2R^4$, wherein R^3 is a substituted or unsubstituted alkyl, and R^4 is H , or a substituted or unsubstituted alkyl;

R^2 is H, OR^5 , or $N(R^6)_2$, wherein R^5 is independently H or alkyl, and wherein R^6 is independently H, substituted or unsubstituted alkyl, cycloalkyl, or together with nitrogen forms a substituted or unsubstituted heterocycloalkyl ring; and

- 5 wherein if R^2 is $-OH$, at least one of the R^1 groups is a racemic, L-, or D-amino acid group $-C(O)CHNH_2R^4$;
or a pharmaceutically acceptable salt.

7. The pharmaceutical composition according to claim 6, wherein at least one of the R^1 groups is a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CHNH_2R^4$, wherein
10 R^4 is a substituted or unsubstituted alkyl, and wherein the remaining R^1 groups are H; R^2 is OR^5 or $N(R^6)_2$, wherein R^5 is independently selected from H or alkyl, and wherein R^6 is independently H, substituted or unsubstituted alkyl, cycloalkyl, or together with nitrogen forms a substituted or unsubstituted heterocycloalkyl ring.

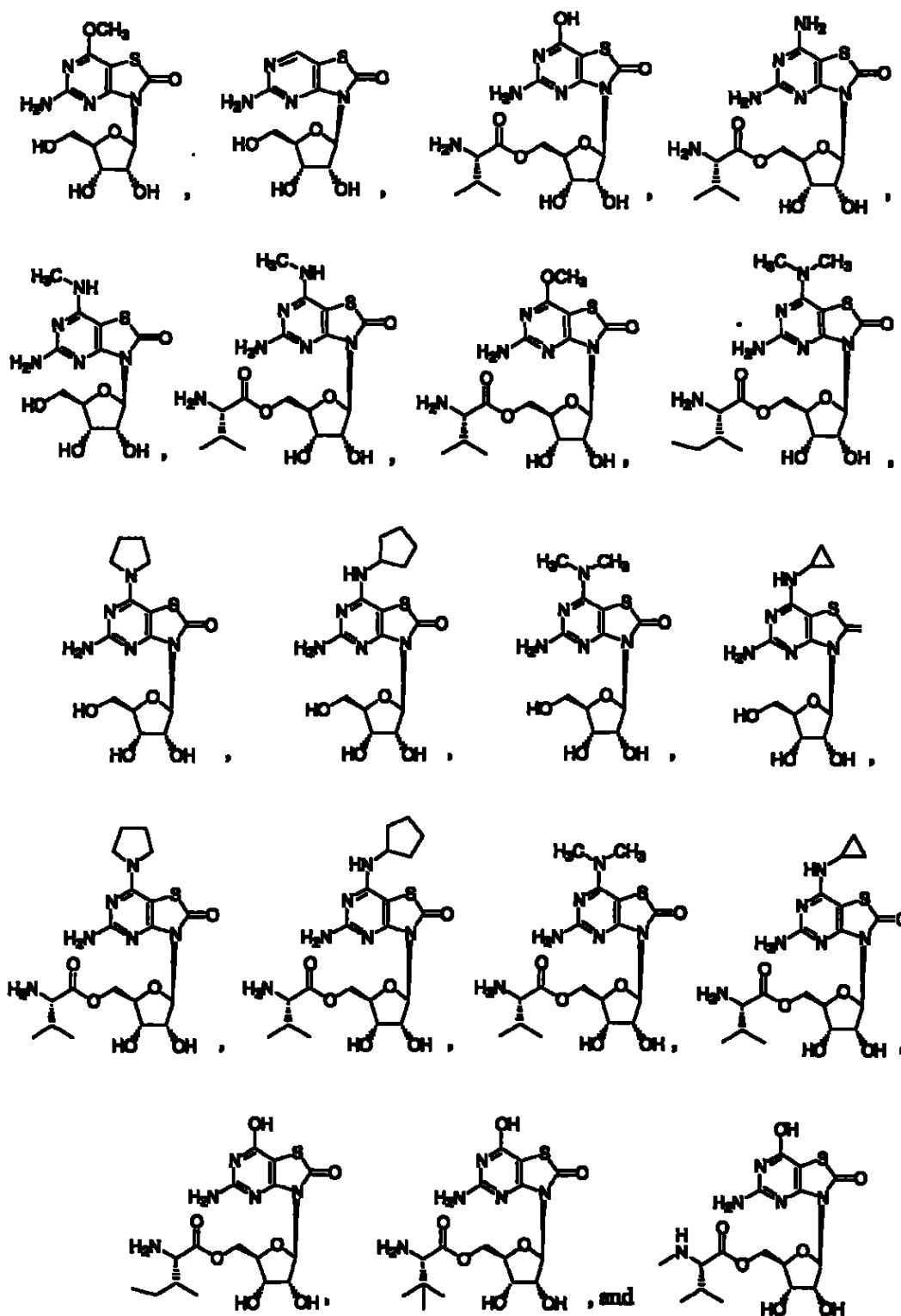
- 15 8. The pharmaceutical composition according to claim 7, wherein at least one of the R^1 groups is a L- amino acid group $-C(O)CHNH_2R^4$, wherein R^4 is a substituted or unsubstituted alkyl, and wherein the remaining R^1 groups are H; R^2 is OR^5 or $N(R^6)_2$; wherein R^4 is a substituted alkyl, and wherein R^6 is independently H or substituted or unsubstituted alkyl.

20

9. The pharmaceutical composition according to claim 8, wherein at least one of the R^1 groups is a L- amino acid group $-C(O)CHNH_2R^4$, wherein R^4 is $-CH(CH_3)_2$, and wherein the remaining R^1 groups are H; and R^2 is OH.

58

10. The pharmaceutical composition according to claim 6 that is selected from the group consisting of:



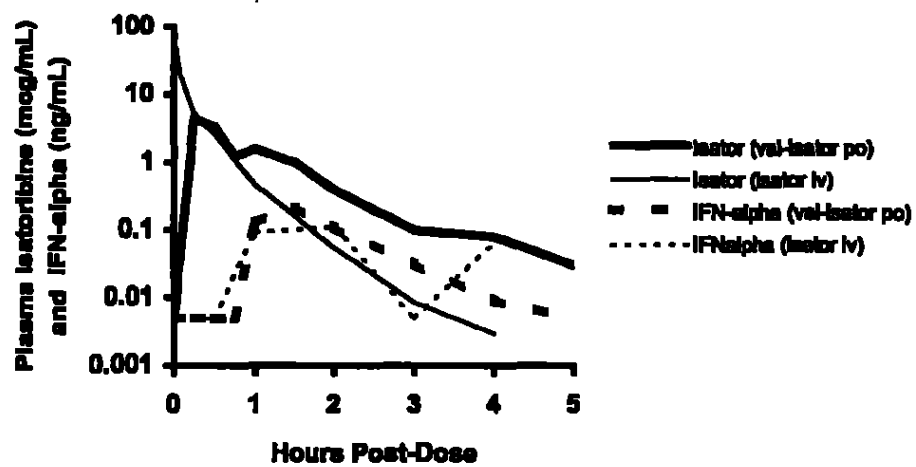
PSA

11. A method of modulating immune cytokine activities in a patient comprising:
providing a compound or pharmaceutically acceptable salt of formula I
according to claim 1; and
treating a patient in need thereof with the compound or pharmaceutically
5 acceptable salt.

60

FIG. 1

Murine Interferon-alpha Response
Isatoribine 25 mg/kg i.v. vs Val-Isatoribine 50 mg/kg p.o.



(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional

(43) Fecha de Publicación Internacional
5 de Junio de 2003 (05.06.2003)

PCT

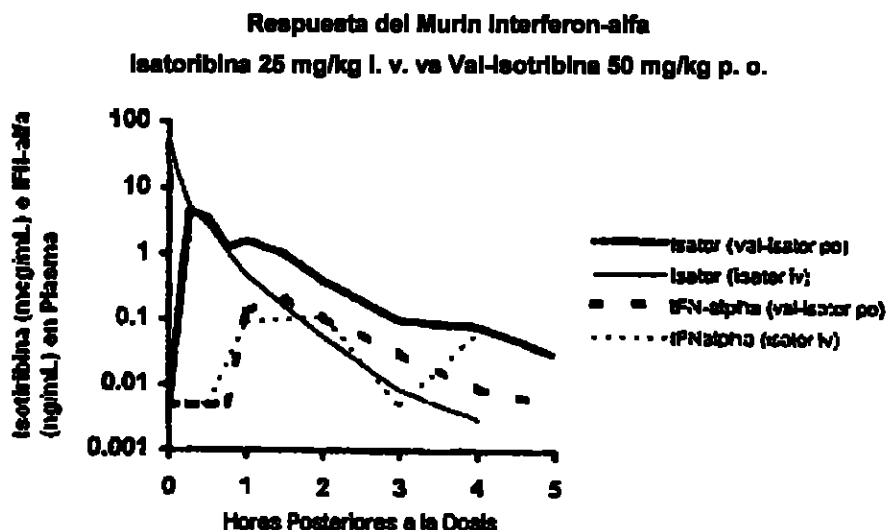
(10) Número de Publicación Internacional
WO 03/045968 A1

- (51) Clasificación Internacional de Patentes: C07H 18/24, A61K 31/7052, A61P 37/02 (74) Apoderado: DEIGNAULT, Ronald, A.; Merchant & Gould P.C., P. O. Box 2803, Minneapolis, MN 55402-0903 (US)
- (21) Numero de Solicitud Internacional: PCT/US02/38001
- (22) Fecha de Entrega Internacional: 27 de Noviembre de 2002 (27.11.2002) (81) Estados Designados (nacional): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FIM GB, GD, GE, GH, GM, HR, HY, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UAM UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (25) Lenguaje de entrega: Inglés
- (26) Lenguaje de Publicación: Inglés
- (30) Datos de la Prioridad: 60/333,460
27 de Noviembre de 2001 (27.11.2001) US
- (71) Solicitante por: ANADYS PHARMACEUTICALS, INC [US/US]; 9050 Camino Santa Fe, San Diego, CA 92121 (US) (84) Estados Designados (regional): patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Patente Euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Patente europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), Patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (72) Inventores: AVERETT, Devron, R.: 2529 Newport Avenue, Cardiff by the Sea, CA 92007 (US). WEBBER, Stephen, E.: 3531 Millikin Avenue, San Diego, CA 92122 (US)
- Publicado:

Con el informe de búsqueda internacional.

[Continúa en la siguiente página]

(54) Título: NUCLEOSIDOS 3- β -D-RIBOFURANOSILTIAZOL[4,5-d]PIRIMIDINA Y SUS USOS



(57) Resumen: La invención está dirigida a nucleósidos 3- β -D-ribofuranosiltiazol[4,5-d]pirimidina y a composiciones farmacéuticas que contienen tales compuestos que tienen actividad inmunomodulatoria. La invención también está dirigida al uso terapéutico o profiláctico de tales compuestos y composiciones, y a métodos para tratar enfermedades y desordenes aquí descritos, administrando cantidades efectivas de tales compuestos.

WO 03/045968 A1

Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas, referirse a "Las Notas de Lineamientos sobre Códigos y Abreviaturas" que aparecen al comienzo de cada edición regular de la Gaceta del PCT.

62

X
063

NUCLEÓSIDOS 3- β -D-RIBOFURANOSILTIAZOL[4,5- d]PIRIDIMINA Y SUS USOS

Esta solicitud se presenta como una solicitud internacional de patente
5 PCT a nombre de Devron R. Averett y Pasohen E. Webber, ambos
ciudadanos de y residentes en Estados Unidos, el 27 de noviembre de 2002,
designando todos los países a excepción de Estados Unidos.

CAMPO DE LA INVENCION

10 La invención se refiere a nucleósidos 3- β -D-ribofuranosiltiazol[4,5-
d]piridimina y composiciones farmacéuticas conteniendo estos compuestos
que poseen una actividad inmunomoduladora. La invención también se
refiere al uso terapéutico o profiláctico de estos compuestos y
composiciones, y a los métodos para tratar las enfermedades y los
15 desórdenes aquí descritos por medio de la administración de unas cantidades
efectivas de estos compuestos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Durante las últimas décadas se han dedicado grandes esfuerzos a la
20 exploración de posibles usos terapéuticos de los nucleósidos análogos D
y L-purina. Actualmente se está comercializando un gran número de
nucleósidos análogos como fármacos antivirales, incluyendo los
inhibidores de transcriptasa inversa de VIH (AZT, ddI, ddC, d4T, y
3TC).

25 Igualmente se ha explorado una variedad de nucleósidos análogos
D y L-purina en busca de inmunomoduladores. Por ejemplo, se ha visto
que los análogos de guanosina que tienen radicales en las posiciones 7 y /
u 8 estimulan el sistema inmune. *Consultar* Reitz y colaboradores, *J. Med.*
Chem., 37, 3561-78 (1994); Michael y colaboradores, *J. Med.*
30 *Chem.*, 36, 3431-36 (1993). En otra investigación, la Patente de Estados
Unidos No. 5,821,236 a Krenitsky y colaboradores revela derivados 6-
alcoxi de arabinofuranosilpurina útiles en el tratamiento de tumores.

✓ 64

Igualmente en la Patente de Estados Unidos No. 5,539,098 a Krenitsky y colaboradores, se encuentran reportados los inhibidores del virus de la varicela zoster, incluyendo 5'-O-propionilo y 5'-O-butilo ésteres de 2-amino-6-metoxi-9-(β -D-arabinofuranosil)-9H-purina. Se ha visto que la

5 7-Deazaguanosina y sus análogos han exhibido una actividad antiviral en ratones contra una variedad de virus en el ARN, aunque el compuesto carece de propiedades antivirales en el cultivo de células. Igualmente los nucleósidos y los nucleótidos 3-Deazaguanina han exhibido un amplio y significativo espectro de actividades antivirales contra ciertos

10 virus en el ADN y en el ARN. Revankar y colaboradores, *J. Med. Chem.*, 27, 1489-96 (1984). Ciertos nucleósidos 7 y 9 deazaguanina C-exhiben una capacidad de protección contra una provocación letal del virus de Semliki Forest. Girgis y colaboradores, *J. Med. Chem.*, 33, 2750-55 (1990). La patente de Estados Unidos No. 4,328,336 a Robins y

15 colaboradores revela nucleósidos de purina seleccionados 6-sulfenamida y 6-sulfnamida que mostraron una significativa actividad antineoplásica.

En la Patente de Estados Unidos No. 5,041,542 a Robins y colaboradores se revela que ciertos nucleósidos pirímido[4,5- α]piridimina son efectivos para el tratamiento contra L1210 en BDF1 en

20 ratones. Se sugirió que estos nucleósidos en particular fueron el resultado de su rol como inmunomoduladores. Consultar Bonnet y colaboradores, *J. Med. Chem.*, 36, 635-53 (1993). Igualmente Wang y colaboradores (Publicación Internacional WIPO No. WO 98/16184) reporta que los compuestos L-nucleósido de purina y sus análogos se

25 emplearon para tratar una infección, una infestación, un neoplasma, una enfermedad autoinmune o para modular aspectos del sistema inmune. Adicionalmente las 3- β -D-ribofuranosiltiazol[4,5- α]piridiminas que exhibieron una inmunoactividad significativa, incluyendo la proliferación de células murinas del bazo y la actividad *in vivo* contra el virus de

30 Semliki Forest, se divulgan en las Patentes de Estados Unidos Nos. 5,041,426 y 4,880,784 a Robins y colaboradores.

65

Un posible blanco de la inmunomodulación comprende la estimulación o la supresión de las linfocinas Th1 y Th2. Las células de Tipo 1 (Th1) producen interleucinas 2 (IL-2), factor de necrosis de tumor (TNF α) e interferona gamma (IFN γ) y esencialmente son las responsables de la inmunidad mediada por las células como la hipersensibilidad de tipo retardada y la inmunidad de los antivirales. Las células de Tipo 2 (Th2) producen interleucinas, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, e IL-13 y esencialmente su tarea consiste en apoyar las respuestas leucémicas murinas como las que se aprecian en la respuesta a los alérgenos. Consultar por ejemplo, Mosmann, *Annu. Rev. Immunol.*, 7, 145-73 (1989). Se ha visto que los análogos D-guanosina generan varios efectos sobre las linfocinas IL-1, IL-6, INF α y TNF α (indirectamente) *in vitro* (Goodman, *Int. J. Immunofarmacol.*, 10, 579-88 (1988); Patente de Estados Unidos No. 4,746,651 a Goodman) e *in vivo* (Smee y colaboradores, *Antivirales Res.*, 15, 229 (1991); Smee y colaboradores, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33, 1487-92 (1989)). Sin embargo, la capacidad de los análogos de la D-guanosina como 7- tio-8-oxoguanosina para modular las citocinas Tipo 1 o Tipo 2 directamente en las células T fue ineficaz o no se describió.

Además se sabe que la administración oral de muchos análogos nucleósidos de purina ocasiona dificultades debido a una absorción deficiente, a una solubilidad deficiente o a una degradación en el tracto digestivo como resultado de unas condiciones ácidas o alcalinas, o por la acción de enzimas y / o combinaciones de estos fenómenos. Por lo tanto aún persiste la necesidad de análogos de nucleósidos de purina con una mayor disponibilidad, tolerabilidad y de administración oral que aquellos que se emplean para modular los aspectos del sistema inmune.

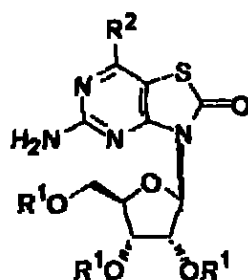
RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención aborda esta necesidad por medio del descubrimiento de nucleósidos 3- β -D-ribofuranosiltiazol[4,5- α]piridimina, profármacos farmacéuticamente aceptables, metabolitos

766

farmacéuticamente activos, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos (conjuntamente se hace referencia a dichos compuestos, profármacos, metabolitos y sales como "agentes") descritos a continuación, que son útiles como inmunomoduladores.

- 5 En un aspecto general, la invención se relaciona con compuestos de la Fórmula I:



I

donde:

- 10 R^1 es independientemente H, $-C(O)R^3$, o un racémico, un grupo amino ácido L o D $-C(O)CHNH_2R^4$, donde R^3 es un alquilo sustituido o sin sustituir, y R^4 es H, o un alquilo sustituido o sin sustituir;

- R^2 es H, OR^5 , o $N(R^6)_2$ donde R^5 es independientemente H o un alquilo, y donde R^6 es independientemente H, un alquilo, cicloalquilo
15 sustituido o sin sustituir, o conjuntamente con el nitrógeno forman un anillo heterocicloalquilo sustituido o sin sustituir; y

donde si R^2 es $-OH$, por lo menos uno de los grupos R^1 es un racémico, un grupo amino ácido L o D $-C(O)CHNH_2R^4$.

- En una incorporación preferida, la invención se relaciona con
20 compuestos de la Fórmula I, donde por lo menos uno de los grupos R^1 es un racémico, o un grupo amino ácido L o D $-C(O)CHNH_2R^4$, donde R^4 es un alquilo sustituido o sin sustituir, y donde los grupos restantes R^1 son H; R^2 es OR^5 o $N(R^6)_2$ donde R^5 se selecciona independientemente entre H o un alquilo, y donde R^6 es independientemente H, un alquilo, cicloalquilo
25 sustituido o sin sustituir, o conjuntamente con el nitrógeno forman un anillo heterocicloalquilo sustituido o sin sustituir.

67

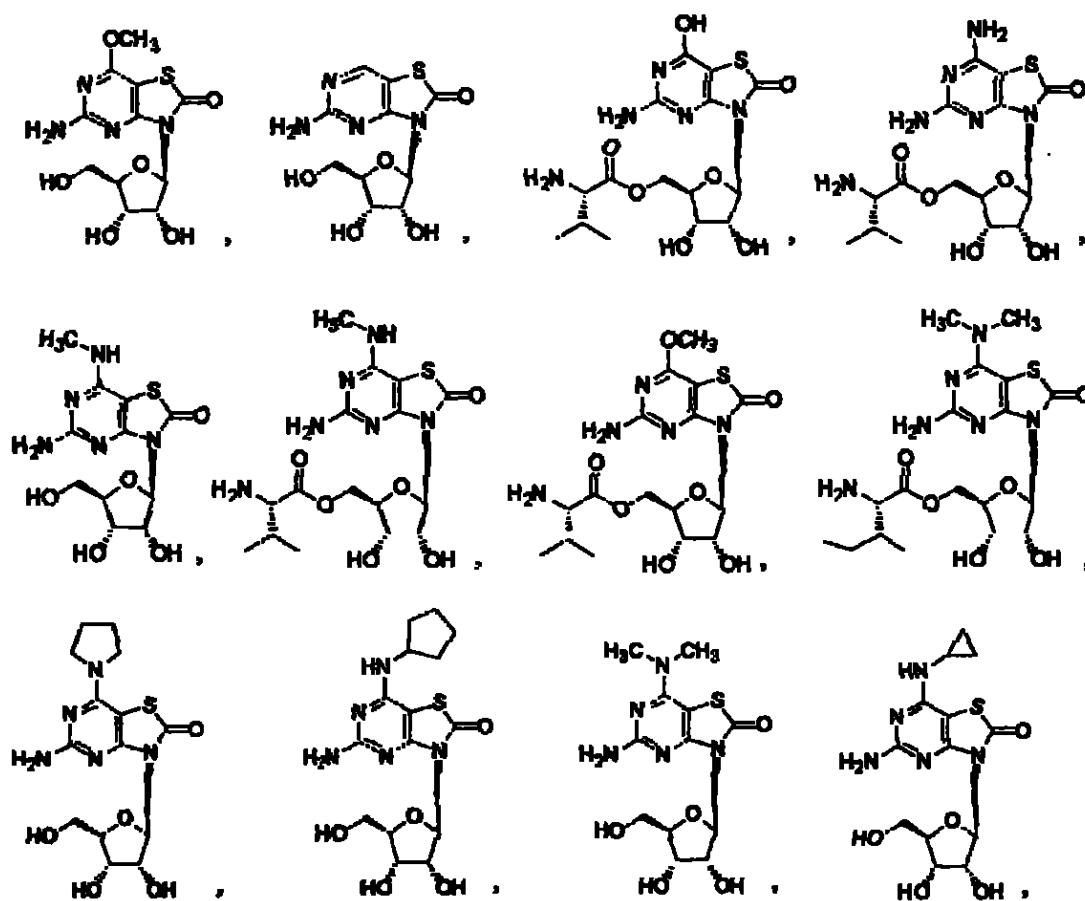
En otra incorporación preferida, la invención se relaciona con compuestos de la Fórmula I, donde por lo menos uno de los grupos R^1 es un grupo amino ácido $L-C(O)CHNH_2R^4$, donde R^4 es un alquilo sustituido o sin sustituir, y donde el resto de grupos R^1 son H; R^2 es OR^5 o $N(R^6)_2$, donde

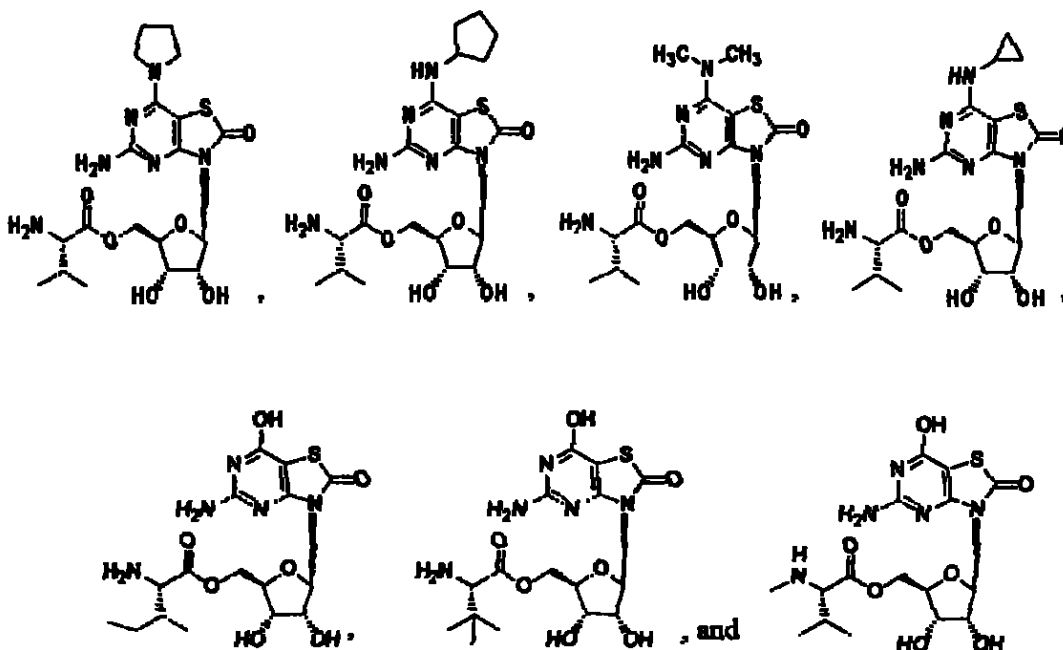
5 R^4 es un alquilo sustituido, y donde R^6 es independientemente H o un alquilo sustituido o sin sustituir.

Aún en otra incorporación preferida, la invención se relaciona con compuestos de la Fórmula I, donde por lo menos uno de los grupos R^1 es un grupo amino ácido $L-C(O)CHNH_2R^4$, donde R^4 es $-CH(CH_3)_2$, y donde el

10 resto de grupos R^1 son H; y R^2 es OH.

En otro aspecto de la invención, los compuestos de la invención se seleccionan entre:





5 La invención también se refiere a profármacos farmacéuticamente aceptables, a metabolitos farmacéuticamente activos y a sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos, profármacos, o metabolitos de la Fórmula I. Igualmente se describen unos métodos muy ventajosos para preparar los compuestos de la Fórmula I.

10 Los compuestos de la Fórmula I son útiles como intensificadores del sistema inmune y tienen ciertas propiedades del sistema inmune incluyendo la modulación, la mitogenia, el aumento, y /o la potenciación o son intermediarios de los compuestos que tienen estas propiedades. Se espera que los compuestos expresen unos efectos por lo menos en el

15 agresor natural, los macrófagos y las células linfáticas del sistema inmune de un anfitrión. A causa de estas propiedades son útiles como agentes antivirales y neoplásicos o como intermediarios de agentes antivirales y neoplásicos. Se pueden emplear para tratar un anfitrión afectado al servir como ingredientes activos de composiciones

20 farmacéuticas apropiadas.

En un aspecto de la invención, se utilizan los compuestos de la Fórmula I para tratar toda la gama de enfermedades virales de los mamíferos administrándole al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de los compuestos. Las enfermedades virales contempladas para ser tratadas con

69

los compuestos de la Fórmula I incluyen infecciones agudas y crónicas causadas por virus tanto en el ARN como en el ADN. Sin limitar de manera alguna el rango de las infecciones virales que se pueden tratar, los compuestos de la Fórmula I son particularmente útiles para el tratamiento de

5 infecciones causadas por adenovirus, citomegalovirus, el virus de la hepatitis A (VHA), el virus de la hepatitis B (VHB), flavivirus incluyendo el virus de la fiebre amarilla y el virus de la hepatitis C (VHC), el herpes simple tipo 1 y 2, herpes zoster, herpesvirus humano 6, virus de inmunodeficiencia humana (VIH), virus del papiloma humano (VPH), virus

10 de la influenza A, virus de la influenza B, sarampión, virus de la parainfluenza, poliovirus, los virus de la viruela (incluyendo el virus de viruela y el de la Viruela de los Simios), rinovirus, virus respiratorio sincitial (VRS), múltiples familias de virus que causan fiebres hemorrágicas, incluyendo los Arenaviruses (LCM, virus Junin, virus

15 Machup, virus Guanarito y Fiebre de Lassa), los Bunyaviruses (virus de Hanta, Fiebre del Valle de Rift) y Filoviruses (virus de Ébola y Marburg), un rango de encefalitis virales incluyendo el virus del Oeste del Nilo, el virus de LaCrosse, el virus de la Encefalitis de California, el virus de la Encefalitis Equina de Venezuela, el virus de la Encefalitis Equina del

20 Oriente, el virus de la Encefalitis Equina del Occidente, el virus de la Encefalitis Japonesa, el virus de Kysanur Forest y los virus causados por las garrapatas como el virus de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo.

En otro aspecto de la invención, los compuestos de la Fórmula I se utilizan para tratar infecciones bacteriales, micóticas y protozoarias de

25 los mamíferos administrando una cantidad terapéuticamente efectiva de los compuestos al mamífero. Se contempla que se puede tratar todo el rango de microorganismos patógenos con los compuestos de la presente invención, incluyendo sin limitación a todos los organismos resistentes a los antibióticos. La capacidad de los compuestos de la Fórmula I de

30 activar múltiples componentes del sistema inmune no se ve afectada por los mecanismos de resistencia que se ha descubierto que comúnmente reducen la susceptibilidad a los antibióticos, y así el tratamiento de

70

infecciones en mamíferos causadas por estos microorganismos resistentes con los compuestos de la Fórmula I es un uso particular de la presente invención.

En otro aspecto de la invención, se utilizan los compuestos de la Fórmula I para tratar tumores en los mamíferos administrando a los mamíferos una cantidad terapéuticamente efectiva de los compuestos. Los tumores o cánceres que se contempla que pueden tratar incluyen aquellos causados por virus, y el efecto puede incluir inhibir la transformación de las células infectadas con el virus a un estado neoplásico inhibiendo la propagación de los virus de las células transformadas a otras células normales y / o deteniendo el crecimiento de las células transformadas por el virus. Se espera que los compuestos de la Fórmula I sean útiles para un amplio espectro de tumores incluyendo pero no limitado a carcinomas, sarcomas y leucemias. En esta clase se incluyen carcinomas mamarios, de colon, vejiga, pulmón, próstata y páncreas y las leucemias de linfoblastos y mieloides.

En otro aspecto de la invención, un método para tratar un mamífero que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente y / o profilácticamente efectiva de un farmacéutico conteniendo un compuesto de la invención. En este aspecto, el efecto se puede relacionar con la modulación de una porción del sistema inmune del mamífero, especialmente la modulación de las actividades citocinas de Th1 y Th2, incluyendo pero no restringido a la familia de las interleucinas por ejemplo, IL-1 hasta IL-12, y otras citocinas como alfa TNF e interferonas incluyendo interferona alfa, interferona teta e interferona gamma, y sus efectores corriente abajo. Cuando se presenta una modulación de las citocinas Th1 y Th2 se contempla que la modulación puede comprender la estimulación tanto de Th1 como de Th2, la supresión de Th1 y de Th2, la estimulación de Th1 o de Th2 y la supresión del otro, o una modulación bimodal en la cual un efecto en los niveles Th1/Th2 (como una supresión generalizada) ocurre a una alta

71

concentración, mientras que otro efecto (como la estimulación de Th1 o de Th2 y la supresión del otro) sucede a una menor concentración.

En otro aspecto de la invención, las composiciones farmacéuticas conteniendo un compuesto de la Fórmula I se administran en una dosis terapéuticamente efectiva a un mamífero que está recibiendo unos fármacos antiinfectivos no incluidos en la Fórmula I. En un aspecto preferido de esta invención, se administran las composiciones farmacéuticas conteniendo un compuesto de la Fórmula I en una dosis terapéuticamente efectiva con un(os) fármaco(s) antiinfectivo(s) que actúa(n) directamente sobre el agente infeccioso para inhibir el crecimiento o para destruir el agente infeccioso.

En un aspecto preferido de la invención, una composición farmacéutica comprendiendo una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I provee una disponibilidad oral mayor y mejorada como inmunomodulador. En otro aspecto preferido de la invención, una composición farmacéutica comprendiendo una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I permite enmascarar la estructura activa a medida que el agente pasa por el tejido linfático que recubre el estómago minimizando así la activación de este tejido y permitiendo una mayor tolerabilidad oral.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIAGRAMAS

La Figura 1 es una representación de isatoribina y alfa interferona en los niveles plasma de los ratones.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION E INCORPORACIONES PREFERIDAS

Donde se emplean los siguientes términos en esta especificación, se utilizan como se definen a continuación:

Los términos "comprendiendo" e "incluyendo" se utilizan en la presente en su sentido abierto y no limitante.

El término "nucleósido" hace referencia a un compuesto conformado por cualquier porción de pentosa o de pentosa modificada adherida a una posición específica de un heterociclo o a la posición natural de una purina (posición 9) o de una pirimidina (posición 1) o a la posición equivalente en un análogo.

El término "purina" se refiere a heterociclos nitrogenados bicíclicos.

El término "pirimidina" se refiere a heterociclos nitrogenados monocíclicos.

El término "D-nucleósidos" hace referencia a compuestos nucleósidos que tienen una porción de azúcar D-ribosa (por ejemplo Adenosina).

El término "L-nucleósidos" hace referencia a los compuestos nucleósidos que tienen una porción de azúcar L-ribosa.

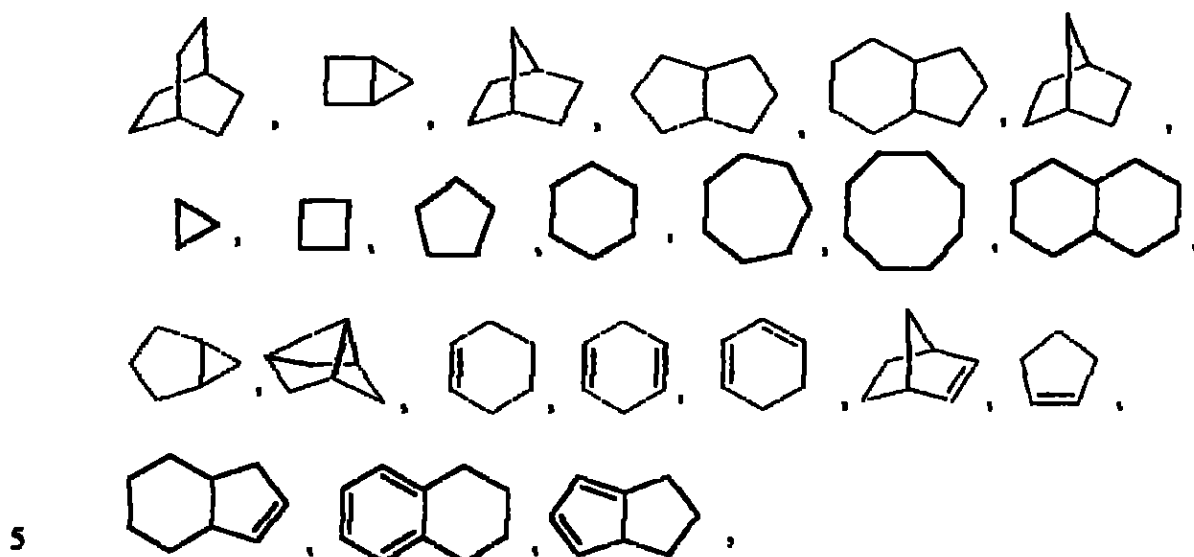
El término "alquilo" como se utiliza en la presente hace referencia a un grupo alquilo de cadena recta o ramificada teniendo entre uno y doce átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo (Me, que también se puede representar en forma estructural como "CH₃"), etilo (Et), n-propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, tert-butilo (tBu), pentilo, isopentilo, tert-pentilo, hexilo, isohexilo, y similares.

El término "alcoxi" hace referencia a -O-alquilo. Los ejemplos ilustrativos incluyen metoxi, etoxi, propoxi y similares.

El término "halógeno" representa cloruro, flúor, bromo o iodo. El término "halo" representa cloro, flúor, bromo o iodo.

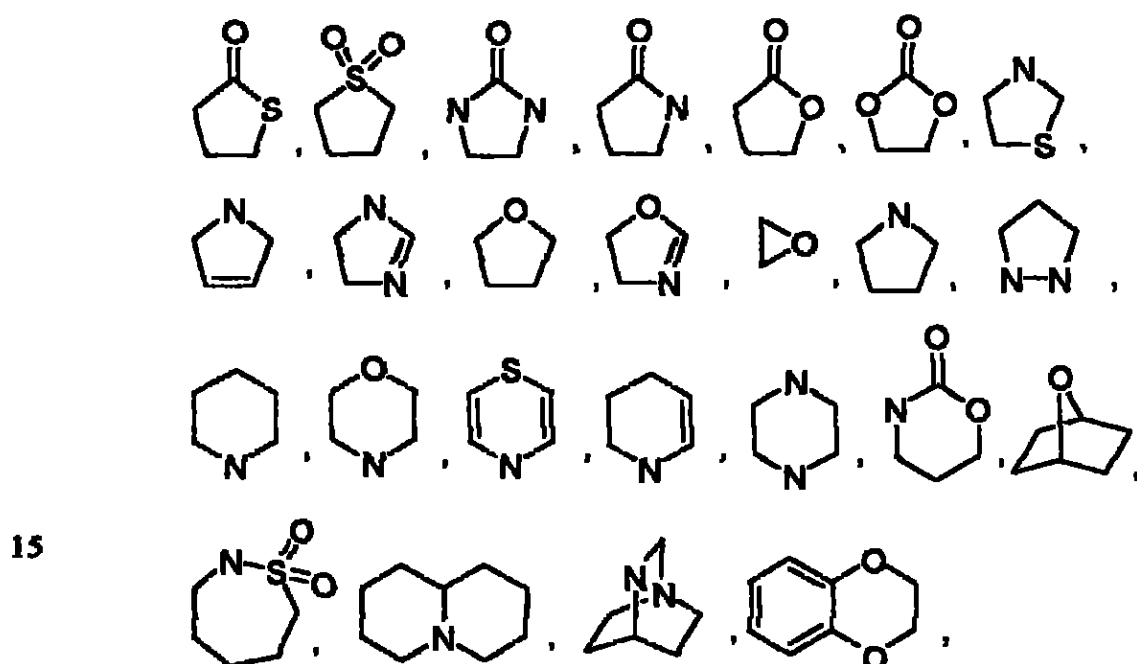
El término "cicloalquilo" hace referencia a un carbociclo saturado o parcialmente saturado, monocíclico o fusionado o espiro policíclico, teniendo entre tres y doce anillos de átomos por anillo. Los ejemplos ilustrativos de los grupos cicloalquilo incluyen las siguientes porciones:

73



y similares.

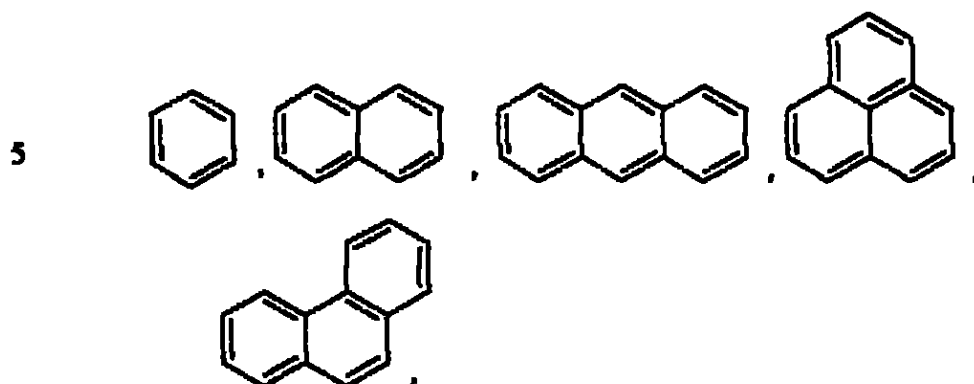
Un "heterocicloalquilo" se refiere a una estructura de anillo monocíclico, o fusionado o espiro policíclico, saturado o parcialmente saturado y tiene entre tres y doce anillos de átomos por anillo seleccionados entre átomos C y heteroátomos N, O, y S. Los ejemplos ilustrativos de los grupos heterocicloalquilo incluyen:



y similares.

El término "arilo" (Ar) se refiere a un carbociclo aromático monocíclico, o fusionado espiro policíclico, (la estructura del anillo tiene todos los átomos de carbono del anillo) teniendo desde tres hasta doce anillos de átomos por anillo. Los ejemplos ilustrativos de grupos arilo incluyen las siguientes porciones:

h74



10 y similares.

El término "sustituido" significa que el grupo o la porción especificado tienen uno o varios radicales. El término "sin sustituir" significa que el grupo especificado no tiene radicales.

15 Un alquilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido se sustituye por uno o varios radicales incluyendo halógeno (F, Cl, Br, o I), alquilo menor (C_{1-6}), -OH, -NO₂, -CN, -CO₂H, -O- alquilo menor, -arilo, -arilo-alquilo menor, -CO₂CH₃, -CONH₂, -OCH₂CONH₂, -NH₂, -SO₂NH₂, haloalquilo (por ejemplo -CF₃, -CH₂CF₃), -O-haloalquilo (por ejemplo -OCF₃, -OCHF₂), y similares.

20 El término "inmunomodulador" se refiere a productos naturales o sintéticos capaces de modificar el sistema inmune normal o atípico por medio de la estimulación o de la supresión.

25 El término "prevenir" hace referencia a la capacidad de un compuesto o composición de la invención para prevenir una enfermedad aquí identificada en pacientes con un diagnóstico positivo de una enfermedad, o que corren el riesgo de desarrollar esta enfermedad. El término también se extiende a la prevención del progreso posterior de la enfermedad en pacientes que ya la están padeciendo o que tienen los síntomas de la citada enfermedad.

30 El término "tratar" se refiere a:

2075

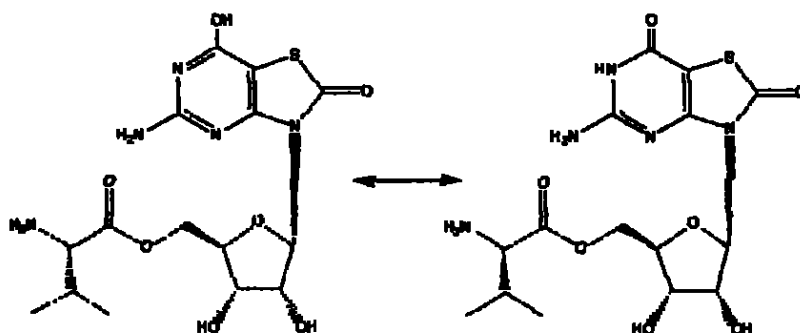
(i) prevenir que una enfermedad, un desorden o una afección se manifieste en un animal que pueda estar predispuesto a la enfermedad, al desorden y / o a la afección, pero que todavía no se le ha diagnosticado;

(ii) inhibir la enfermedad, el desorden o la afección, es decir
5 detener su desarrollo; y

(iii) aliviar la enfermedad, el desorden o la afección, es decir causar la regresión de la enfermedad, del desorden o de la afección.

Los términos "α" y "β" indican la configuración estereoquímica específica de un radical en un átomo asimétrico de carbono en una estructura
10 química como se dibuja. Los compuestos aquí descritos están todos en la configuración D-furanosilo.

Los compuestos de la invención pueden exhibir el fenómeno de tautomería. Aunque la Fórmula I no puede representar todas las formas tautómeras posibles, se deberá entender que la intención de la Fórmula I
15 es que represente cualquier forma tautómera del compuesto representado, y no se limita meramente a una forma de compuesto específica representada por los diagramas de la fórmula. Por ejemplo para la Fórmula I se entiende que independientemente de si los radicales se muestran o no en su forma enol o cetónica, representan el mismo
20 compuesto (como se muestra en el siguiente ejemplo).



Algunos de los compuestos inventivos pueden existir como un solo estereoisómero (es decir, esencialmente libres de otros estereoisómeros), racematos, y / o mezclas de enantiómeros y / o
25 diasterómeros. Todos estos estereoisómeros solos, los racematos y las mezclas de los mismos se deben entender como dentro del ámbito de la

7b

presente invención. Preferiblemente, los compuestos inventivos ópticamente activos se utilizan en forma ópticamente pura.

Como aquellos con destrezas en el arte comprenden en forma general, un compuesto ópticamente puro con un centro quiral (es decir un átomo de carbono asimétrico) consiste esencialmente en uno de los dos enantiómeros posibles (es decir enantioméricamente puro), y un compuesto ópticamente puro teniendo más de un centro quiral es uno que es diaestereoméricamente puro y enantioméricamente puro. Preferiblemente, los compuestos de la presente invención se utilizan en una forma que es por lo menos 90% ópticamente pura, es decir, una forma que contiene por lo menos 90% de un solo isómero (exceso enantiomérico del 80% ("e.e.") o exceso diaestereomérico ("e.d.")), más preferiblemente por lo menos 95% (90% e.e. o e.d.), incluso más preferiblemente por lo menos 97.5% (95% e.e. o e.d.), y aún más preferiblemente por lo menos 99% (98% e.e. o e.d.).

Adicionalmente el objetivo de la Fórmula I abarca formas solvatadas e insolvatadas de las estructuras identificadas. Por ejemplo, la Fórmula I incluye compuestos de la estructura indicada tanto en forma hidratada como deshidratada. Otros ejemplos de solvatos incluyen las estructuras combinadas con isopropanol, etanol, metanol, DMSO, etil acetato, ácido acético o etanolamina.

Además de los compuestos de la Fórmula I, la invención incluye profármacos farmacéuticamente aceptables, metabolitos farmacéuticamente activos y sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos y metabolitos.

"Un profármaco farmacéuticamente aceptable" es un compuesto que puede convertirse bajo condiciones fisiológicas o por solvólisis en el compuesto especificado o en una sal farmacéuticamente aceptable del referido compuesto, antes de exhibir su(s) efecto(s) farmacológico(s). Típicamente el profármaco se formula con el (los) objetivo(s) de mejorar la estabilidad química, de mejorar la aceptación y el acatamiento por parte del paciente, para una biodisponibilidad mejorada, una duración prolongada de la acción, una selectividad mejorada de los órganos, una formulación

77

mejorada (por ejemplo una mayor hidrosolubilidad), y / o una reducción de los efectos secundarios (por ejemplo la toxicidad). El profármaco se puede preparar fácilmente a partir de los compuestos de la Fórmula I empleando métodos conocidos en el arte, como aquellos descritos por *Burger's*
5 *Medicinal Chemistry and Drug Chemistry*, 1, 172-178, 949-982 (1995). Consultar también Bertolini y colaboradores, *J. Med. Chem.*, 40, 2011-2016 (1997); Shan, y colaboradores, *J. Farm. Sci.*, 86 (7), 765-767; Bagshawe, *Drug Dev. Res.*, 34, 220-230 (1995); Bodor, *Advances in Drug Res.*, 13, 224-331 (1984); Bundgaard, *Design of Prodrugs* (Elsevier Press 1985);
10 Larsen, *Design and Application of Prodrugs*, Drug Design and Development (Krogsgaard-Larsen y colaboradores, eds., Harwood Academic Publishers, 1991); Dear y colaboradores, *J. Chromatogr. B*, 748, 281-293 (2000); Spraul y colaboradores, *J. Farmaceutical & Biomedical Analysis*, 10, 601-605 (1992); y Prox y colaboradores, *Xenobiot.*, 3, 103-112 (1992).

15 "Un metabolito farmacéuticamente activo" se deberá entender como un producto farmacológicamente activo producido por medio del metabolismo en el cuerpo, de un compuesto o una sal específica del mismo. Después de su ingreso en el cuerpo, la mayoría de los fármacos son sustratos para reacciones químicas que pueden modificar sus propiedades físicas y sus
20 efectos biológicos. Estas conversiones metabólicas, que por lo general afectan la polaridad de los compuestos de la Fórmula I, alteran la forma en la cual los fármacos se distribuyen en y se excretan de el cuerpo. Sin embargo en algunos casos, se requiere el metabolismo de un fármaco para obtener un efecto terapéutico. Por ejemplo los fármacos antineoplásicos de
25 la clase anti-metabolito se deben convertir a sus formas activas una vez se transportan al interior de una célula con cáncer.

Puesto que la mayoría de los fármacos se somete a una transformación metabólica de alguna índole, las reacciones bioquímicas que juegan un rol en el metabolismo de un fármaco pueden ser numerosas y
30 diversas. El hígado es el lugar principal donde se realiza el metabolismo de un fármaco, aunque otros tejidos también pueden intervenir.

78

Una particularidad de las características de muchas de estas transformaciones es que los productos metabolitos, o los "metabolitos," son más polares que los fármacos iniciales, aunque un fármaco polar a veces produce un producto menos polar. Las sustancias con unos coeficientes
5 altos de la partición lípidos / agua que atraviesan las membranas fácilmente, también se infiltran fácilmente de la orina tubular a través de las células tubulares de la orina al plasma. Así, estas sustancias tienden a tener una tolerancia renal baja y una larga permanencia en el cuerpo. Si un fármaco se metaboliza a más de un compuesto polar con un coeficiente de
10 partición inferior, su reabsorción tubular se verá seriamente reducida. Más aún, los mecanismos específicos de secreción de aniones y cationes en los tubos renales proximales y en las células parenquimatosas del hígado operan bajo sustancias altamente polares.

Como un ejemplo específico, la fenacetina (acetofenetidina) y la
15 acetanilida son analgésicos suaves y agentes antipiréticos, pero en el cuerpo se transforman en un metabolito más polar y efectivo, p-hidroxiacetanilida (acetaminofén), de amplio uso actualmente. Cuando se administra una dosis de acetanilida a una persona, los metabolitos sucesivos aumentan y caen en el plasma en forma secuencial. Durante la primera hora, la acetanilida es el
20 principal componente del plasma. En la segunda hora, el nivel de acetanilida cae, la concentración de metabolitos de acetaminofén alcanza el pico. Finalmente después de dos horas, el principal componente del plasma es otro metabolito inerte que se puede excretar del organismo. Así las concentraciones de uno o varios metabolitos en el plasma, al igual que el
25 fármaco mismo, pueden tener una importancia farmacológica.

"Una sal farmacéuticamente aceptable" se debe entender como una sal que conserva la efectividad biológica de los ácidos y bases libres del compuesto específico, y que no son biológicamente ni de otra forma indeseables. Un compuesto de la invención puede poseer suficientes grupos
30 ácidos o alcalinos, o ambos grupos funcionales, y por lo tanto reaccionar con cualquier número de bases orgánicas o inorgánicas y con ácidos orgánicos e inorgánicos, para formar una sal farmacéuticamente aceptable.

Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas sales preparadas por medio de la reacción de los compuestos de la presente invención con un ácido mineral u orgánico o con una base inorgánica, dichas sales incluyendo sulfatos, piro-sulfatos, bisulfatos, sulfitos, bisulfitos, fosfatos, monohidrogenfosfatos, dihidrogenfosfatos, metafosfatos, pirofosfatos, cloruros, bromuros, yodos, acetatos, propionatos, decanoatos, caprilatos, acrilatos, formatos, isobutiratos, caproatos, heptanoatos, propiolatos, oxalatos, malonatos, succinatos, suberatos, sebacatos, fumaratos, maleatos, butina-1,4-dioatos, hexina-1,6-dioatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, dinitrobenzoatos, hidroxibenzoatos, metoxibenzoatos, ftalatos, sulfonatos, xilenesulfonatos, fenilacetatos, fenilpropionatos, fenilbutiratos, citratos, lactatos, γ -hidroxibutoratos, glicolatos, tartratos, metano-sulfonatos, propanosulfonatos, naftaleno-1-sulfonatos, naftaleno-2-sulfonatos y mandelatos.

Si el compuesto inventivo es una base, la sal farmacéuticamente aceptable se puede preparar por medio de cualquier método apropiado disponible en el arte, por ejemplo el tratamiento de la base libre con un ácido inorgánico como ácido clorhídrico, ácido hidrobromico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, o con un ácido orgánico como ácido acético, ácido maleico, ácido succínico, ácido mandélico, ácido fumárico, ácido masónico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido glicólico, ácido salicílico, ácido piranosidilo, como el ácido glucurónico o el ácido galacturónico, un ácido alfa-hidroxi como el ácido cítrico o el ácido tartárico, un aminoácido como el ácido aspártico o el ácido glutámico, un ácido aromático como el ácido benzoico o el ácido cinámico, un ácido sulfónico como el ácido p-toluenosulfónico o el ácido etanosulfónico, o similares.

Si el compuesto inventivo es un ácido, se puede preparar una sal farmacéuticamente aceptable por medio de cualquier método apropiado, por ejemplo el tratamiento de un ácido libre con una base orgánica o inorgánica como una amina (primaria, secundaria o terciaria), un hidróxido de metal alcalino o similar. Los ejemplos ilustrativos de las

Fig 80

sales apropiadas incluyen las sales orgánicas derivadas de amino ácidos, como glicina y arginina, amoníaco, aminas primarias, secundarias y terciarias y aminas cíclicas como piperidina, morfolina y piperazina, y sales inorgánicas derivadas de sodio, calcio, potasio, magnesio, manganeso, hierro, cobre, zinc, aluminio y litio.

En el caso de los agentes sólidos, aquellos con destreza en el arte entienden que los compuestos y las sales inventivas pueden existir en diferentes formas de cristales o polimorfías, y todas las cuales se entienden dentro del ámbito de la presente invención y de las fórmulas especificadas.

Otro aspecto de la presente invención hace referencia a una composición farmacéutica comprendiendo un medio de transporte o un diluyente farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la Fórmula I, una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, éster, solvato, profármaco, metabolito o estereoisómero.

Los compuestos de la Fórmula I son útiles en la manufactura de formulaciones farmacéuticas comprendiendo una cantidad efectiva de las mismas conjuntamente con o en forma de una mezcla con excipientes o medios de transporte apropiados para una aplicación enteral o parenteral. Como tal, las formulaciones de la presente invención apropiadas para una administración oral pueden ser en forma de unidades discontinuas como cápsulas, tabletas, pequeñas tabletas o pastillas para chupar, cada una conteniendo una cantidad predeterminada de los ingredientes activos; en forma de polvo o gránulos; en forma de una solución o de una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o en la forma de una emulsión de aceite en agua. Los ingredientes activos también pueden ser en forma de una inyección, un electuario o una pasta.

Por lo general la composición se formulará en forma de dosis unitaria, como una tableta, una cápsula, una suspensión o solución acuosa. Típicamente estas formulaciones incluyen un medio de transporte sólido, semi-sólido o líquido. Los ejemplos de medios de transporte incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol,

781

almidones, goma de acacia, fosfato de calcio, aceite mineral, manteca de cacao, aceite de teobroma, alginatos, tragacanto, gelatina, jarabe, metilcelulosa, monolaurato de sorbitan, metilo hidroxibenzoato, propilo hidroxibenzoato, talco, estearato de magnesio y similares.

5 Las formulaciones particularmente preferidas incluyen tabletas y cápsulas de gelatina comprendiendo los ingredientes activos junto con (a) diluyentes, como lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa, almidón de maíz seco y glicina; y / o (b) lubricantes, como sílice, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o de calcio y polietilenglicol.

10 Las tabletas también pueden contener aglutinantes, como sílice de aluminio y magnesio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y polivinilpirrolidona; medios de transporte como lactosa y almidón de maíz; disgregantes como almidones, agar, ácido algínico o su sal sódica y mezclas efervescentes; y
15 / o absorbentes, colorantes, saborizantes y edulcorantes. Las composiciones de la invención se pueden esterilizar y / o pueden contener potenciadores, como agentes conservantes, estabilizantes, de esponjamiento o emulsificantes, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica y / o amortiguadoras. Adicionalmente, la
20 composición puede también contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. Las suspensiones acuosas pueden contener agentes emulsificantes y de suspensión combinados con los ingredientes activos. Todas las formas de dosis oral pueden además contener agentes edulcorantes y / o saborizantes y / o colorantes.

25 Estas composiciones se preparan de conformidad con métodos de mezclado, granulado o recubrimiento convencionales respectivamente, y contienen desde alrededor de 0.1 hasta 75% del ingrediente, preferiblemente desde alrededor de 1 hasta 50% del mismo. Se puede preparar una tableta comprimiendo o moldeando los ingredientes activos
30 opcionalmente con uno o varios ingredientes accesorios. Las tabletas comprimidas se pueden preparar al comprimir los ingredientes activos en una máquina apropiada, en forma de flujo libre como un polvo o como

gránulos, opcionalmente mezclados con un aglutinante, un diluyente inerte, un tensioactivo o un agente dispersante. Las tabletas moldeadas se pueden elaborar mediante el moldeo, en una máquina apropiada, a partir de una mezcla de los ingredientes activos en polvo y de un medio de transporte apropiado humedecido con un diluyente líquido inerte.

Cuando se administra en forma parenteral, normalmente la composición será en una dosis unitaria, en forma inyectable estéril (solución isotónica acuosa, suspensión o emulsión) con un medio de transporte farmacéuticamente aceptable. Los citados medios de transporte preferiblemente son atóxicos y parenteralmente aceptables y contienen diluyentes o solventes no terapéuticos. Los ejemplos de dichos medios de transporte incluyen agua; soluciones acuosas como las salinas (solución isotónica de cloruro de sodio), solución de Ringer, solución de dextrosa y solución de Hanks; y medios de transporte no acuosos como 1, 3-butanediol, aceites fijos (por ejemplo maíz, semilla de algodón, maní, aceite de ajonjolí y mono o diglicérido sintético), etil oleato e isopropil miristato.

Se pueden formular suspensiones oleaginosas de acuerdo con técnicas conocidas en el arte empleando unos agentes dispersantes o de suspensión e hidratantes apropiados. Entre los solventes aceptables o los medios de suspensión se incluyen los aceites estériles fijos. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo ligero. Los ácidos grasos como el ácido oleico y sus derivados glicéridos incluyendo el aceite de oliva y aceite de castor, especialmente en sus formas polioxietiladas, también son útiles en la preparación de inyectables. Estas soluciones o suspensiones de aceite también pueden contener diluyentes o dispersantes de cadenas largas de alcoholes.

La solución salina es un medio de transporte preferido y con frecuencia los compuestos son suficientemente solubles en agua para constituirse en una solución para todas las necesidades predecibles. El medio de transporte puede contener cantidades menores de aditivos, como sustancias que aumentan la solubilidad, la isotonicidad y la

estabilidad química, por ejemplo los antioxidantes, amortiguadores y conservantes.

5 Cuando se administra en forma rectal, por lo general la composición se formulará en forma de dosis unitaria como un supositorio o cápsula. Estas composiciones se pueden preparar mezclando el compuesto con excipientes no irritantes que son sólidos a temperatura ambiente, pero líquidos a temperatura rectal, de manera que se derriten en el recto para liberar el compuesto. Los excipientes incluyen manteca de cacao, cera de abejas y polietilenglicol u otras emulsiones o
10 suspensiones grasas.

Las formulaciones apropiadas para una administración nasal o bucal (como formulaciones dispensadoras auto propelantes en polvo), pueden comprender desde alrededor de 0.1% hasta alrededor de 5% peso/peso de los ingredientes activos o por ejemplo alrededor de 1% peso /
15 peso de los mismos. En algunas formulaciones se pueden emplear para la preparación de compuestos en pastillas sublinguales o en pastillas para chupar.

Adicionalmente los compuestos se pueden administrar en forma tópica, especialmente cuando las condiciones para el tratamiento
20 comprenden áreas u órganos de fácil acceso mediante aplicación tópica, incluyendo desórdenes del ojo, de la piel o del tracto intestinal inferior.

Para la aplicación tópica en el ojo o el uso oftálmico, los compuestos se pueden formular como suspensiones micronizadas en una solución salina isotónica estéril de pH ajustado o preferiblemente como
25 una solución salina isotónica estéril de pH ajustado, con o sin un conservante como cloruro benzilalconio. Alternamente, los compuestos se pueden formular en ungüentos, como el petrolato.

Para la aplicación tópica en la piel, los compuestos se pueden formular en ungüentos apropiados que contienen los compuestos
30 suspendidos o disueltos, por ejemplo mezclas con uno o varios de los siguientes: aceite mineral, petrolato líquido, petrolato blanco, propilenglicol, compuesto de polioxietileno, cera emulsificante y agua.

84

Alternamente, los compuestos se pueden formular en lociones o cremas apropiadas conteniendo los activos del compuesto en suspensión o disueltos en por ejemplo una mezcla de uno o varios de los siguientes: aceite mineral, monoestearato sorbitan, polisorbato 60, cera de etil éster, alcohol cetearilo, 2-octildodecanol, benzilo alcohol y agua.

La aplicación tópica al tracto intestinal inferior se puede lograr mediante formulaciones de supositorios rectales (ver arriba) o en formulaciones apropiadas de enema.

Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en forma de dosis unitaria y se pueden preparar por medio de cualquiera de los métodos bien conocidos en el arte de la farmacia. Todos los métodos incluyen el paso de llevar los ingredientes activos y asociarlos con el medio de transporte, que constituye uno o varios ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando los ingredientes activos de manera uniforme e íntima con un medio de transporte líquido o un medio de transporte sólido finamente dividido, o ambos, y luego, si es necesario, darle forma al producto para obtener la formulación deseada.

La composición farmacéutica de la presente invención se utiliza en una cantidad terapéuticamente efectiva y las cantidades empleadas pueden depender del perfil de liberación deseado, de la concentración de la composición farmacéutica requerida para obtener un efecto de sensibilización y del periodo de tiempo durante el cual se debe liberar la composición farmacéutica para el tratamiento.

Los compuestos de la Fórmula I de la invención se administran preferiblemente como una cápsula o tableta conteniendo una dosis única o dividida del compuesto o una solución, suspensión o emulsión estéril para administración parenteral en una dosis unitaria o dividida.

Los compuestos de la invención se utilizan en la composición en cantidades terapéuticamente efectivas. Aunque la cantidad efectiva de los compuestos de la Fórmula I dependerá del compuesto en particular que se está empleando, cantidades de estos compuestos que varían desde

Handwritten signature or initials, possibly "F. 85".

alrededor de 1% hasta alrededor de 65% se han incorporado fácilmente a un medio de transporte líquido o sólido.

Para el uso médico, la cantidad requerida de un compuesto de la Fórmula I para alcanzar un efecto terapéutico variará de acuerdo con el compuesto en particular administrado, del mamífero que se está tratando y del desorden de la enfermedad en cuestión. Una dosis sistémica apropiada de un compuesto de la Fórmula I para un mamífero sufriendo de o que posiblemente sufrirá de cualquier afección como se describe en la presente, típicamente se encuentra en el rango desde alrededor de 0.1 hasta alrededor de 100 mg de base por kilogramo de peso corporal. Se entiende que el médico o veterinario con destrezas ordinarias fácilmente podrá determinar y prescribir la cantidad efectiva del compuesto para el tratamiento profiláctico o terapéutico deseado.

Al proceder de esta forma, el médico o el veterinario puede emplear una inyección intravenosa seguida de una infusión intravenosa y con unas administraciones repetidas, según considere. En los métodos de la presente invención, los compuestos se pueden administrar por ejemplo en forma oral, parenteral, por aerosol de inhalación, tópicamente, en forma rectal, nasal, bucal, sublingual, vaginal, intraventricular o por medio de un reservorio implantado en formulaciones de dosis conteniendo unos medios de transporte convencionales, atóxicos, farmacéuticamente aceptables, potenciadores y vehículos.

Parenteral incluye, pero no se limita a los siguientes ejemplos de administración: inyección intravenosa, subcutánea, intramuscular, intrarraquídea, intraósea, intraperitoneal, lumbar, intraventricular, en el esternón o endocraneal y las técnicas de infusión como la bomba subdural. Se prefieren las técnicas invasivas, particularmente la administración directa al tejido neuronal dañado. Aunque es posible administrar el (los) compuesto(s) de la Fórmula I solo(s), es preferible suministrarlo(s) como parte de una formulación farmacéutica.

Para que los compuestos empleados en los métodos de la presente invención sean terapéuticamente efectivos como blancos del sistema

86

nervioso central, deben traspasar fácilmente la barrera hematoencefálica cuando se administran en forma periférica. Sin embargo los compuestos que no pueden traspasar la barrera hematoencefálica también se pueden administrar efectivamente mediante una vía intraventricular.

5 Los compuestos empleados en los métodos de la presente invención se pueden administrar en una sola dosis, en múltiples dosis discontinuas o en una infusión continua. Puesto que los compuestos son pequeños y de fácil difusión y relativamente estables, son bastante aptos para una infusión continua. Bomba significa medios de bombas subdurales particularmente
10 subcutáneas o subdurales, que se prefieren para una infusión continua.

Para los métodos de la presente invención, se puede emplear cualquier régimen de administración efectivo que regula el horario y la secuencia de las dosis. Preferiblemente las dosis de los compuestos incluyen unidades de dosis farmacéuticas comprendiendo una cantidad eficaz del compuesto
15 activo. Una cantidad eficaz quiere decir que es una cantidad suficiente para obtener una mejor respuesta inmune y / o para generar los efectos benéficos deseados por medio de la administración de una o varias dosis.

Un ejemplo de una dosis diaria para un anfitrión vertebrado comprende una cantidad desde alrededor de 0.001 mg/kg hasta alrededor de
20 50 mg/kg. Típicamente los niveles de las dosis de orden de alrededor de 0.1 mg hasta alrededor de 10,000 mg de los compuestos de ingredientes activos son útiles en el tratamiento de las anteriores dolencias, y los niveles preferidos son de alrededor de 0.5 mg hasta alrededor de 2,000 mg. El nivel de dosis específico de un paciente en particular variará dependiendo de
25 una serie de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado; la edad, el peso corporal, la salud general, el género y la dieta del paciente; el tiempo de administración; la tasa de excreción, cualquier combinación del compuesto con otros fármacos; la gravedad de la enfermedad en particular que se está tratando; y la forma y la ruta de
30 administración. Típicamente los resultados de las dosis-el efecto in vitro son una guía útil para las dosis apropiadas en la administración a un paciente. Los estudios en modelos animales también pueden ser útiles. Las

consideraciones para determinar los niveles de dosis adecuados son bien conocidas en el arte.

Los compuestos y las composiciones se pueden coadministrar con uno o varios agentes terapéuticos bien sean (i) juntos en una sola formación, o
 5 (ii) separadamente en formulaciones individuales diseñadas para unas tasas de liberación óptimas de su respectivo agente activo. Cada formulación puede contener desde alrededor de 0.01% hasta alrededor de 99.99% por peso, preferiblemente desde alrededor de 3.5% hasta alrededor de 60% por peso, del compuesto de la invención, al igual que uno o varios excipientes
 10 farmacéuticos como agentes hidratantes, emulsificantes y amortiguadores de pH. Cuando los compuestos empleados en los métodos de la invención se administran conjuntamente con uno o varios otros agentes terapéuticos, los niveles específicos de las dosis de estos agentes dependerán de consideraciones como aquellas identificadas arriba para las composiciones y
 15 los métodos de la invención en general.

Para los métodos de la presente invención, se puede emplear cualquier régimen de administración regulando el horario y la secuencia de administración del compuesto y se puede repetir según sea necesario para efectuar un tratamiento. Este régimen puede incluir un tratamiento previo y
 20 / o la coadministración con agentes terapéuticos adicionales.

Los agentes inventivos se pueden preparar empleando las rutas de reacción y los esquemas de síntesis como se describen a continuación, utilizando las técnicas generales conocidas en el arte con materiales de partida fácilmente disponibles. La síntesis de los compuestos no
 25 ejemplificados de acuerdo con la invención se puede efectuar con éxito mediante unas modificaciones evidentes para aquellos con destrezas en el arte, por ejemplo protegiendo adecuadamente los grupos que interfieren, modificando otros reactivos adecuados conocidos en el arte por ejemplo protegiendo apropiadamente los grupos que interfieren, cambiarlos por otros
 30 reactivos adecuados conocidos en el arte, o efectuando modificaciones rutinarias a las condiciones de reacción. Alternamente, se reconocerá que

9/88

otras reacciones divulgadas en la presente o generalmente conocidas en el arte tienen aplicabilidad para preparar otros compuestos de la invención.

Preparación de Compuestos

5 En los esquemas sintéticos descritos a continuación, salvo si se indica en contrario, todas las temperaturas se determinan en grados Celsius y todas las partes y los porcentajes son por peso. Los reactivos se compraron donde proveedores comerciales como Aldrich Chemical Company o Lancaster Synthesis Ltd. y se emplearon sin purificaciones adicionales, salvo si se
10 indica en contrario. Se compró Tetrahidrofuran (THF) y N, N-dimetilforamida (DMF) en Aldrich en botellas de sellos seguros y se emplearon como se recibieron. Salvo si se indica en contrario, los siguientes solventes y reactivos se destilaron bajo un recubrimiento de nitrógeno seco. THF y Et₂O se destilaron a partir de Na-benzofenona cetil;
15 CH₂Cl₂, diisopropilamina, piridina y Et₃N se destilaron a partir de CaH₂; MeCN se destiló primero de P₂O₅ y luego de CaH₂; MeOH se destiló a partir de Mg; PhMe, EtOAc e *i*-PrOAc se destilaron a partir de CaH₂; TFAA se purificó por medio de una destilación atmosférica simple bajo argón seco.

Las reacciones descritas a continuación se hicieron generalmente bajo
20 una presión positiva de argón a temperatura ambiente (salvo si se manifiesta en contrario) en solventes anhidros y los matraces de reacción tenían un septo de caucho para la introducción de los sustratos y los reactivos por medio de una jeringa. Los elementos en vidrio se secaron en horno y / o por calor. Las reacciones se analizaron con una Tl.C y se terminaron según se
25 juzgó por el consumo del material de partida. Se efectuó una cromatografía analítica de capa delgada (TLC) en placas en gel de sílice con recubrimiento de aluminio 60 F₂₅₄ de 0.2 mm (EM Science), y se visualizaron con luz UV (254 nm) y posteriormente se calentaron con ácido etanólico fosfomolibdico. Se efectuó una cromatografía de capa delgada de
30 preparación (Tl.C) en placas en gel de sílice con recubrimiento de aluminio 60 F₂₅₄ de 1.0 mm (EM Science) y se visualizaron con luz UV (254 nm).

Típicamente las preparaciones se efectuaron doblando el volumen de la reacción con el solvente de la reacción o el solvente de extracción y luego se lavaron con las soluciones acuosas indicadas empleando un 25% por volumen del volumen de extracción, salvo si se indica en contrario. Las soluciones del producto se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y / o Mg_2SO_4 antes de la filtración y evaporación de los solventes bajo presión reducida sobre un evaporador rotatorio y se notó cuando se retiraron los solventes *in vacuo*. La cromatografía se completó bajo una presión positiva empleando una malla de gel de sílice 230-400 o una malla neutral alúmina 50-200. La hidrogenolisis se completó a la presión indicada en los ejemplos o a presión ambiente.

Se registró el espectro ^1H -NMR en un instrumento Varian Mercury-VX400 operando a 400 MHz y se registró el espectro ^{13}C -NMR operando a 75 MHz. El espectro NMR se obtuvo como soluciones CDCl_3 (reportado en ppm), utilizando cloroformo como el estándar de referencia (7.27 ppm y 77.00 ppm), CD_3OD (3.4 y 4.8 ppm y 49.3 ppm), $\text{DMSO}-d_6$, o internamente tetrametilsilano (0.00 ppm) cuando fuera lo indicado. Se utilizaron otros solventes NMR cuando se necesitaron. Cuando se reportan múltiples picos, se emplea lo siguiente: s (solo), d (doble), t (triple), q (cuarteto), m (múltiple), br (ampliado), dd (dos dobles), dt (dos triples). Cuando se dan constantes de acople, se reportan en Hertz (Hz).

Se registró el espectro infrarrojo (IR) en un Espectrómetro FT-IR como aceites puros, como comprimidos KBr o como unas soluciones CDCl_3 , y cuando se dan se reportan en números de ondas (cm^{-1}). Los espectros de masa reportados son (+)-ES LC/MS efectuados por el Departamento Analítico de Química de Anadys Pharmaceuticals, Inc.. Atlantic Microlab, Inc. en Norcross, GA. efectuó unos análisis químicos. Los puntos de fusión (mp) se determinaron en un aparato capilar abierto y están sin corregir.

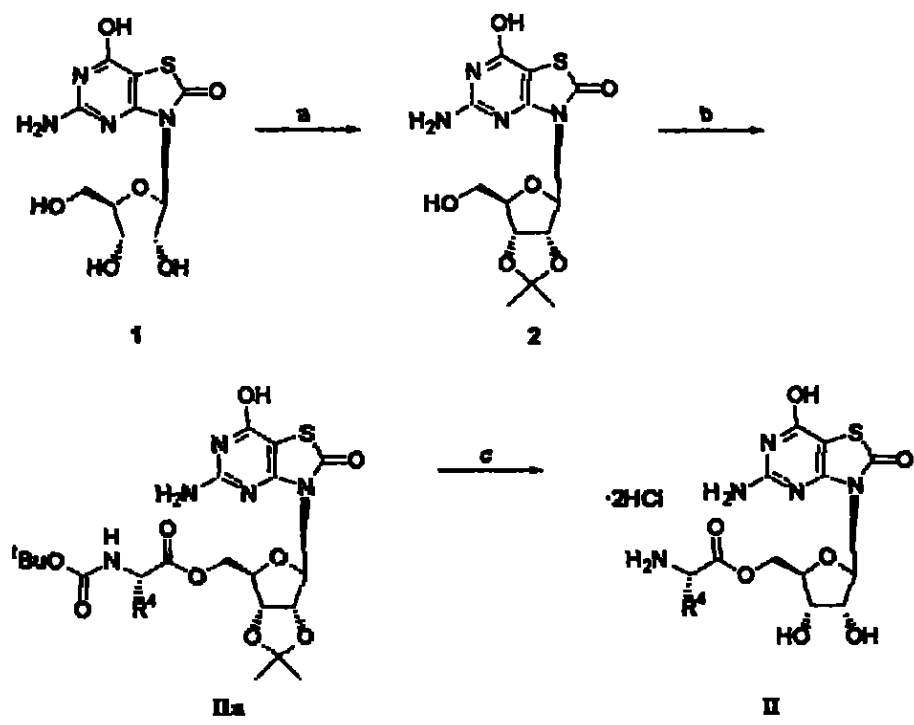
Las rutas sintéticas descritas y los procedimientos experimentales utilizan muchas abreviaturas químicas comunes, THF (tetrahidrofurano), DMF (N,N-dimetilformamida), EtOAc (etil acetato), DMSO (di-metil

8/90

sulfoxida), DMAP (4-dimetilaminopiridina), DBU (1,8-diazaciclo[5.4.0]undec-7-ene), DCM (4-(dicianometileno)-2-metil-6-(4-dimetilamino-estirilo)-4 H -pirano), MCPBA (3-ácido cloroperoxiobenzoico), EDC (1-(3-dimetilaminopropilo)-3-etilcarbodiimida
5 hidrocioruro), HATU (O-(7-azabenzotriazol-1-ilo)-1,1,3,3-tetrametiluronio hexafluorofosfato), HOBT (1-hidroxibenzotriazol hidrato), TFAA (anhídrido trifluoroacético), pyBOP (benzotriazol-1-iloxi)tripirolidinafosfonio hexafluorofosfato), DIEA (diisopropiletilamina), y similares.

10 El esquema 1 muestra un procedimiento general para preparar los ésteres 5'-amino ácidos de 5-amino-3-β-D-ribofuranosiltiazol[4,5-d]pirimidina-2,7-diona.

Esquema 1



a) 2,2-dimethoxypropane, acetone, DMSO, MeSO₃H, 0 °C
b) BOC-NHCHR⁴CO₂H, EDC, DMAP, PhMe, 0 °C - rt
c) anh. HCl, PrOAc, PrOH

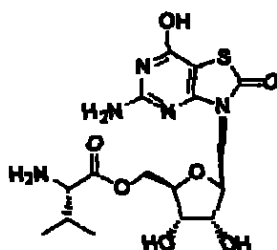
15 a) 2,2-dimetoxipropano, acetona, DMSO, MeSO₃H, 0°C
b) BOC-NHCHR⁴CO₂H, ED C, DMAP, PhMe, 0°C
c) anh. HCl, PrOAc, PrOH

20 En una ruta sintética típica, los grupos hidroxilos 2',3' de la porción β-D-ribosa de 5-amino-3- β-D-ribofuranosiltiazol[4,5-d]pirimidina-2,7-diona

91

se protege primero, preferiblemente con una acetona como se muestra en el 2. Luego los tres 5'-hidroxilos libres se pueden someter a una variedad de métodos de esterificación con un amino ácido *N*-protegido para formar IIa. El nitrógeno del éster del amino ácido y los hidroxilos 2',3'- de la
5 unidad de ribosa se someten luego a varias condiciones de desprotección, preferiblemente en forma simultánea, seguidas de la formación de sal de la amina libre del éster del amino ácido como se ilustra para II.

**Ejemplo 1: 5-Amino-3-(5'-*O*-*L*-valinil- β -D-ribofuranosil)tiazol[4,5-
10 *d*]pirimidina-2,7-diona Dihidrocloreuro (3)**



**Paso 1: Preparación de 5-Amino-3-(2',3'-*O*-isopropilidene- β -D-
ribofuranosil)**

tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2,7-diona

15 A una mezcla heterogénea de 1 (5.37 g, 17.0 mmol, preparada de acuerdo con el procedimiento dado en la Patente de Estados Unidos No. 5,041,426 (Ejemplo 2), la cual se incorpora por referencia en su totalidad) en acetona (40 mL) contenida en un matraz Morton de 250 mL se agregó sucesivamente 2,2-DMP (6.26 mL, 50.9 mmol), DMSO (6.6 mL), y
20 MeSO₃H (220 μ l, 3.39 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se revolvió vigorosamente y se volvió homogénea y de color amarillo dorado a medida que el diol se consumió. El análisis de la TLC (SiO₂, 10% MeOH-CHCl₃) indicó que la reacción se completó después de 6h. Los sólidos sin disolver se retiraron mediante el filtrado por gravedad,
25 empleando papel de filtro estriado Whatman tipo 1. Luego el filtrado se vació en 10 volúmenes de agua con hielo (~400 mL), formando de inmediato un precipitado de un sólido blanco. Después de revolver durante un periodo breve, se agregó NaHCO₃ (285 mg, 3.39 mmol) disuelto en agua (10 mL) para neutralizar el MeSO₃H. Se continuó revolviendo vigorosamente en el

3
92

reactor Morton durante 15 min, y luego la mezcla se filtró a través de un embudo de vidrio grueso sinterizado. El material sólido se lavó con agua con hielo (100 mL), se secó al aire, y luego se secó aún más bajo un alto nivel de vacío a 65 °C, obteniendo 5.36 g (88%) de la acetónida 2 como un sólido blanco: mp 280-81 °C; ¹H (DMSO-*d*₆) δ 1.28 (s, 3H), 1.47 (s, 3H), 3.43-3.55 (m, 2H), 3.95-3.99 (m, 1H), 4.77-4.80 (m, 1H), 4.88-4.91 (m, 1H), 5.24-5.26 (m, 1H), 5.99 (s, 1H), 6.97 (br s, 2H), 11.25 (s, 1H).

Paso 2: Preparación de 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropilidene-5'-N-tert-butoxicarbonil-L-valinil)-β-D-ribofuranosil)-tiazol[4,5-d]pirimidina-2,7-diona

(4)

A una solución de *N*-butoxicarbonil-(L)-valina (671 mg, 2.81 mmol) en THF (9 mL) a 0 °C se agregó EDC (588 mg, 3.07 mmol). La mezcla homogénea resultante se revolvió durante 45 min a 0 °C cuando se volvió heterogénea, y se agregó acetónida sólida 2 del Paso 1 arriba (1.00 g, 2.81 mmol) como una porción. Posteriormente se agregó DMAP sólido (522 mg, 4.27 mmol). Se permitió que la mezcla de la reacción llegara a temperatura ambiente y se revolvió durante 5 h adicionales, cuando se concentró a 25 °C mediante una evaporación rotatoria hasta convertirse en un jarabe amarillo.

El residuo se disolvió en EtOAc (50 mL), se volvió a repartir con 1 N HCl (10 mL) seguido de una neutralización del ácido con NaHCO₃ (10 mL) acuosa saturada. Luego la fase acuosa ácida se extrajo aún más con EtOAc (2 x 50 mL) y luego se volvió a repartir con la fase acuosa básica. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron por una almohadilla corta de SiO₂ y se concentró, obteniendo 1.480 g (96%) de éster amino ácido Boc-protégido 4 como una espuma: mp 158 °C (dec); ¹H (CDCl₃) δ 0.86 (d, *J* = 7.0, 3H), 0.95 (d, *J* = 7.0, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.44 (s, 9H), 1.56 (s, 3H), 1.75 (br s, 1H), 2.08-2.19 (m, 1H), 4.20-4.24 (m, 2H), 4.30-4.37 (m, 1H), 4.56 (dd, *J* = 11.0, 5.9, 1H), 4.96 (dd, *J* = 6.2, 3.7, 1H), 5.11 (br d, *J* = 8.8, 1H), 5.29 (br d, *J* = 6.6, 1H), 5.88 (br s, 2H), 6.23 (s, 1H).

44/93

Paso 3: Preparación de 5-Amino-3-(5'-O-L-valinil-β-D

ribofuranosil)thiazol[4,5-d]pirimidina-2,7-diona Dihidrocloruro

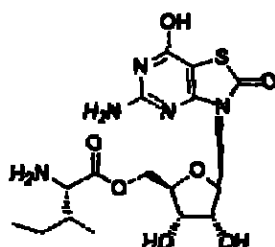
(3)

Se pasó un flujo de gas de HCl por un chorro continuo de H₂SO₄ concentrado, y posteriormente se dirigió (por medio de un tubo de dispersión de frita) a un matraz Morton de 250 mL de 3 cuellos conteniendo isopropil acetato seco (80 mL) a 0 °C hasta obtener una solución saturada. A lo anterior se agregó una solución del éster Boc-amino ácido del Paso 2 arriba (5.53 g, 9.95 mmol) en isopropil acetato (30 mL), resultando en la formación de un precipitado sólido blanco en los 5 minutos siguientes. A lo anterior se agregó IPA (11 mL) al 10% (v/v). La mezcla de la reacción se calentó hasta alcanzar la temperatura ambiente, luego se revolvió durante 12 h. La mezcla heterogénea de la reacción se diluyó con tolueno seco (100 mL). El filtrado por medio de un embudo de vidrio grueso sinterizado de poros medianos bajo N₂ produjo un sólido amorfo casi blanco. Después de la trituración del sólido en THF seco, se filtró y se secó al vacío a 65 °C, obteniendo 3.677 g (81%) del compuesto del título 3 como un sólido blanco: mp 166-68 °C (dec); ¹H (DMSO-*d*₆) δ 0.90 (d, *J* = 7.0, 3H), 0.94 (d, *J* = 7.0, 3H), 2.14-2.18 (m, 1H), 3.83-3.85 (m, 1H), 3.96-4.00 (m, 1H), 4.23-4.28 (m, 2H), 4.42 (dd, *J* = 11.7, 3.4, 1H), 4.75 (dd, *J* = 10.3, 5.5, 1H), 5.81 (d, *J* = 4.4, 1H), 6.46 (br s, 3H), 7.23 (br s, 2H), 8.47 (s, 3H), 11.5 (br s, 1H).

Un análisis elemental de C₁₅H₂₁N₅O₇S • 2HCl: calc'd: C, 36.89; H, 4.75; Cl, 14.52; N, 14.34; S, 6.57; mostró: C, 37.03; H, 4.74; Cl, 14.26; N, 14.24; S, 6.42.

94
✓

EJEMPLO 2: 5-Amino-3-(5'-O-L-isoileucil-β-D-ribofuranosil)thiazol[4,5-d]pirimidina-2,7-diona 3/2 Hidrocloruro (5)



Paso 1: Preparación de 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropilidene-5'-N-tert-butoxicarbonil-L-isoileucil)-β-D-ribofuranosil-thiazol[4,5-d]pirimidina-2,7-diona (6)

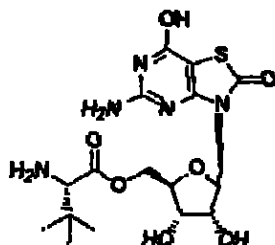
En una forma similar al Paso 2 del Ejemplo, se preparó 1, 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropilidene-5'-N-tert-butoxicarbonil-L-isoileucil)-β-D-ribofuranosil-thiazol[4,5-d]pirimidina-2,7-diona 6 a una concentración de 93% a partir de 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropilidene-β-D-ribofuranosil)-thiazol[4,5-d]pirimidina-2,7-diona 2 y N-tert-butoxi-L-isoileucina 7 como una espuma casi blanca: ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) δ 11.29 (s, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.0, 1H), 7.02 (br s, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.28 (d, *J* = 6.2, 1H), 5.06 (br s, 1H), 4.16-4.22 (m, 2H), 3.85 (dd, *J* = 8.0, 6.6, 1H), 1.68 (br s, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.34 (s, 9H), 1.29 (s, 3H), 0.71-0.89 (m, 5H).

Paso 2: Preparación de 5-Amino-3-(5'-O-L-isoileucil-β-D-ribofuranosil)thiazol-

[4,5-d]pirimidina-2,7-diona Dihidrocloruro (5)

En una forma similar al Paso 3 del Ejemplo 2, se preparó el compuesto del título como un sólido blanco a partir del intermedio anterior en una concentración de 80%: mp 173-174 °C (dec); ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) δ 11.41 (br s, 1H), 8.41 (br s, 3H), 7.15 (br s, 2H), 5.82 (d, *J* = 4.8, 1H), 4.50-5.00 (m, 2H), 4.40 (dd, *J* = 11.7, 3.3, 1H), 4.21-4.30 (m, 2H), 3.91-4.0 (m, 2H), 1.84-1.91 (m, 1H), 1.37-1.44 (m, 1H), 1.19-1.27 (m, 1H), 0.80-0.87 (m, 6H). El análisis elemental de C₁₆H₂₃N₅O₇S·3/2HCl: calc'd: C, 39.69; H, 5.10; N, 14.47; Cl, 10.98; S, 6.62; mostró: C, 39.05; H, 5.13; N, 13.73; Cl, 11.08; S, 6.02.

EJEMPLO 3: 5-Amino-3-(5'-O-[α-L-*tert*-butilglicinil]-β-D-ribofuranosil)tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2,7-diona Hidrocloruro (8)



5 Paso 1: Preparación de 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropilidene-5'-N-*tert*-butoxi-carbonil-[α-L-*tert*-butilglicil]-β-D-ribofuranosil)-tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2,7-diona (9)

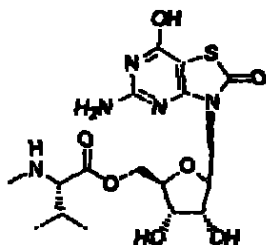
En una forma similar al Paso 2 del Ejemplo 1, se preparó 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropilidene-5'-N-*tert*-butoxicarbonil-[α-L-*tert*-butilglicinil]-β-D-ribofuranosil)-tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2,7-diona 10 en una concentración al 66% a partir de 5-Amino-3-(2,3-O-isopropilidene-β-D-ribofuranosil)-tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2,7-diona 2 y N-α-L-*tert*-butoxiglicina como una espuma casi blanca: ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) δ 11.28 (br s, 1H), 6.70-7.40 (m, 3H), 6.02 (s, 1H), 5.30 (d, *J* = 6.2, 1H), 5.05 (br s, 1H), 4.17-4.24 (m, 3 H), 3.77 (d, *J* = 8.4, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.33 (s, 9H), 1.29 (s, 3H), 0.85 (s, 9H).

20 Paso 2: Preparación de 5-Amino-3-(5'-O-[α-L-*tert*-butilglicil]-β-D-ribofuranosil)-tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2,7-diona (8)

En una forma similar al Paso 3 del Ejemplo 1 se preparó el compuesto del título 8 como un sólido blanco a partir del anterior intermedio en una concentración del 80%: mp 202-203 °C (dec); ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) δ 11.35 (br s, 1H), 8.31 (br s, 3H), 7.08 (br s, 2H), 5.83 (d, *J* = 4.0, 1H), 5.45 (br s, 1H), 5.21 (br s, 1H), 4.77-4.82 (m, 1H), 4.42 (dd, *J* = 11.4, 2.6, 1H), 4.23-4.28 (m, 1H), 3.96-4.04 (m, 1H), 3.74 (s, 1H), 0.97 (s, 9H). El análisis elemental de C₁₆H₂₃N₅O₇S • HCl: calc'd: C, 41.25; H, 5.19; N, 15.03; Cl, 7.61; S, 6.88; mostró: C, 40.41; H, 5.41; N, 14.16; Cl, 7.01; S, 6.23.

96

Ejemplo 4: 5-Amino-3-(5'-O-[α -L-N-metilvalinil]- β -D-ribofuranosil)tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2,7-diona Hidrocloruro (11)



Paso 1: Preparación de 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropilidene-5'-N-tert-

*butoxicarbonil-[α -L-N-metilvalinil]- β -D-ribofuranosil)-tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2,7-diona (12)*

En una forma similar al Paso 2 del Ejemplo, se preparó 1, 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropilidene-5'-N-tert-butoxicarbonil-[α -L-N-metilvalinil]- β -D-ribofuranosil)-tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2,7-diona 12 a una concentración de 63% a partir de 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropilidene- β -D-ribofuranosil)-tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2,7-diona 2 y *N*-tert-butoxi-L-N-metilvalina 13 como una espuma casi blanca: ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) carbamato rotamérico δ 11.28 (br s, 1H), 7.00 (br s, 2H), 6.02 (s, 1H), 5.27 (d, $J = 6.6$, 1H), 5.04 (br s, 1H), 4.14-4.28 (m, 3H), 3.91 (d, $J = 9.5$, 1H), 2.79 (br s, 3H), 2.09 (br s, 1H), 1.46 (s, 3H), 1.36 (s, 4.5H), 1.32 (s, 4.5H), 1.28 (s, 3H), 0.78-0.89 (m, 6H).

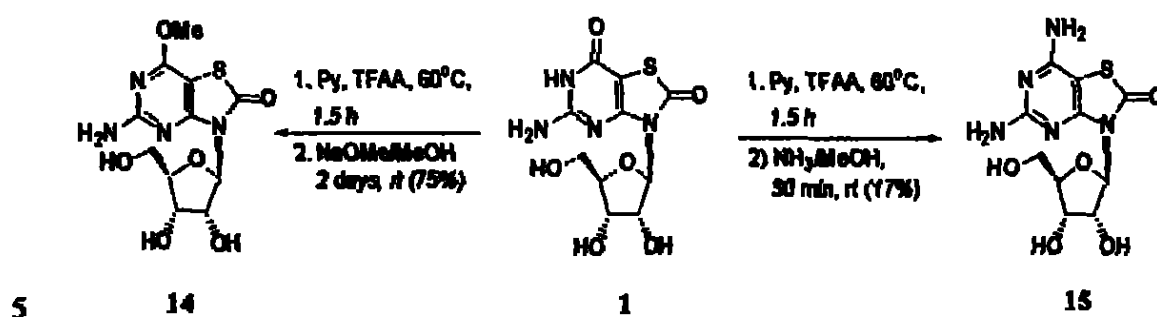
*Paso 2: 5-Amino-3-(5'-O-[α -L-N-metilvalinil]- β -D-ribofuranosil)tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2,7-diona hidrocloruro (11)*

En una forma similar al Paso 3 del Ejemplo 1, se preparó el compuesto del título 11 como un sólido blanco ligeramente impuro del intermedio anterior a una concentración de 60%: mp $>180^\circ\text{C}$ (dec); ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 11.31 (br s, 1H), 9.05 (br s, 2H), 7.05 (br s, 2H), 5.83 (d, $J = 4.4$, 1H), 5.46 (br s, 1H), 5.21 (br s, 1H), 4.76-4.82 (m, 1H), 4.42-4.48 (m, 1H), 4.28-4.38 (m, 1H), 4.22-4.28 (m, 1H), 3.94-4.04 (m, 2H), 2.54 (br s, 3H), 2.23 (br s, 1H), 0.98 (d, $J = 7.0$, 3H), 0.88 (d, $J = 7.0$, 3H). El análisis elemental de $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_7\text{S} \cdot \text{HCl}$: calc'd: C, 41.25; H, 5.02; N, 15.03; S, 6.88; Cl, 7.61; mostró: C, 40.57; H, 5.37; N, 13.57; S, 6.16; Cl, 7.29.

97

Esquema 2

El Esquema 2 muestra un procedimiento general para preparar 5-Amino-7-metoxi-3-β-D-ribofuranosiltiazol[4,5-*d*]pirimidina-2-onas y 5,7-Diamino-3-β-D-ribofuranosiltiazol[4,5-*d*]pirimidin-2-onas.



Ejemplo 5: 5-Amino-3-β-D-ribofuranosil-7-metoxi-tiazol[4,5-*d*]pirimidin-2-ona (14)

Se disolvió anhídrido 1 (2.0 g, 6.3 mmol) en piridina seca bajo una atmósfera de argón. La solución se enfrió a 0 °C, y posteriormente se agregó TFAA (13.3 g, 63 mmol) en forma de gotas a la mezcla. Después de cinco minutos, la reacción se colocó en un baño de aceite a 60 °C durante 1.5 h, y se monitoreó con una TLC (SiO₂, 20% MeOH-CHCl₃) para la formación del catión de piridinio. El material de partida 0.2 R_f se convirtió en el punto de referencia que se tornó azul fluorescente cuando se expuso a una luz UV de 254. En el momento de la conversión al intermedio activado, se agregó una solución fresca de metóxido de sodio (1.8 g Na, 78 mmol, 300 ml metanol) a la reacción a 0 °C. La reacción se dejó calentar hasta alcanzar la temperatura ambiente y se dejó progresar durante dos días. Luego la mezcla se refrescó con 1M NH₄Cl (100 mL) y se extrajo con 25% IPA-CHCl₃ (5 x 100 mL). El material crudo se filtró por un tapón de gel de sílice y luego se concentró para obtener 1.6 g (75%) del compuesto del título 14. Se obtuvo una muestra analítica con el preparado de la TLC (SiO₂; agua, metanol, etil acetato, 5:10:85) como un sólido blanco: mp > 160 °C (dec); [M+H]⁺ 330.9, [2M+H]⁺ 661.1, [3M+H]⁺ 991.0; R_f = 0.6 (20% MeOH-CHCl₃); mp 200.4°C-200.9°C; ¹H NMR (400MHz, *d*₆-DMSO) δ 6.92 (s, 2H), 5.86 (d, *J* = 5.2, 1H), 5.28 (d, *J* = 5.6, 1H), 4.96 (d, *J* = 5.2, 1H), 4.78 (dd, *J* = 10.8, 5.6, 1H), 4.67 (t, *J* = 6.0, 1H), 4.07-4.10 (m, 1H),

99798

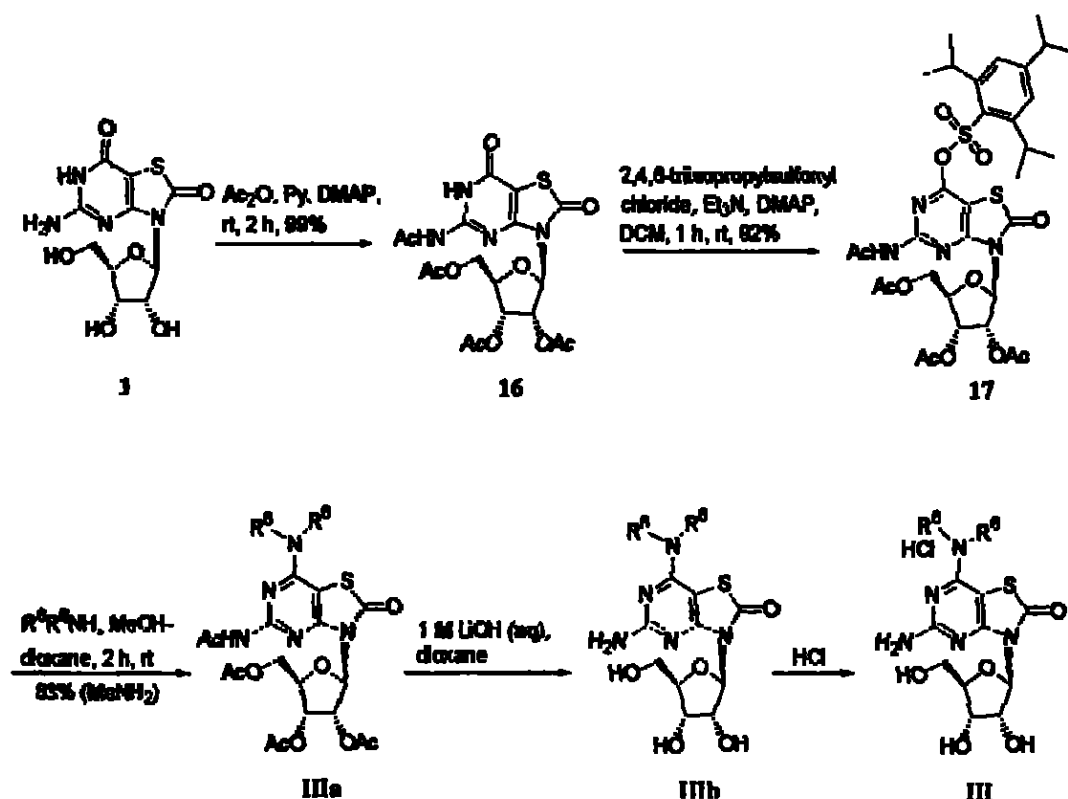
3.91 (s, 3H), 3.70-3.80 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.40-3.45 (m, 1H). El análisis elemental de $C_{11}H_{14}N_4O_6S$: calc'd: C, 40.00; H, 4.27; N, 16.96; S, 9.71; mostró: C, 40.07; H, 4.43; N, 16.71; S, 9.53.

Ejemplo 6: 5,7-Diamino-3-β-D-ribofuranosiltiazol[4,5-d]pirimidin-2-ona (15)

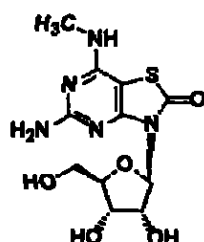
Se disolvió anhídrido 1 (0.3 g, 0.9 mmol) en piridina seca bajo una atmósfera de argón. La solución se enfrió a 0 °C, y posteriormente se agregó TFAA (1.2 mL, 9.5 mmol) en forma de gotas a la mezcla. Después de cinco minutos, la reacción se colocó en un baño de aceite a 60 °C durante 1.5 h, y se monitoreó con TLC (20% MeOH-CHCl₃) para la formación del catión de piridinio. El material de partida 0.2 R_f se convirtió en el punto de referencia que se tornó azul fluorescente cuando se expuso a una luz UV de 254. En el momento de la conversión al intermedio activado, el matraz de reacción se colocó en un baño de hielo. Después de permitir que la temperatura se equilibrara, se agregó NH₃ (25 mL) acuoso al 30% en forma de gotas hasta que la exotermia cesó, y se agregó el resto. A los pocos minutos se formó el producto como lo indicó la TLC analítica R_f 0.25 (SiO₂, 20% MeOH-CHCl₃). El matraz se calentó a temperatura ambiente durante 30 min, luego se retiró el gas de la solución acuosa bajo un vacío por rotación y luego se extrajo con 25% IPA-CHCl₃ (5 x 100 mL). El producto se sometió a una cromatografía instantánea (SiO₂, 10% MeOH-CHCl₃), produciendo 55 mg (17%) del compuesto del título 15 ligeramente impuro. Se obtuvo una muestra analítica con el preparado de la TLC (SiO₂; agua-MeOH- EtOAc, 5:10:85) como un sólido blanco: mp > 155 °C (dec); [M+H]⁺ 316.0; R_f = 0.25 (SiO₂, 20% MeOH-CHCl₃); ¹H NMR (400MHz, d₆-DMSO) δ 6.76 (s, 2H), 6.14(s, 2H), 5.85 (d, J = 5.2, 1H), 5.22 (d, J = 4.8, 1H), 4.92 (d, J = 2.8, 1H), 4.70-4.83 (m, 2H), 4.05-4.10 (m, 1H), 3.65-3.80 (m, 1H), 3.52-3.62 (m, 1H) 3.40-3.50 (m, 1H). El análisis elemental de C₁₀H₁₃N₅O₅S • ½ H₂O: calc'd: C, 37.03; H, 4.35; N, 21.59; S, 9.89; mostró: C, 37.27; H, 4.32; N, 20.43; S, 10.11.

99

Esquema 3



Ejemplo 7: 5-Amino-7-Metilamino-3-β-D-ribofuranosil)thiazol[4,5- 5 d]pirimidina-2-ona (18)



Paso 1: Preparación de 5-Acetilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D- ribofuranosil)thiazol[4,5-d]pirimidina-2,7(6H)-diona (16)

10 Se disolvió anhídrido 1 (8.0 g, 39.5 mmol) en piridina seca (65 mL). Se
 agregó DMAP (3.1g, 25.3 mmol) y anhídrido acético (19.1 mL 202.4
 mmol) en forma secuencial. Se permitió que la reacción progresara durante
 2 h a temperatura ambiente y luego se refrescó con NaHCO₃ (100 mL)
 saturado y se extrajo con DCM (3 x 200 mL). La fase orgánica se concentró
 15 y luego se trituró con éter. Esto produjo 12.5 g (103%) de 5-acetilamino-3-
 (2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)thiazol-[4,5-d]pirimidina-2,7(6H)-diona
 ligeramente impuro como un sólido blanco 16: mp 246.7-248.1 °C; R_f =

100
100

0.20 (SiO₂, 50% EtOAc-CHCl₃); ¹H NMR (400MHz, d₆-DMSO) δ 12.23 (s, 1H), 11.85 (s, 1H), 5.97 (m, 2H), 5.48 (t, J = 6, 1H), 4.35-4.40 (m, 1H), 4.25-4.31 (m, 1H), 4.08-4.18 (m, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 2.00 (s, 3H).

5 **Paso 2: Preparación de 5-Acetilamino-7-(2,4,6-triisopropilbenzenesulfonilo)-3-**

(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)tiazol[4,5-d]pirimidina-2-ona (17)

El intermedio del Paso 1 arriba (500 mg, 0.98 mmol) se disolvió en DCM (15 mL) a temperatura ambiente. Se agregó DMAP (7.3 mg, 0.06
10 mmol), y TEA (16 ml, 11 mmol) a la solución, seguido de 2,4,6-triisopropilbenzenesulfonil cloruro (454 mg, 1.5 mmol). Después de 1 h la reacción se había completado, la mezcla cruda se había concentrado y luego se purificó por medio de una cromatografía instantánea (SiO₂, 10% EtOAc-CHCl₃), obteniendo 690 mg (92%) de 5-acetilamino-7-(2,4,6-triisopropil-
15 benzenesulfonilo)-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)tiazol[4,5-d]pirimidina-2-ona como un sólido espumoso blanco 17: 74.5-76.3 °C; R_f= 0.7 (SiO₂, 20% EtOAc-CHCl₃); ¹H (400MHz, d₆-DMSO) δ 10.83 (s, 1H), 7.39 (s, 2H), 6.03 (d, J = 4.0, 1H), 5.91-5.96 (m, 1H), 5.69 (t, J = 6.4, 1H), 4.30-4.70 (m, 1H), 4.22-4.26 (m, 1H), 4.16-4.20 (m, 1H), 3.90-4.00 (m, 2H),
20 2.97-3.01 (m, 1H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.88 (s, 3H), 1.17-1.25 (m, 18H).

Paso 3: Preparación de 5-Acetilamino-7-metilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-

ribofuranosil)tiazol[4,5-d]pirimidina-2-ona (19)

25 El intermedio del Paso 2 arriba (1.7 g, 2.27 mmol) se disolvió en dioxano (20 mL) a temperatura ambiente. A lo anterior se le agregó 2.0 M de solución de metilamina (3.4 mL, 6.8 mmol) en metanol. Después de 2 h se consumió el material de partida. La mezcla de la reacción se concentró y luego se purificó por medio de una cromatografía instantánea (SiO₂,
30 levigación gradiente, 20-80% EtOAc-CHCl₃), obteniendo 945 mg (83%) del compuesto del título como un aceite amarillo: [M+H]⁺ 498.2, [2M+H]⁺ 995.4; R_f = 0.55 (10% CH₃OH-CHCl₃); ¹H NMR (400MHz, d₆-DMSO) δ

10/2/20

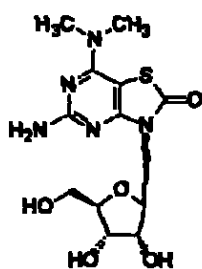
10.13 (s, 1H), 7.70 (d, $J = 4.41$, 1H), 5.95-6.02 (m, 2H), 5.69 (s, 1H), 4.35-4.39 (m, 1H), 4.16-4.23 (m, 2H), 2.90 (d, $J = 4.8$, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.00 (s, 3H).

Paso 4: Preparación de -5-Amino-7-Metilamino-3- β -D-ribofuranosil)tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2-ona (18)

El intermedio del Paso 3 arriba (420 mg, 0.85 mmol) se disolvió en dioxano (4 mL), y se agregó 1 M LiOH (8.5 mL, 8.5 mmol) a la solución. Los grupos *O*-acetilo se retiraron a los 40 min para obtener el intermedio a $R_f = 0.15$ (SiO₂, 5% MeOH-EtOAc). Después de 2 h se retiró el *N*-acetilo como lo indicó la TLC $R_f = 0.20$ (SiO₂, 5% MeOH-EtOAc). La mezcla de la reacción se neutralizó con ácido acético estequiométrico extraído con 25% IPA-CHCl₃, y luego concentrado para obtener 195 mg (70%) de 18. Se obtuvo una muestra analítica del compuesto del título 18 con el preparado de la TLC (SiO₂; agua-MeOH-EtOAc, 10:20:70) como un sólido blanco: $[M+H]^+$ 330.0; $R_f = 0.20$ (5% MeOH-EtOAc); mp > 108 °C; ¹H NMR (400MHz, *d*₆-DMSO) δ 7.06 (d, $J = 3.6$, 1H), 6.24 (s, 2H), 5.85 (d, $J = 5.2$, 1H), 5.22 (d, $J = 4.8$, 1H), 4.93 (d, $J = 5.2$, 1H), 4.70-4.80 (m, 2H), 4.07 (d, $J = 4.8$, 1H), 3.75 (d, $J = 4.4$, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.40-3.50 (m, 1H), 2.82 (d, $J = 4.4$, 3H).

20

Ejemplo 8: 5-Amino-7-dimetilamino-3- β -D-ribofuranosiltiazol[4,5-*d*]pirimidina-2-ona (20)



Paso 1: Preparación de 5-Acetilamino-7-dimetilamino-3-(2',3',5'-tri-*O*-acetil-

25

β -D-ribofuranosil)-tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2-ona

En una forma similar al Ejemplo 7, Paso 2, se generó 5-acetilamino-7-dimetilamino-3-(2',3',5'-tri-*O*-acetil- β -D-ribofuranosil)-tiazol[4,5-

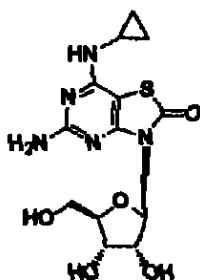
102

d]pirimidina-2-ona en una concentración al 80% como un aceite amarillo: M^+ 511.14; R_f = 0.70 (SiO_2 , 10% MeOH- CHCl_3); ^1H NMR (400MHz, d_6 -DMSO) δ 10.15 (s, 1H), 6.10-6.15 (m, 1H), 5.98-6.09 (m, 1H), 5.5.66-5.70 (m, 1H), 4.35-4.40 (m, 1H), 4.22-4.27 (m, 1H), 4.14-4.08 (m, 1H), 3.18 (s, 6H), 2.19 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.99 (s, 3H).

Paso 2: Preparación de 5-Amino-7-dimetilamino-3- β -D-ribofuranosiltiazol[4,5-*d*]pirimidina-2-ona (20)

En una forma similar al Ejemplo 7, Paso 3, se generó el compuesto del título 20 en una concentración al 82%. Se obtuvo una muestra analítica el preparado de la TLC (SiO_2 ; agua-MeOH-EtOAc, 10:20:70) como un sólido blanco: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 344.0; $[2\text{M}+\text{H}]^+$ 687.4; mp > 112 °C; R_f = 0.20 (5% MeOH-EtOAc); ^1H NMR (400MHz, d_6 -DMSO) δ 6.27 (s, 2H), 5.91 (d, J = 4.8, 1H), 5.22 (d, J = 6.0, 1H), 4.93 (d, J = 5.2, 1H), 4.71-4.76 (m, 2H), 4.07-4.09 (m, 1H), 3.7-3.8 (m, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.09 (s, 6H). El análisis elemental de $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$: calc'd: C, 41.98; H, 4.99; N, 20.40; mostró: C, 41.32; H, 5.14; N, 18.59.

Ejemplo 9: sal 5-Amino-7-ciclopropilamino-3- β -D-ribofuranosiltiazol[4,5-*d*]pirimidina-2-ona monohidrocloreuro (21)



Paso 1: Preparación de 5-Acetilamino-7-ciclopropilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosil)-tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2-ona

En una forma similar al Ejemplo 3, Paso 2, se generó 5-acetilamino-7-ciclopropilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosil)-tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2-ona a una concentración de 80% como un aceite amarillo: R_f = 0.45 (SiO_2 , 75% EtOAc- CHCl_3); ^1H NMR (400MHz, d_6 -DMSO) δ 10.11

103

(s, 1H), 7.87 (d, $J = 2.8$, 1H), 5.98-6.01 (m, 1H), 5.70-5.76 (s, 1H), 4.32-4.39 (m, 1H), 4.16-4.30 (m, 2H), 3.85 (s, 1H), 2.87 (s, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 0.73-0.76 (m, 2H), 0.57-0.60 (m, 2H).

5 **Paso 2: Preparación de 5-Amino-7-ciclopropilamino-3- β -D-ribofuranosiltiazol[4,5- d]pirimidina-2-ona**

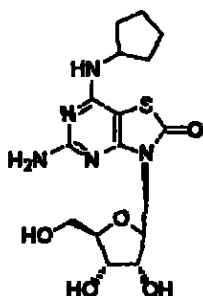
En una forma similar al Ejemplo 7, Paso 3, se generó 5-amino-7-ciclopropilamino-3- β -D-ribofuranosiltiazol[4,5- d]pirimidina-2-ona a una concentración de 79%. Se obtuvo una muestra analítica el preparado de la
10 TLC (SiO₂; agua-MeOH-EtOAc, 10:20:70) como un sólido blanco: $R_f = 0.20$ (5% MeOH-EtOAc); mp > 100 °C; $[M+H]^+$ 356.0; ¹H (400MHz, d_6 -DMSO) δ 7.24 (s, 1H), 6.28 (s, 2H), 5.86 (d, $J = 5.6$, 1H), 5.22 (d, $J = 6$, 1H), 4.92 (d, $J = 5.2$, 1H), 4.70-4.80 (m, 2H), 4.05-4.10 (m, 1H), 3.7-3.8 (m, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.45-3.50 (m, 1H), 2.8 (s, 1H), 0.68-0.70 (m, 2H),
15 0.54-0.57 (m, 2H).

Paso 3: Preparación de sal de hidrocloreuro 5-Amino-7-ciclopropilamino-3- β -D-ribofuranosiltiazol[4,5- d]pirimidina-2-ona (21)

El compuesto del título se preparó adicionando el material sólido
20 preparado en el Paso 2 arriba revolviendo vigorosamente 4 M de HCl en dioxano, obteniendo el compuesto del título como un sólido blanco: mp > 99 °C; ¹H NMR (400MHz, d_6 -DMSO) δ 7.25 (d, 1H, $J = 2.8$, 1H), 6.23 (s, 2H), 5.87 (d, $J = 5.2$, 1H), 5.21 (bs, 1H), 4.98 (bs, 1H), 4.73-4.79 (m, 2H), 4.09 (t, $J = 5.6$, 1H), 3.72-3.79 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.45-3.37 (m, 1H),
25 2.75-2.82 (m, 1H), 0.72-0.79 (m, 2H), 0.55-0.63 (m, 2H). El análisis elemental de C₁₃H₁₇N₅O₅S•HCl: calc'd: C, 39.85; H, 4.63; N, 17.87; Cl, 9.05; mostró: C, 39.66; H, 4.85; N, 16.57; Cl, 8.13.

Ejemplo 10: 5-Amino-7-ciclopentilamino-3- β -D-ribofuranosiltiazol[4,5- d]pirimidina-2-ona (22)

30



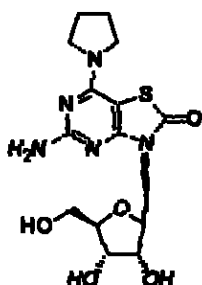
Paso 1: Preparación de 5-Acetilamino-7-pirrolidino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosil)-thiazol[4,5-d]pirimidina-2-ona

En una forma similar al Ejemplo 7, Paso 2, se generó 5-acetilamino-7-pirrolidino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosil)-thiazol[4,5-d]pirimidina-2-ona a una concentración de 70%. Se obtuvo una muestra analítica el preparado de la TLC (SiO_2 ; agua-MeOH-EtOAc, 10:20:70) como un sólido blanco: mp > 108 °C (dec); R_f = 0.80 (10% agua y 20% metanol en etil acetato); $[M+H]^+$ 384.0; ^1H NMR (400MHz, d_6 -DMSO) δ 7.00 (d, J = 7.2, 1H), 6.17 (s, 2H), 5.18 (d, J = 5.2, 1H), 5.21 (d, J = 5.6, 1H), 4.92 (d, J = 5.6, 1H), 4.74-4.80 (m, 2H), 4.30-4.35 (m, 1H), 4.05-4.10 (m, 1H), 3.70-3.80 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.30-3.45 (m, 1H), 1.40-2.0 (m, 8H).

Paso 2: Preparación de 5-Amino-7-ciclopentilamino-3- β -D-ribofuranosiltiazol[4,5-d]pirimidina-2-ona

En una forma similar al Ejemplo 7, Paso 3, se generó el compuesto del título 22 a una concentración de 70%. Se obtuvo una muestra analítica con el preparado de la TLC (SiO_2 ; agua-MeOH-EtOAc, 10:20:70) como un sólido blanco: mp > 108 °C (dec); R_f = 0.80 (10% agua y 20% metanol en etil acetato); $[M+H]^+$ 384.0; ^1H NMR (400MHz, d_6 -DMSO) δ 7.00 (d, J = 7.2, 1H), 6.17 (s, 2H), 5.18 (d, J = 5.2, 1H), 5.21 (d, J = 5.6, 1H), 4.92 (d, J = 5.6, 1H), 4.74-4.80 (m, 2H), 4.30-4.35 (m, 1H), 4.05-4.10 (m, 1H), 3.70-3.80 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.30-3.45 (m, 1H), 1.40-2.0 (m, 8H).

Ejemplo 11: 5-Amino-7-pirrolidino-3- β -D-ribofuranosiltiazol[4,5-d]pirimidina-2-ona (23)



105

Paso 1): Preparación de 5-Acetilamino-7-pirrolidino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-

ribofuranosil)thiazol[4,5-d]pirimidina-2-ona

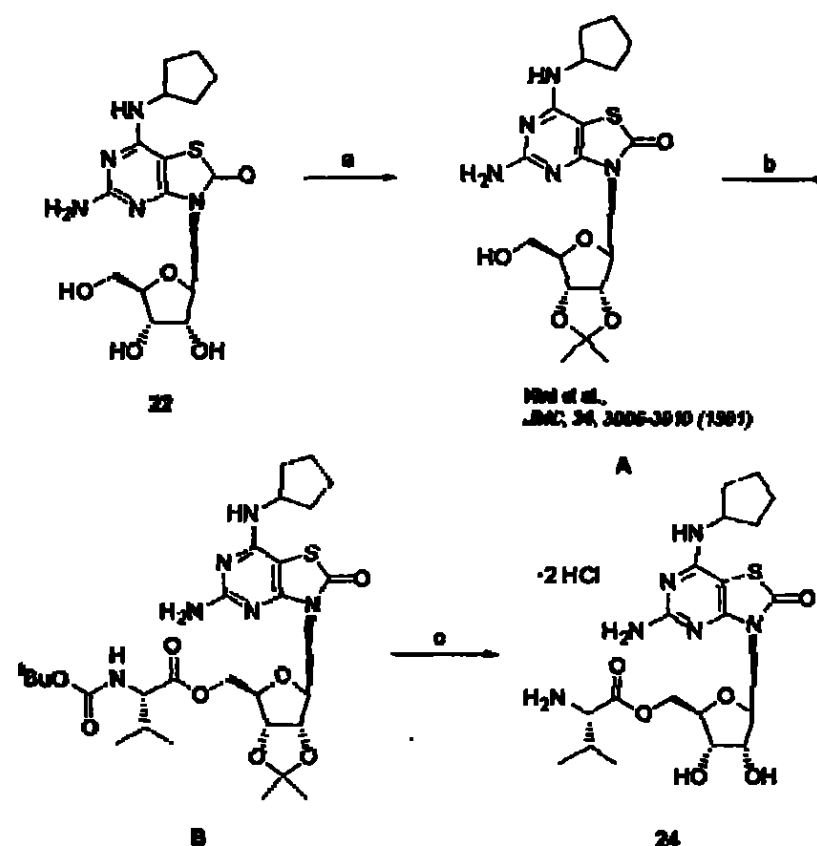
5 En una forma similar al Ejemplo 7, Paso 2, se generó 5-acetilamino-7-pirrolidino-3-(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-thiazol[4,5-d]pirimidina-2-ona a una concentración de 79% como un aceite amarillo: $[M+H]^+$ 538.1; R_f = 0.80 (SiO₂, agua-MeOH-EtOAc, 10:20:70); ¹H (400MHz, d₆-DMSO) δ 10.04 (s, 1H), 5.97-6.02 (m, 2H), 5.68 (s, 1H), 4.38 (dd, J = 11.6, 3.6, 1H),
10 4.15-4.23 (m, 2H), 3.58 (s, 4H), 2.23 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.89 (s, 4H).

Paso 2: Preparación de 5-Amino-7-pirrolidino-3-β-D-ribofuranosilthiazol[4,5-d]pirimidina-2-ona

15 En una forma similar al Ejemplo 7, Paso 3, se generó el compuesto del título 23 a una concentración de 81%. Se obtuvo una muestra analítica con el preparado de la TLC (SiO₂; agua-MeOH-EtOAc, 10:20:70) como un sólido: mp > 112.4 °C (dec); $[M+H]^+$ 370.3; ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 6.22 (s, 2H), 5.90 (d, J = 4.8, 1H), 5.23 (d, J = 5.2, 1H), 4.94 (d, J = 4.4, 1H), 4.68-4.75 (m, 2H), 4.08 (d, J = 4.8, 1H), 3.71-3.76 (m, 1H), 3.55 (bs, 5H), 3.38-3.54 (m, 1H), 1.87 (s, 4H).

Esquema 4

Handwritten signature and "pb" in the top right corner.



- a) 2,2-dimethoxypropane, acetone, DMSO, MeSO_3H , 0°C
- b) BOC-L-valine, EDC, DMAP, PhMe, 0°C - rt
- c) anhyd. HCl, PrOAc , PrOH

- a) 2,2-dimethoxypropane, acetone, DMSO, MeSO_3H , 0°C
- b) BOC-NHCHR¹CO₂H, EDC, DMAP, PhMe, 0°C
- c) anhyd. HCl, PrOAc , PrOH

5

Ejemplo 12: 5-Amino-7-ciclopentilamino-3-(5'-O-L-valinil)-β-D-ribofuranosil)tiazol[4,5-d]pirimidina-2-ona Hidrocloruro (24)

Con un batido vigoroso se disuelve el intermedio B en una solución de cloruro hidrógeno anhidro en isopropil acetato a 0°C y se deja calentar a temperatura ambiente. A la mezcla heterogénea se agrega isopropil acetato adicional. La mezcla de la reacción se revuelve durante 12 horas más. Se agrega tolueno y el producto se filtra y se seca al vacío para obtener la sal di-HCl 24 desecada.

Los intermedios se preparan de la siguiente forma:

- 15 5-Amino-7-ciclopentilamino-3-(2',3'-O-isopropilidene-β-D-ribofuranosil)tiazol[4,5-d]pirimidina-2-ona (A)

El compuesto A se prepara de acuerdo con el procedimiento Kini y colaboradores, revolviendo una mezcla de 5-amino-7-ciclopentilamino-3-β-

107

D-ribofuranosiltiazol[4,5-*d*]pirimidina-2-ona **22** con acetona, DMSO, ácido metanosulfónico y un exceso de dímetoxipropano a 0 °C hasta que se consume el material de partida. La mezcla de la reacción se agrega a agua con hielo y se neutraliza a pH 7 con NaHCO₃ saturado y se extrae con EtOAc. La capa orgánica se concentra y se somete a una cromatografía de columna en sílice generando el producto diol 2',3'-protegido.

*5-Amino-7-ciclopentilamino-3-(5'-O-(N-(tert-butoxicarbonil)-L-valinil)-2',3'-O-isopropilideno-β-D-ribofuranosil)tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2-ona (B)*

Se agrega a una solución de 1.0 equivalente de *N*-(tert-butoxicarbonil)-L-valina en la THF a 0 °C se agrega 1.1 equivalente de EDC. Después de revolver durante 30 minutos, se agrega 1.0 equivalente de 5-amino-7-ciclopentil-3-(2',3'-O-isopropilideno-β-D-ribofuranosil)tiazol[4,5-*d*]pirimidina-2-ona, **A**, y 1.5 equivalente de DMAP. La mezcla de la reacción se calienta a temperatura ambiente y se deja revolver durante 5 horas y se concentra. El residuo se disuelve en EtOAc, se porciona con 1 N HCl y se neutraliza con NaHCO₃ (10 mL) acuosa saturada. La fase acuosa se extrae aún más con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se evaporan al vacío para obtener el intermedio **B** que se purifica por una cromatografía de columna en sílice.

20 PRUEBAS BIOLÓGICAS

La capacidad de los compuestos de la Fórmula I para exhibir unas características favorables en la administración oral y para inducir las respuestas inmunes cuando se administran por medio de una ruta seleccionada se demostró fácilmente en experimentos con ratones y con perros beagle. Los resultados de estas mediciones para los compuestos de la Fórmula I se pueden comparar con los resultados de experimentos similares con los compuestos descritos en la literatura referenciada en la presente divulgación (por ejemplo las Patentes de Estados Unidos Nos. 5,041,426 y 4,880,784) para revelar las ventajas de los compuestos de la Fórmula I con respecto a las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas.

108

Concentraciones de Interferona Alfa (Mu-IFN- α) en Ratones

El ratón normal ofrece un sistema útil para la evaluación del grado hasta el cual las invenciones aquí descritas proveen una mejora importante en la administración oral de 1 (isatoribina). No solo se puede medir las concentraciones en plasma de isatoribina que se exhiben por la administración oral del (de los) citado(s) profármaco(s) sino también la extensa investigación inmunológica efectuada en los ratones ha suministrado unos reactivos adecuados para medir los niveles de interferona alfa, una citosina de interés que refleja una de las actividades biológicas deseadas de la isatoribina.

Hemos empleado el sistema de murina en una serie de experimentos que demostraron que 3 el éster 5'-valina de 1 (val-isatoribina) produce una respuesta de interferona sustancialmente mejorada frente a la que se produce con la administración de la isatoribina misma.

La Tabla 1 registra los resultados de un ensayo con interferona alfa murina en el plasma de ratones que recibieron dos dosis de isatoribina, formuladas en bicarbonato, a razón de 50 mg/kg por la ruta oral. Es evidente que no se pudo medir la interferona incluso cuando se repitió la dosis después de un intervalo de cuatro horas.

Tabla 1
Concentración en Plasma de Interferona Alfa (Mu-IFN- α) (pg/ml.) en Ratones Después de Dos Dosis Orales de Isatoribina a Razón de 50 mg/kg con un Intervalo de 4 Horas.

Hora, h	Valor Individual			Media	SD
Primera Dosis					
0.00	BQL ⁵⁰	BQL ¹²⁵	BQL ⁵⁰	0.00	0.00
0.03	BQL ²⁵	BQL ²⁵⁰	BQL ²⁵	0.00	0.00
0.08	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
0.25	BQL ⁵⁰	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
0.50	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
1.00	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
1.50	BQL ¹⁰⁰	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00

Handwritten signature and page number 109.

2.00	BQL ²⁵	BQL ⁷⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
3.00	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.00	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00

Segunda Dosis

4.03	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.08	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.25	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.50	BQL ⁵⁰	BQL ^{37.5}	BQL ⁵⁰	0.00	0.00
5.00	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	0.00	0.00
5.50	BQL ^{37.5}	BQL ^{37.5}	BQL ^{37.5}	0.00	0.00
6.00	BQL ⁵⁰	BQL ^{41.3}	BQL ^{37.5}	0.00	0.00
7.00	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	0.00	0.00
8.00	BQL ⁵⁰	BQL ²⁵	BQL ⁵⁰	0.00	0.00

BQLⁿ – Por Debajo del Límite Cuantificable Elevado < n pg/mL.

La Tabla 2 registra los resultados de ensayos de interferona alfa de murina en el plasma de ratones que recibieron primero una dosis de bicarbonato y luego cuatro horas más tarde recibieron una dosis oral de isatoribina, formulada en bicarbonato a razón de 50 mg/kg. La interferona se reportó en el plasma de cuatro ratones, incluyendo dos que habían recibido la dosis de bicarbonato como vehículo. Todos los valores registrados en este experimento fueron bajos, y los niveles de interferona reportados no se reportaron en forma consistente para los tres ratones evaluados en cada punto en el tiempo, sugiriendo que estas señales pueden ser sustancias que surgen debido a que las mediciones se hicieron cerca de los límites inferiores del ensayo.

Tabla 2

Concentración en Plasma de Interferona Alfa (Mu-IFN-α) (pg/mL) en Ratones Después de Recibir una Dosis de Vehículo y Una Dosis de Isatoribina a Razón de 50 mg/kg 4 Horas más Tarde

110

tiempo, h	Valor Individual			Media	SD
Primera Dosis					
0.00	BQL ⁵⁰	BQL ¹⁰⁰	BQL ^{62.5}	0.00	0.00
0.03	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ^{37.5}	0.00	0.00
0.08	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	0.00	0.00
0.25	BQL ⁵⁰	BQL ^{62.5}	BQL ⁵⁰	0.00	0.00
0.50	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	0.00	0.00
1.00	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ¹⁰⁰	0.00	0.00
1.50	BQL ⁵⁰	BQL ¹⁰⁰	BQL ⁵⁰	0.00	0.00
2.00	34.9	BQL ²⁵	BQL ²⁵	11.6	20.15
3.00	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.00	BQL ²⁵	35.4	BQL ¹⁰⁰	11.8	20.44
Segunda Dosis					
4.03	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.08	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.25	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
4.50	BQL ¹⁰⁰	BQL ²⁵	133.2	44.4	76.90
5.00	74.9	BQL ⁵⁰	NR	37.5	52.96
5.50	BQL ²⁵⁰	BQL ⁷⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
6.00	BQL ²⁵	BQL ⁷⁵	BQL ⁷⁵	0.00	0.00
7.00	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ²⁵	0.00	0.00
8.00	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00

BQLⁿ – Por Debajo del Límite Cuantificable Elevado < n pg/mL.
 NR – No es Reportable

5 La Tabla 3 registra los resultados de ensayos de interferona alfa de murina en el plasma de ratones que recibieron dosis orales de val-isatoribina, disueltas en bicarbonato, a una dosis equivalente a 50/mg/kg de isatoribina sobre una base molar. Es evidente que fue muy fácil medir la interferona 1.0 hora, 1.5 horas y 2.0 horas después de administrar la dosis. La

10 interferona se detectó en todos los ratones del ensayo en determinado punto en el tiempo indicando la confiabilidad del efecto después de la administración de val-isatoribina. Por lo tanto, una sola dosis de val-

2
111

isatoribina fue superior tanto a una sola dosis o a una dosis repetida de isatoribina.

Tabla 3
Concentración en Plasma de Interferona Alfa (pg/mL) (Mu-IFN-α) en
5 Ratones Después de Administrar una Sola Dosis de Val-Isatoribina a
Razón de 73.0 mg/kg

Hora, h	Valor Individual			Media	SD
0.00	BQL	BQL ¹²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00
0.25	BQL	BQL	BQL	0.00	0.00
0.50	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL	0.00	0.00
0.75	BQL	BQL	BQL ²⁵	0.00	0.00
1.00	173.2	125.1	89.0	129.1	42.24
1.50	202.9	145.9	294.8	214.5	75.13
2.00	49.2	137.9	138.3	108.5	51.33
3.00	BQL ²⁵	NR	NR	0.00	0.00
4.00	BQL ²⁵	27.6	BQL	9.20	15.90
5.00	BQL	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0.00	0.00

BQL – Por Debajo del Límite Cuantificable < 12.5 pg/mL
BQLⁿ – Por Debajo del Límite Cuantificable Elevado < n pg/mL
10 NR – No es Reportable

Los datos tabulados en las Tablas 1, 2 y 3 también se pueden considerar desde el punto de vista de la incidencia de unos niveles de interferona medibles. La interferona se detectó únicamente en el plasma de
15 4 de los 114 ratones empleados en los estudios con isatoribina, mientras que
10 de los 30 ratones que recibieron dosis de val-isatoribina tenían interferona detectable en su plasma. Por lo tanto el profármaco aumentó la proporción de ratones exhibiendo una respuesta de interferona de 4% a 30 % y la magnitud tanto del promedio como de las repuestas pico se duplicó.

20 En otros experimentos, los niveles de isatoribina y de interferona alfa en plasma se midieron en ratones que recibieron dosis de isatoribina por la ruta intravenosa, y estos niveles se compararon con los niveles de isatoribina e interferona alfa que surgieron después de la administración oral de val- isatoribina. Estos datos se resumen en la Figura 1. En esta Figura

2/12

es evidente que los niveles de interferona alfa inducidos por la val-isatoribina oral ("val-isator") (a razón de 50mg/kg equivalente a isatoribina molar) fueron similares a los de la isatoribina intravenosa ("isator") a razón de 25 mg/kg. Por lo tanto, la val-isatoribina oral provee unos niveles de isatoribina y de interferona aproximadamente del 50% de los que se observan después de la administración intravenosa de la isatoribina misma.

Perro Beagle

Se investigó el efecto de un profármaco (val-isatoribina, 3) sobre la exposición sistémica a la isatoribina (1) después de la administración oral a perros beagle. La isatoribina se preparó en una solución de bicarbonato de sodio. La val-isatoribina y la isatoribina se prepararon de acuerdo con las siguientes formulaciones, que se escogieron para garantizar la solubilidad:

Formulación 1: Isatoribina en una solución de bicarbonato de sodio, 1 y 4 mg/mL.

Formulación 2: Val-isatoribina en fosfato amortiguado salino, 1.62 y 6.48 mg/mL, equivalente a 1 y 4 mg/mL de isatoribina sobre una base molar.

Se utilizaron cuatro perros adultos beagle machos y cuatro hembras adultas beagle que pesaron entre 15 y 27 kg y aproximadamente de entre 1 y 2 años de edad en el comienzo del estudio. Los animales se dividieron en dos grupos cada uno con dos machos y dos hembras. El material de prueba se administró por sonda nasogástrica los Días 1 y 8, dejando un periodo de reposo farmacológico de 7 días entre cada administración. Se recolectaron muestras de sangre (2 mL) de cada animal antes de la dosis 15, 30 minutos, 1, 2, 3, 4, 6, 8 y 10 horas en tubos de litio y heparina después de cada dosis. El plasma se congeló a -70 °C hasta su análisis. El plasma se analizó para buscar isatoribina por medio de un ensayo HPLC-MS/MS.

Los parámetros farmacocinéticos para la isatoribina que se presentaron por la isatoribina o la val-isatoribina en cada perro se resumen en las Tablas 4 y 5. Las proporciones de los parámetros farmacocinéticos clave que definen la concentración máxima (C_{max}) y la exposición total como se mide por el área por debajo de la curva tiempo-concentración

113

(AUC) para el profármaco y la solución de bicarbonato a la dosis de 50 mg/kg se resumen en la Tabla 6. Para el profármaco 3, la proporción de la Cmax fue de 2.98 ± 0.695 y la proporción de la AUC fue de 2.38 ± 0.485 . Estos resultados indican que a una dosis de 50 mg/kg, el profármaco val-isatoribina evidenció una Cmax sustancialmente mayor y una mayor disponibilidad que la isatoribina en la solución de bicarbonato.

Las proporciones de la Cmax y de la AUC para el profármaco con la solución de bicarbonato para la dosis de 10 mg/kg se resumen en la Tabla 7. Para el profármaco, la proporción de la Cmax fue de 2.24 ± 0.249 y la proporción de la AUC fue de 1.82 ± 0.529 . Estos resultados indican que a una dosis de 10 mg/kg, el profármaco val-isatoribina suministró una Cmax mayor y una mayor biodisponibilidad que la isatoribina en una solución de bicarbonato.

Por lo tanto las concentraciones máximas de isatoribina alcanzadas después de una dosis oral por lo menos se doblan, la exposición sistémica a la isatoribina se mejora prácticamente al doble después de la administración oral del profármaco val- isatoribina, comparado con la isatoribina misma, en las dosis tanto de 10 como de 50 mg/kg.

20

Tabla 4

Parámetros Farmacocinéticos de Isatoribina en Perros con Dosis de 50 mg/kg

	Periodo Dosis	1	2
		Isatoribi na	Val- isatoribi na
Número del Animal	Dosis, mg/kg molar equivalente isatoribina	50	50
Perro 3517322	Cmax, ng/mL	3038.7	11741.5
	Tmax, h	0.50	0.50

114

	AUC(0-inf), ng·h/mL	15227.0	33038.1
	T _{1/2} , h	6.4	2.4
Perro 3521451	C _{max} , ng/mL	3354.0	10652.1
	T _{max} , h	1.00	1.00
	AUC(0-inf), ng·h/mL	9422.2	26552.7
	T _{1/2} , h	1.9	1.6
Perro 3528707	C _{max} , ng/mL	8915.3	20340.6
	T _{max} , h	0.50	0.50
	AUC(0-inf), ng·h/mL	29701.7	53273.0
	T _{1/2} , h	2.2	2.3
Perro 3532828	C _{max} , ng/mL	6134.7	15987.9
	T _{max} , h	0.50	0.50
	AUC(0-inf), ng·h/mL	12069.7	32987.0
	T _{1/2} , h	1.4	1.6

11/6/15

Tabla 5
Parámetros Farmacocinéticos de Isatoribina en Perros
con Dosis de 10 mg/kg

Número del Animal	Periodo Dosis	1	2
	Formulación	Isatoribi na	Val- isatoribi na
	Dosis, mg/kg	10	10
	molar equivalente isatoribina		
Perro 3524523	Cmax, ng/mL	4091.5	8594.6
	Tmax, h	1.00	0.50
	AUC(0-inf), ng·h/mL.	13305.8	17166.2
	T _{1/2} h	2.1	1.7
Perro 3526402	Cmax, ng/mL	1859.5	4047.0
	Tmax, h	1.00	1.00
	AUC(0-inf), ng·h/mL	5774.4	10548.9
	T _{1/2} h	1.6	2.2
Perro 357450	Cmax, ng/mL	1620.3	4228.7
	Tmax, h	0.50	1.00
	AUC(0-inf), ng·h/mL	4387.3	11158.0
	T _{1/2} h	1.5	2.3

7/16

Perro 354708	C _{max} , ng/mL	2781.2	5784.8
	T _{max} , h	0.50	0.50
	AUC(0-inf), ng·h/mL	7522.1	12259.1
	T _{1/2} , h	1.6	2.0

117

Tabla 6
Proporción de Parámetros Farmacocinéticos de Isatoribina en Perros
con Dosis de 50 mg/kg

Número del Animal	Formulación	Isatoribi na	Val- isatoribi na
Perro 3517322	Cmax Ratio	1.00	3.86
	AUC Ratio	1.00	2.17
Perro 3521451	Cmax Ratio	1.00	3.18
	AUC Ratio	1.00	2.82
Perro 3528707	Cmax Ratio	1.00	2.28
	AUC Ratio	1.00	1.79
Perro 3532828	Cmax Ratio	1.00	2.61
	AUC Ratio	1.00	2.73
	Mean	Cmax N/A	2.98
	Ratio		
	SD	Cmax N/A	0.695
	Ratio		
	Mean	AUC N/A	2.38
	Ratio		
	SD	AUC N/A	0.485
	Ratio		

11/9/18

Tabla 7
Proporción de Parámetros Farmacocinéticos de Isatoribina en Perros
con Dosis de 10 mg/kg

Número del Animal	Formulación	Isatoribi na	Val- isatoribi na
Perro 3524523	C _{max} Ratio	1.00	2.10
	AUC Ratio	1.00	1.29
Perro 3526402	C _{max} Ratio	1.00	2.18
	AUC Ratio	1.00	2.20
Perro 3527450	C _{max} Ratio	1.00	2.61
	AUC Ratio	1.00	2.54
Perro 355708	C _{max} Ratio	1.00	2.08
	AUC Ratio	1.00	1.63
	Mean C _{max} Ratio	N/A	2.24
	SD C _{max} Ratio	N/A	0.249
	Mean AUC Ratio	N/A	1.82
	SD AUC Ratio	N/A	0.529

2019

pueden efectuar sin apartarse del espíritu de la invención. Por lo tanto el objetivo de la invención se deberá definir no por la descripción anterior sino por las siguientes reivindicaciones y sus equivalentes.

120

Se prefiere el profármaco por varios motivos. Primero, el profármaco se formula fácilmente para alcanzar una alta proporción de agentes activos. Esto resulta en unas cápsulas de tamaño pequeño para una dosis determinada, que es una ventaja para un producto oral. En segundo lugar, los profármacos ofrecen la posibilidad de enmascarar la estructura activa a medida que el agente pasa por el tejido linfático que recubre el intestino, lo cual podría minimizar la activación de este tejido permitiendo así una mayor tolerabilidad oral. Finalmente, para las dosis que se ensayaron, la val-
isatoribina permite unos niveles de isatoribina en plasma que se encuentran dentro del rango deseable para el efecto biológico después de la administración oral, lo cual no es el caso de isatoribina misma.

Los ejemplos de los compuestos descritos arriba se pueden formular en composiciones farmacéuticas de acuerdo con los siguientes ejemplos
generales:

Ejemplo 1: Composición Parenteral

Para preparar una composición farmacéutica parenteral adecuada para la administración por medio de una inyección, se disuelven 100 mg de una sal soluble en agua de un compuesto de la Fórmula I en DMSO y luego se
mezcla con 10 mL de solución salina estéril al 0.9%. La mezcla se incorpora a unas unidades de dosis apropiadas para la administración por medio de una inyección.

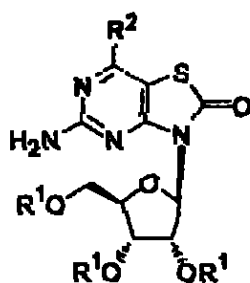
Ejemplo 2: Composición Oral

Para preparar una composición farmacéutica para una administración oral, se mezclan 100 mg de un compuesto de la Fórmula I con 750 mg de lactosa. La mezcla se incorpora en una unidad de dosis apropiada para la administración oral como una cápsula de gelatina dura apropiada para la administración oral.

Se debe entender que la anterior descripción es a modo de ejemplo y de explicación, y su intención es ilustrar la invención y sus incorporaciones preferidas. Por medio de una experimentación rutinaria, el artesano reconocerá las modificaciones y variaciones aparentes que se

Lo que se reivindica es

1. Un compuesto representado por la Fórmula I:



donde:

5 R^1 es independientemente H, $-C(O)R^3$, o un racémico, un grupo amino ácido L o D $-C(O)CHNH_2R^4$, donde R^3 es un alquilo sustituido o sin sustituir, y R^4 es H, o un alquilo sustituido o sin sustituir,

R^2 es H, OR^5 , o $N(R^6)_2$, donde R^5 es independientemente H o un alquilo, y donde R^6 es independientemente H, un alquilo, cicloalquilo
10 sustituido o sin sustituir, o conjuntamente con el nitrógeno forman un anillo heterocicloalquilo sustituido o sin sustituir, y

donde si R^2 es $-OH$, por lo menos uno de los grupos R^1 es un racémico, un grupo amino ácido L o D $-C(O)CHNH_2R^4$.

o una sal farmacéuticamente aceptable.

15

2. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable de conformidad con la reivindicación 1, donde por lo menos uno de los grupos R^1 es un racémico, o un grupo amino ácido L o D $-C(O)CHNH_2R^4$, donde R^4 es un alquilo sustituido o sin sustituir, y donde los grupos restantes R^1 son H; R^2 es
20 OR^5 o $N(R^6)_2$, donde R^5 se selecciona independientemente entre H o un alquilo, y donde R^6 es independientemente H, un alquilo, cicloalquilo sustituido o sin sustituir, o conjuntamente con el nitrógeno forman un anillo heterocicloalquilo sustituido o sin sustituir.

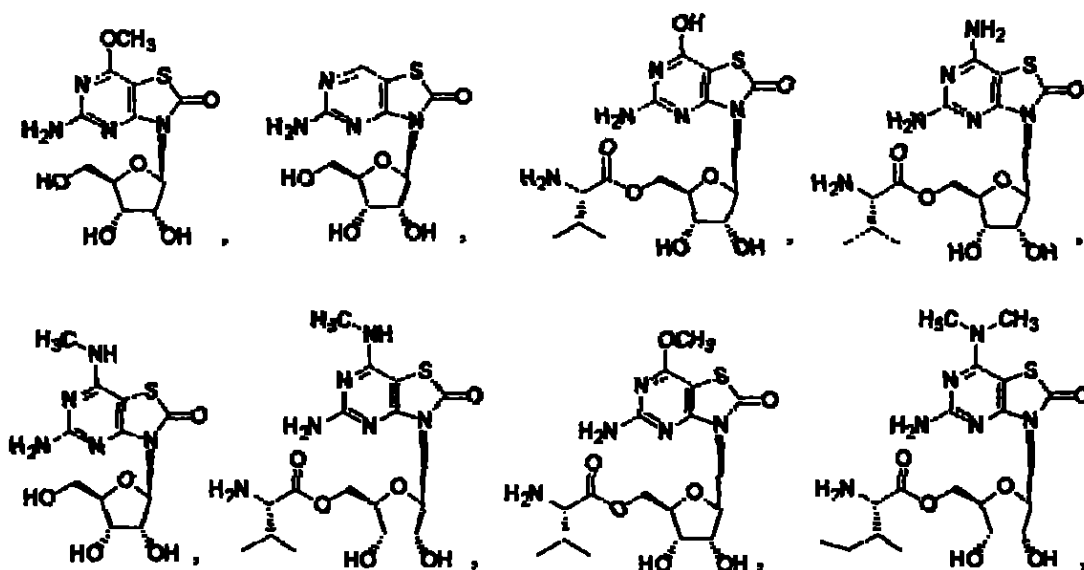
25 3. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable de conformidad con la reivindicación 2, donde por lo menos uno de los grupos R^1 es un grupo amino ácido L $-C(O)CHNH_2R^4$, donde R^4 es un alquilo sustituido o

2/22

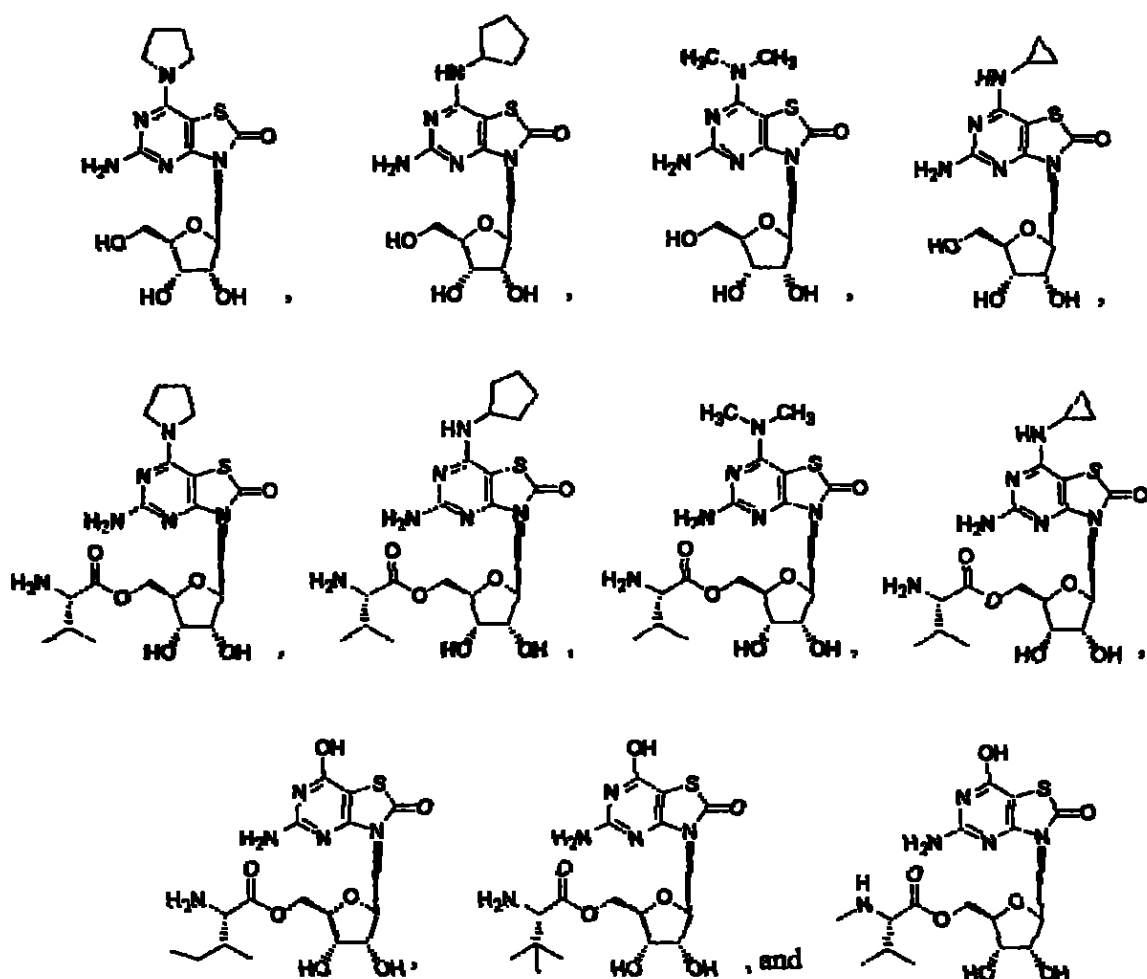
sin sustituir, y donde el resto de grupos R^1 son H; R^2 es OR^5 o $N(R^6)_2$ donde R^4 es un alquilo sustituido, y donde R^6 es independientemente H o un alquilo sustituido o sin sustituir.

5 4. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable de conformidad con la reivindicación 3, donde por lo menos uno de los grupos R^1 es un grupo amino ácido $L-C(O)CHNH_2R^4$, donde R^4 es $-CH(CH_3)_2$, y donde el resto de grupos R^1 son H; y R^2 es OH.

10 5. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable de conformidad con la reivindicación 1, seleccionado entre el grupo conformado por:

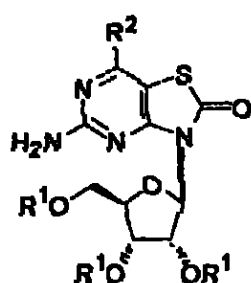


123



6. Una composición farmacéutica comprendiendo un medio de transporte y un compuesto farmacéuticamente aceptable representado por la

5 Formula I :



I

donde:

R¹ es independientemente H, -C(O)R³, o un racémico, un grupo amino ácido L o D -C(O)CHNH₂R⁴, donde R³ es un alquilo sustituido o sin sustituir, y R⁴ es H, o un alquilo sustituido o sin sustituir;

R² es H, OR⁵, o N(R⁶)₂ donde R⁵ es independientemente H o un alquilo, y donde R⁶ es independientemente H, un alquilo, cicloalquilo

sustituido o sin sustituir, o conjuntamente con el nitrógeno forman un anillo heterocicloalquilo sustituido o sin sustituir, y

donde si R^2 es $-OH$, por lo menos uno de los grupos R^1 es un racémico, un grupo amino ácido L o D $-C(O)CHNH_2R^4$;

5 o una sal farmacéuticamente aceptable.

7. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 6, donde por lo menos uno de los grupos R^1 es un racémico, o un grupo amino ácido L o D $-C(O)CHNH_2R^4$, donde R^4 es un alquilo sustituido o sin sustituir, y donde los grupos restantes R^1 son H; R^2 es OR^5 o $N(R^6)_2$ donde R^5 se selecciona independientemente entre H o un alquilo, y donde R^6 es independientemente H, un alquilo, cicloalquilo sustituido o sin sustituir, o conjuntamente con el nitrógeno forman un anillo heterocicloalquilo sustituido o sin sustituir.

15

8. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 7, donde por lo menos uno de los grupos R^1 es un grupo amino ácido L - $C(O)CHNH_2R^4$, donde R^4 es un alquilo sustituido o sin sustituir, y donde el resto de grupos R^1 son H; R^2 es OR^5 o $N(R^6)_2$ donde R^4 es un alquilo sustituido, y donde R^6 es independientemente H o un alquilo sustituido o sin sustituir.

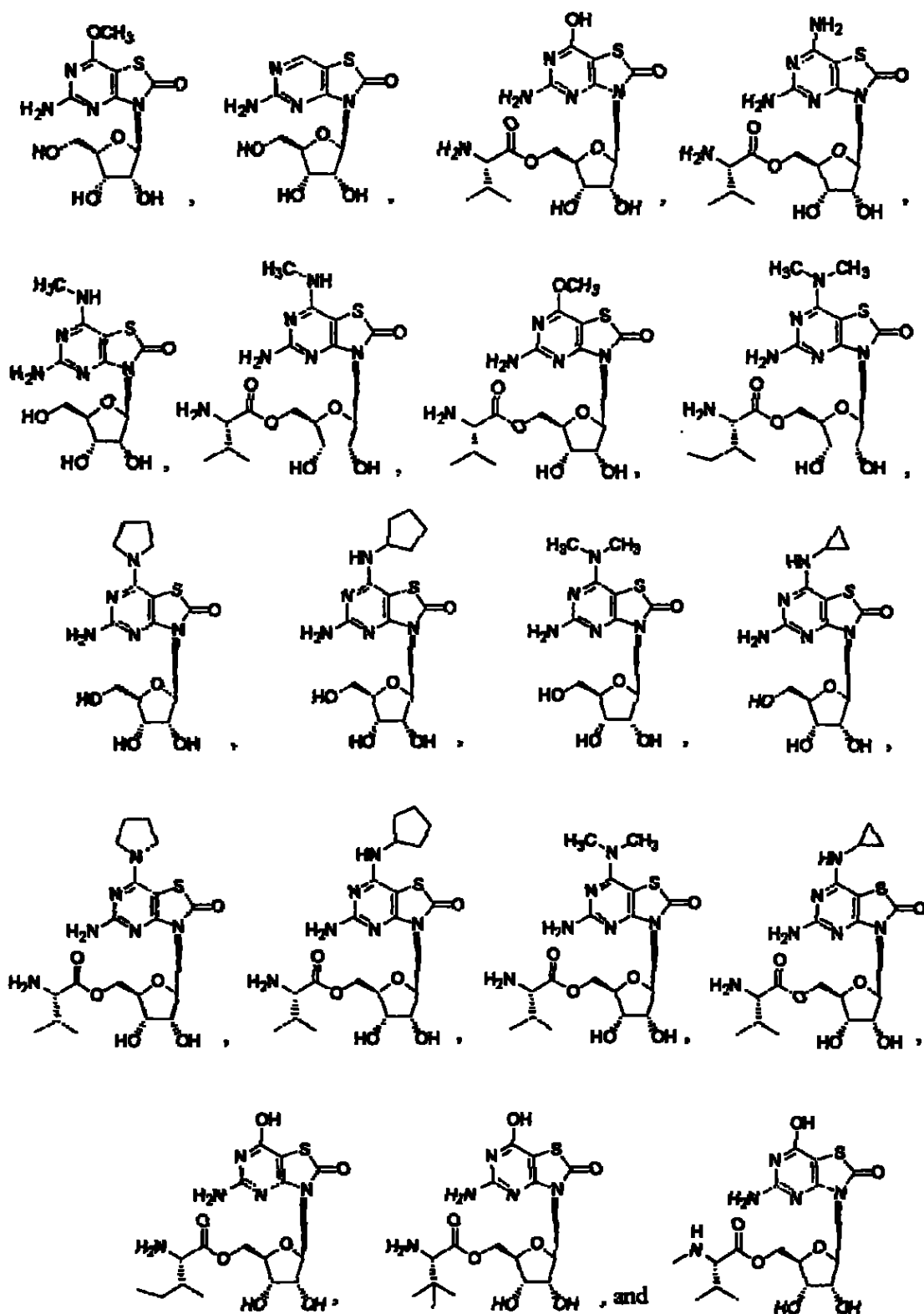
20

9. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 8, donde por lo menos uno de los grupos R^1 es un grupo amino ácido L - $C(O)CHNH_2R^4$, donde R^4 es $-CH(CH_3)_2$ y donde el resto de grupos R^1 son H; y R^2 es OH.

25

26/135

10. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 6 que se selecciona entre el grupo conformado por:



5

11. Un método para modular las actividades inmunes de la citocinas en un paciente comprendiendo:

...
proveer un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de la
Fórmula I, de conformidad con la reivindicación 1; y

tratar un paciente que lo necesita con el compuesto o la sal
farmacéuticamente aceptable.

126

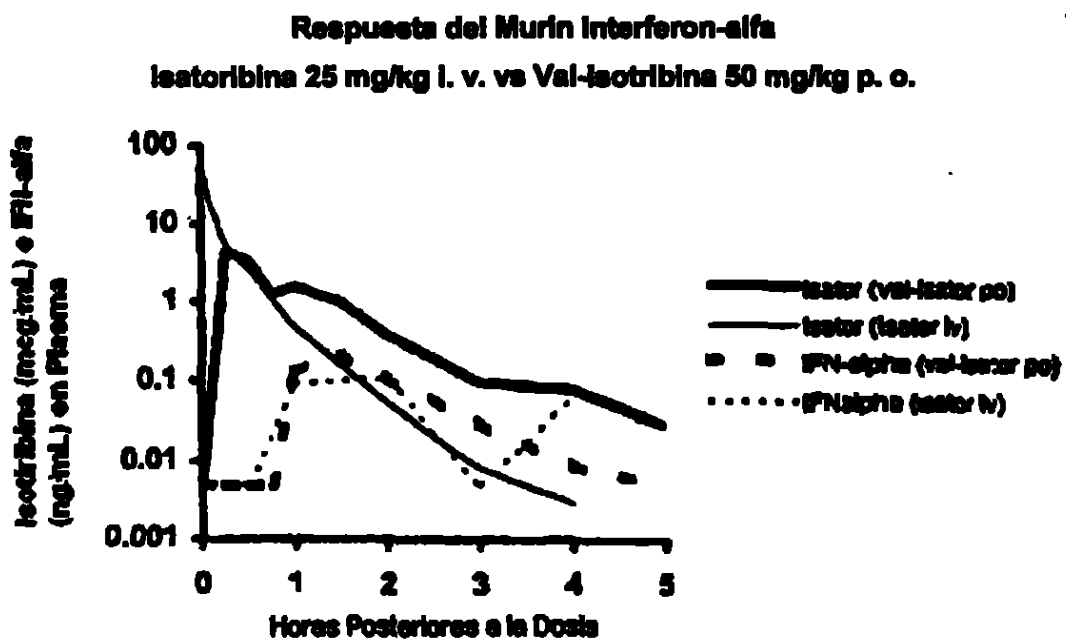
128
J.

EXTRACTO

La presente invención se relaciona con el descubrimiento de nucleósidos 3-β-D-ribofuranosiltiazol[4,5-*d*]piridimina y composiciones farmacéuticas conteniendo estos compuestos que tienen una actividad
5 inmunomoduladora. La invención también aborda el uso terapéutico o profiláctico de dichos compuestos y composiciones, y los métodos para tratar las enfermedades y los desórdenes aquí descritos administrando cantidades efectivas de dichos compuestos.

1289
128

FIG. 1



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Patent Application No.
PCT/US 02/38001A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07H19/24 A61K31/7052 A61P37/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07H A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 041 426 A (ROBINS ROLAND K ET AL) 20 August 1991 (1991-08-20) compounds 6,7,41 whole document	1,6,11
X	KINI G D ET AL: "SYNTHESIS AND ANTIVIRAL ACTIVITY OF CERTAIN GUANOSINE ANALOGUES IN THE THIAZOLO[4,5-D]PYRIMIDINE RING SYSTEM" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, US, vol. 34, no. 10, 1991, pages 3006-3010, XP001126959 ISSN: 0022-2623 Schemes I,II	1,6,11

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, each combination being obvious to a person skilled in the art.
- "Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 March 2003

Date of mailing of the international search report

18/03/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.O. 8018 Patentkanal 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-8040, Tx. 31 051 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-8018

Authorized officer

de Nooy, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 02/38001

130
27

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claim 11 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. Appl. No.

Pt. 1/US 02/38001.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5041426 A	20-08-1991	US 4880784 A	14-11-1989
		AT 126060 T	15-08-1995
		AT 173929 T	15-12-1998
		CA 1319931 A1	06-07-1993
		DE 3854297 D1	14-09-1995
		DE 3854297 T2	28-03-1996
		DE 3856279 D1	14-01-1999
		DE 3856279 T2	20-05-1999
		DK 406389 A	04-10-1989
		EP 0348446 A1	03-01-1990
		EP 0636372 A1	01-02-1995
		ES 2010786 A6	01-12-1989
		JP 2590248 B2	12-03-1997
		JP 3504122 T	12-09-1991
		KR 9702611 B1	06-03-1997
		WO 8905649 A1	29-06-1989
		AU 2486088 A	19-07-1989
		NO 893343 A	23-10-1989

23131

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

PATENTE DE INVENCION ☒ MODELO DE UTILIDAD ☐

- Indicación de que se solicita la concesión de una patente. ☐
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud. ☐
- Descripción de la invención. ☐
- Dibujos de ser estos pertinentes. ☐
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas. ☐

COMPLETA ☒ INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial ☐
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. ☐
- Representación gráfica o fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño. ☐
- Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐ INCOMPLETA ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado. ☐
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud. ☐
- Representación gráfica del esquema de trazado ☐
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. ☐

COMPLETA ☐ INCOMPLETA ☐

Firma Responsable:



Fecha:

133

2020
Bogotá D C

Doctor(a)
RAMIRO CASTRO DUQUE
Apoderado
ANADYS PHARMACEUTICALS, INC.

Oficio N°
07153

ASUNTO:

Radicación N°	04-57566
Solicitud internacional	PCT/US02/38001
Fecha inicio fase nacional	27/06/2004
Trámite	011
Evento	379
Actuación	416
Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

- La solicitud no contiene copia del documento en que consta la cesión del derecho de patente del inventor al solicitante o a su causante (Art. 26-k Decisión 486).
- La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando éste fuere una persona jurídica.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.

ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones.

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha,
30 JUL 2004

202044