

G.F.



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

CF

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE N° 03-60675

54. TÍTULO "COMPUESTOS NUCLEOSIDOS COMO INHIBIDORES DE POLIMERASA DE ARN VIRAL
DEPENDIENTE DE ARN"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL G07H 19/14 A61K 31/2064

71. SOLICITANTE MERCK & CO., INC. E ISIS PHARMACEUTICALS, INC.

DOMICILIO RAHWAY, ESTADO DE NEW JERSEY Y CARLSBAD, ESTADO DE CALIFORNIA, ESTADOS
UNIDOS DE AMERICA.

74. REPRESENTANTE LEGAL JOSE ANTONIO LLOREDA
T.P. 10.784
Código 231

22. BOGOTÁ, D.C. 17 JUL 2003
202037

SS

PETITORIO

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA



03 060675 00

Radicación: 03060675 00000000
Fecha (MM): 2003-07-17 16:29:26
Trámite: 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Folios 113 x

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

①

SOLICITUD DE



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad



Capítulo I



Capítulo II

②

S LICITANTE
(71)

Nombre **MERCK & CO INC e ISIS PHARMACEUTICALS INC**
Dirección 126 East Lincoln Avenue Rahway NJ 07065-0907 y 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 Estados Unidos de América respectivamente
Nacionalidad o Domicilio Rahway Estado de New Jersey y Carlsbad Estado de California, Estados Unidos de América respectivamente
Lugar de Construcción Estado de New Jersey Estados Unidos de América (MERCK & CO INC)
Teléfono 3264270 Fax 6069701
E-mail jllico@lloredacamacho.com

IDENTIFICACION

C C ☐

NIT ☐

C E ☐

Otro ☐

Cual _____

Número _____

③

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre **JOSE ANTONIO LLOREDA**
Dirección Calle 72 No 5-83 Piso 5º Bogotá- Colombia
Teléfono 3264270 Fax 6069701
E mail jllico@lloredacamacho.com

C C ☒

NIT ☐

C E ☐

Otro ☐

Cual _____

Numero 17 159 681 TP 10 784

④

INVENTOR(ES)
(72)

Nombre **CARROLL Steven S MACCOSS Malcolm OLSEN David B BHAT Balkrishen BHAT Neelima COOK Phillip Dan ELDRUP Anne B PRAKASH Thazha P PRHAVC Manja y SONG Quanlai**
Dirección 126 East Lincoln Avenue Rahway NJ 07065-0907 126 East Lincoln Avenue Rahway NJ 07065-0907 126 East Lincoln Avenue Rahway NJ 07065-0907 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 y 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 Estados Unidos de América
Nacionalidad o Domicilio Estados Unidos de América

⑤

PCT (86)

Solicitud Internacional No PCT/US02/03086

Fecha 18/01/02

Publicación Internacional No WO 02/057287A3

Fecha 25/07/02

⑥

Título (54) COMPUESTOS NUCLEOSIDOS COMO INHIBIDORES DE POLIMERASA DE ARN VIRAL DEPENDIENTE DE ARN

⑦

Clasificación Internacional (51) C07H 19/14

AGIX 23/706A

⑧

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

US

US

US

US

(32) Fecha

22/01/01

06/04/01

19/06/01

25/10/01

(31) Número de Solicitud

60/263 313

60/282 069

60/299 320

60/344 528

⑨

Comprobante de Pago No 03 40 110

Fecha 10-06-03

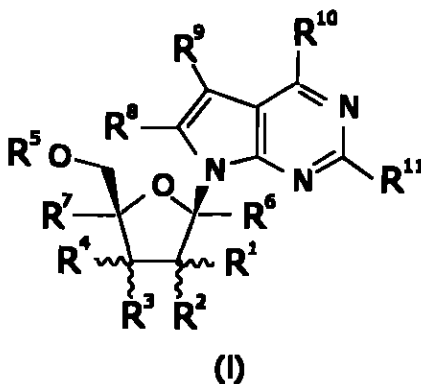
10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☒ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica (MERCK & CO INC)
- ☒ Documento de Representación Legal (MERCK & CO INC)
- ☐ 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)
- ☒ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA)
- ☒ Traducción del examen preliminar internacional 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
- ☒ 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 relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud
- ☐ De ser el caso modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☒ Otros Reporte de Búsqueda Internacional con su traducción y Publicación con su traducción

11

FIGURA CARACTERISTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE. JOSE ANTONIO LLORÉDA

FIRMA

C C 17 159.681 Bta T P 10 784

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 03860675 00000000 Folios 113
Fecha (GND) 2003-07-17 16:29:26
Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACT 411 PRESENTAC
Dependencia 2020 DIVISION DE MARCAS CREACIONES

NIT 800176089 2

RECIBO OFICIAL DE CAJA 03 40 110
FECHA JUNIO 10 DE 2003

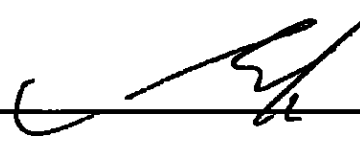
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No PAGO	FECHA PGO	Vr PAGO
LLOPEDA Y CIA S A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110 6	13818145	10/06/2003	9 122 000 00

***** CONCEPTO *****

CANT	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01 01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL DE PATENTE DE IN	400 000 00
		TOTAL	\$ 400 000 00

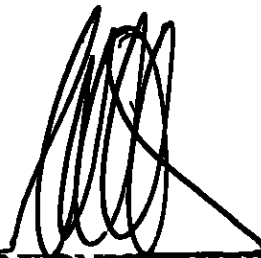
SOM CUATROCIENTOS MIL PESOS

RESPONSABLE 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No _____

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores JOSE ANTONIO LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o ANGELA MARIA RESTREPO y/o ALICIA LLOREDA para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente se está presentando con esta solicitud En consecuencia ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida



JOSE ANTONIO LLOREDA

T P No 10 784

Código 231

4

TRADUCCION OFICIAL No 410

**LEGALIZACION DE UN DOCUMENTO PRESENTADO SIMULTANEAMENTE EN
INGLES Y ESPAÑOL PODER DE REPRESENTACION LEGAL OTORGADO A
JOSE ANTONIO LLORED A Y/O GUSTAVO TAMAYO Y/O ANGELA MARIA
RESTREPO Y/O ALICIA LLORED A Y/O JOSE LLORED A CAMACHO POR
MERCK & CO INC**

PODER

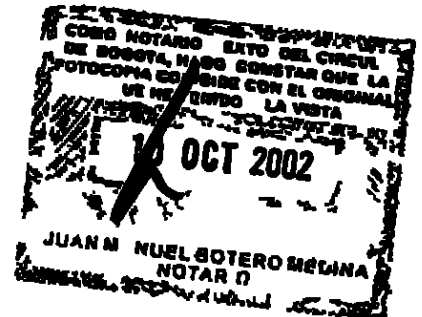
Firmado Donna L Pollock
Administrador Patentes

Fecha Diciembre 22 2000

**CERTIFICADO NOTARIAL (CORPORACION) SIMULTANEAMENTE EN INGLES
Y ESPAÑOL**

Fecha Diciembre 22 2000

Firmado Barbara Ann Cozzi
Notano Publico de Nueva Jersey
Mi comisión expira Nov 30 3003




BARBARA ANN COZZI
TRADUCCION OFICIAL
DEL MINISTERIO DE JUSTICIA

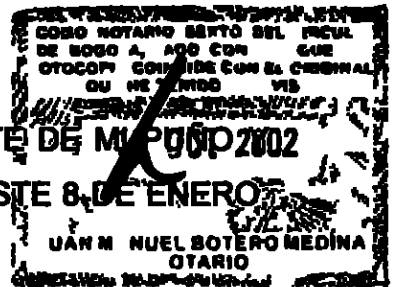
5

YO EL TESORERO DEL ESTADO DE NUEVA JERSEY POR EL PRESENTE
CERTIFICO QUE

BARBARA ANN COZZI

EL FUNCIONARIO CUYA FIRMA APARECE EN EL CERTIFICADO DE
RECONOCIMIENTO PRUEBA O DECLARACION JURAMENTADA ADJUNTA AL
PRESENTE DOCUMENTO ERA EN EL MOMENTO DE HACER DICHO
RECONOCIMIENTO PRUEBA O DECLARACION JURADA NOTARIO PUBLICO
EN Y PARA EL ESTADO DE NUEVA JERSEY DEBIDAMENTE ELEGIDO Y
JURAMENTADO Y COMO TAL ERA EL FUNCIONARIO DE DICHO ESTADO
DEBIDAMENTE AUTORIZADO POR LAS LEYES DEL MISMO PARA HACER Y
CERTIFICAR EL MISMO ASI COMO PARA HACER Y CERTIFICAR LA PRUEBA
Y RECONOCIMIENTO DE ESCRITURAS Y OTROS INSTRUMENTOS
ESCRITOS QUE DEBAN REGISTRARSE EN DICHO ESTADO Y QUE SUS
ACTOS OFICIALES MERECEN PLENA FE Y CREDITO

EN TESTIMONIO DE LO CUAL EL FIRMADO EL PRESENTE DE MI PUÑO Y
LETRA Y COLOCADO EL SELLO OFICIAL EN TRENTON ESTE 8 DE ENERO
2001



Firmado **Roland M Machold**
TESORERO


ROLAND MACHOLD JR. JR.
TESORERO DE LA
DEL ESTADO DE NJ

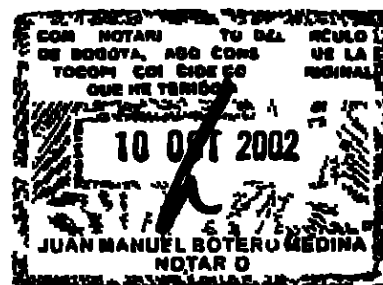
Sello del Tesorero del Estado de Nueva Jersey

6

Firmado **José David Name C**
Cónsul de Colombia

Sello del Consulado General de Colombia en Nueva York

Firmado (Firma ilegible)
Jefe de Legalizaciones
Santafé de Bogotá D C



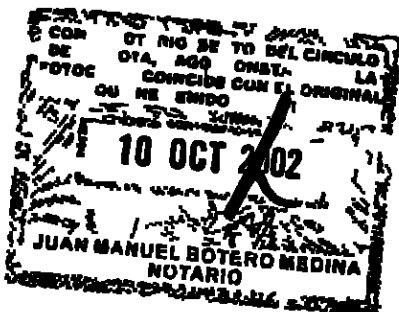

 LAI A GALENIA LA
 TRADUCCION OFICIAL
 DE MINISTERIO DE

MIS FOLIOS RELACIONADOS
E. CRIMINAL

173 ASUMIR
LA LINGÜÍSTICA

2163~u
Patricia Paredes
CUYAS P P LE
700. 4 4 31
LAS 10 P 1 AS

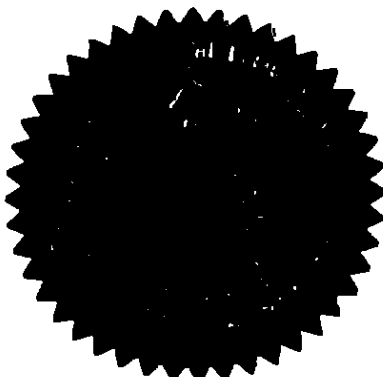
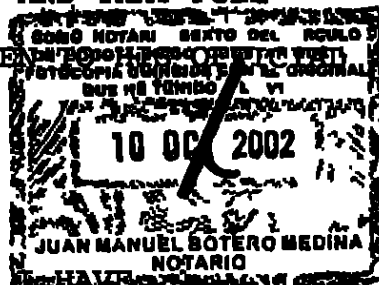
7001 FEB-5 A 11 53
[Signature]
J F. DE REGALIZACIONES
CAJAL DE BOGOT 1 C



I THE TREASURER OF THE STATE OF NEW JERSEY DO HEREBY
CERTIFY THAT

BARBARA ANN COZZI

THE OFFICER WHOSE NAME IS SUBSCRIBED TO THE CERTIFICATE
OF ACKNOWLEDGEMENT PROOF OR AFFIDAVIT ATTACHED TO THE
ANNEXED INSTRUMENT WAS AT THE TIME OF TAKING SAID
ACKNOWLEDGEMENT PROOF OR AFFIDAVIT A NOTARY PUBLIC
IN AND FOR THE STATE OF NEW JERSEY DULY COMMISSIONED
AND SWORN AND WAS AS SUCH AN OFFICER OF SAID STATE
DULY AUTHORIZED BY THE LAWS THEREOF TO TAKE AND
CERTIFY THE SAME AS WELL AS TO TAKE AND CERTIFY THE
PROOF AND ACKNOWLEDGEMENT OF DEEDS AND OTHER INSTRUMENTS
IN WRITING TO BE RECORDED IN SAID STATE AND THAT FULL
FAITH AND CREDIT ARE AND OUGHT TO BE GIVEN TO THE
ACTS



IN TESTIMONY WHEREOF
HEREUNTO SET MY HAND AND AFFIXED
MY OFFICIAL SEAL AT TRENTON THIS
8TH DAY OF JANUARY
A D 2001

Roland M Machold

Roland M Machold
TREASURER



CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA
10 EAST 46TH STREET NUEVA YORK, NY 10017
TEL (212) 370-0004 FAX (212) 972-1725

LA SUSCRITA CONSUL DE COLOMBIA

VISTOS LOS DOCUMENTOS PRESENTADOS POR LOS INTERESADOS

CERTIFICA

Que la (el) **TESORERO** del estado de Nueva Jersey Estados Unidos de América Sr (a) **ROLAND M MACHOLD** certifica la firma y sellos del documento certificado por el (la) señor (a) **BARBARA ANN COZZI** notano(a) publico(a) para el estado de Nueva Jersey Estados Unidos de América y quienes ejercían en la fecha las funciones allí señaladas y que la firma y sellos que se estampan en el documento son suyos y los que usan y acostumbran en los actos oficiales

Que ante el citado notario compareció y autenticó su firma en el documento adjunto el Sr (a) **DONNA L POLLOCK** quien actua en calidad de **GERENTE DE PATENTES de MERCK & CO INC**

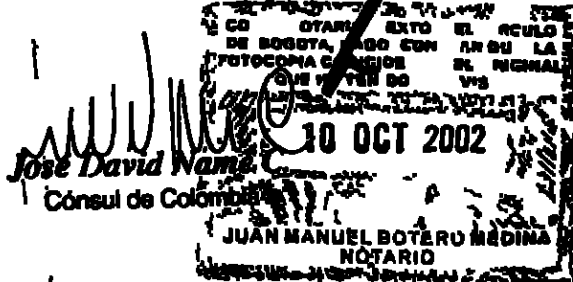
Se expide la presente certificación en Nueva York Estados Unidos de America a los 17 dias del Mes de **ENERO** de 2001 y en concordancia con el artículo 259 del código de procedimiento civil y 480 del código de comercio

LA CONSUL NO ASUME RESPONSABILIDAD POR EL CONTENIDO DEL DOCUMENTO ADJUNTO

PAG DE JUSTO D^o TIMBRE Y DERECHOS CONSULARES

VALOR DE LA SUSCRITA DE DONA

267819



26 JUN 2002

2148411

2002

2002

ARMED

2001 ENE 20

FECHAS DE EMISIÓN

10 06 2002
JUAN MANUEL BOTERO BORDINA
NOT FIO

Los abajo firmados **MERCK & CO INC**
una sociedad organizada y existente según las leyes del Estado
de New Jersey Estados Unidos de América
con domicilio en Rahway New Jersey Estados
Unidos de América

nombramos por el presente a **JOSE ANTONIO LLOREDA y/o
GUSTAVO TAMAYO y/o ANGELA MARIA RESTREPO
y/o ALICIA LLOREDA y/o JOSE LLOREDA CAMACHO**
domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha
ciudad Calle 72 No 5 83 piso 6o nuestros representantes
legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir
notificaciones y nombrar apoderados judiciales o
extrajudiciales con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o.
del artículo 543 del decreto 410 de 1981

Los doctores **JOSE ANTONIO LLOREDA y/o
GUSTAVO TAMAYO y/o ANGELA MARIA RESTREPO
y/o ALICIA LLOREDA y/o JOSE LLOREDA CAMACHO** o
los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan
especialmente facultados para representarnos ante las
autoridades colombianas administrativas judiciales o de
policía en todos los trámites relativos a la propiedad industrial,
a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades
todos los pasos necesarios al objeto indicado elevar solicitudes
declaraciones reclamos y recursos formular descripciones,
enmiendas oposiciones y apelaciones instaurar cancelaciones
y amparos administrativos abonar todos los impuestos y cuotas
y efectuar todo otro pago determinado por la ley recibir todos
los documentos y valores dando el descargo respectivo llenar
cualesquiera otros requisitos y tomar en fin todas las medidas
que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses y
en caso de producirse oposición pasando los antecedentes a los
tribunales quedan facultados para tomar intervención como
demandantes o demandados ante los jueces que sean
competentes, pudiendo transar someter a árbitros, desistir
percibir y apelar con todas las demás facultades que resulten
necesarias y por el presente declaramos desde ahora válido y
bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que
cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio

Asimismo, facultamos a los doctores **JOSE ANTONIO
LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o ANGELA MARIA
RESTREPO y/o ALICIA LLOREDA y/o JOSE LLOREDA
CAMACHO** para solicitar en la Oficina de Propiedad
Industrial la protocolización de este documento y de cualquier
poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro, así
como para sustituir el presente

Dado y firmado 22 de Diciembre de 2000

The undersigned, **MERCK & CO, INC.**
a corporation organized and existing under the laws of
the State of New Jersey United States of America
of Rahway New Jersey United States of
America

hereby appoint **JOSE ANTONIO LLOREDA and/or
GUSTAVO TAMAYO and/or ANGELA MARIA
RESTREPO and/or ALICIA LLOREDA and/or JOSE
LLOREDA CAMACHO** of Bogotá, Colombia, with offices in
said town Calle 72 No 5-83 Sixth Floor our true and legal
representatives in Bogotá, with power to receive notifications
and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply
with paragraph 1 of article 543 of decree 410 of 1971

Doctors **JOSE ANTONIO LLOREDA and/or GUSTAVO
TAMAYO and/or ANGELA MARIA RESTREPO and/or
ALICIA LLOREDA and/or JOSE LLOREDA CAMACHO** or
the agents by any one of them appointed are especially
empowered to represent us before the administrative judicial or
police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to
industrial property for which purpose we authorize them to take
before the said authorities all the necessary steps to the said end
to file petitions declarations, claims recourses cancellations
and administrative injunction proceedings to draw up
specifications to make amendments oppositions and appeals
to pay all installments and effect all other payments prescribed
by law to receive proper receipts to comply with all other
requirements and, in short, to take all those measures which they
may deem fit for the protection of our interests and in case of
opposition where the proceedings be passed over to the
courts we authorize said agents to act on our behalf as
complainants as well as defendants, before the competent
judges with full powers to make arrangements to submit to
arbitrators, to desist, to settle, to oppose and, in short, with all
such further powers as may be required; and we hereby declare
from now on valid and good all that said representatives and/or
the agent by any one of them appointed may do for our benefit

We also authorize doctors **JOSE ANTONIO
LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or ANGELA
MARIA RESTREPO and/or ALICIA LLOREDA and/or
JOSE LLOREDA CAMACHO** to apply for protocolization of
this document and of any power of attorney by any one of them
conferred in our name before the Office of Industrial Property
as well as to substitute these presents

Given and signed this 22nd day of December 2000
x Donna I Pollock
Donna I Pollock Administrator Patents
NOTARY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE



FORMATO DE DIGITALIZACION
RELACION DE ANEXOS



NO
T

O O G E S S A

Empresas de Servicios S.A.

10

Expediente No		03060675	No de Folio
Item		No de unidades	
1	CD		
2	DVD		
3	REVISTA		
4	LIBRO		
5	PERIODICO		
6	DISQUETES		
7	SOBRE DE MANILA	1	
8	SOBRE BLANCO TAMAÑO CARTA		
9	SOBRE BLANCO TAMAÑO OFICIO		
10	OTROS		
Observaciones Arte final			

14
11

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL		Solicitud Internacional N PCT/US 02/03086
A CLASIFICACION DE MATERIA IPC 7 C07H19/14 A61K31/7064 A61P31/14		
Según la Clasificación de Patentes Internacional (CPI) según la clasificación nacional y la CPI		
B CAMPOS BUSCADOS		
Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de símbolos de clasificación)		
IPC 7 C07H A61K A61P		
Documentación buscada fuera de documentación mínima hasta donde dichos documentos se incluyan en los campos buscados		
Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y donde sea práctico, buscar términos usados)		
EPO-Internacional, WPI Dato, CHEM ABS Dato		
C DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría	Clasificación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
A	WO 94 05687 A (UNIV BIRMINGHAM WELLCOME FOUND (GB) MILLER JOHN ALLEN (GB) YOUNG) 17 de Marzo de 1994 (1994-03-17) resumen página 4	1 12
A	Y MURAI ET AL 'Síntesis y análisis por rayos X de 2 C-3 y 5-C metilsangivamicinas HETROCYCLES vol 33 1992 página 391-404 XP008004758 página 391 página 394	1
☐ En el recuadro C se enumeran más documentos		☒ En el anexo se enumeran miembros de la familia de patentes
Categorías especiales de documentos		
A documento que define el estado general de la técnica el cual no se considera de relevancia particular		T documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional fecha de prioridad y que no está en conflicto con la solicitud pero todo para entender el principio teoría que sustenta la invención
E documento anterior pero publicado en después de la fecha de presentación internacional		X documento de relevancia particular la invención reivindicada no puede considerarse nueva no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se toma solo
L documento que puede arrojar dudas sobre reivindicaciones de prioridad que se cita para establecer la fecha de publicación de otra citación otra razón especial (según se especifica)		Y documento de relevancia particular la invención reivindicada no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se combina con uno o más documentos, siendo dicha combinación obvia para una persona experta en la técnica
O documento que se refiere a una revelación oral uso, exhibición otros medios		& documento miembro de la misma familia de patentes
P documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero después de la fecha de prioridad reivindicada		
Fecha de la terminación real de la búsqueda internacional		Fecha de envío por correo del reporte de búsqueda internacional
20 de Junio de 2002		01/07/2002
Nombre y dirección de correo de ISA Oficina de Patentes Europea, P B 5818 Patentilaan 2 NL- 2280 HV Rijswijk Teléfono No (+31 70) 340-2040 Tx 31 651 epo nl Facsímil No (+31 70) 340-3016		Funcionario autorizado de Nooy A

CERTIFICADO NOTARIAL (INDIVIDUO)

Estados Unidos de America { ss
Estado de
Condado de
A los días del mes de de
compareci personalmente ante mi Notario Público
en y por el condado antes citado,

a quien doy fe de conocer y me consta que es/son
la persona descrita y firmante del documento que precede
declarando ante mí que otorga el mismo para los fines y
propósitos que en él se expresan

Notary Public (Notario Público)

CERTIFICADO NOTARIAL (INDIVIDUO)

Estados Unidos de America { ss
Estado de
Condado de
A los días del mes de d
compareci personalmente ante mi Notario Público
en y por el condado antes citado,

a quien doy fe de conocer y me consta que es/son
la persona descrita y firmante del documento que precede
declarando ante mí que otorga el mismo para los fines y
propósitos que en él se expresan

Notary Public (Notario Público)

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Estados Unidos de America { ss
Estado de New Jersey
Condado de Unión
Hoy 22 de Diciembre de 2000 compareció
Donna L. Pollock a quien conozco y de
quien me consta que firmó el anterior documento, y quien
debidamente juramentado declaró y dijo que él es el
Administrador de Patentes de MERCK & CO
INC

la compañía nombrada en el documento que antecede
sobre la sociedad debidamente organizada y existente conforme a la
leyes del Estado de New Jersey
Estados Unidos de America domiciliada en la ciudad de
Rahway Condado de Unión
Estado de New Jersey Estados
Unidos de America y legalmente constituida para un período de
duración que aún no ha determinado, que el declarante está
autorizado por dicha Compañía para conferir este poder que el
sello estampado por él al pie de tal poder en nombre y en
representación de la expresada Compañía es el sello oficial de
ella y que el objeto para el cual se confiere este instrumento
está comprendido dentro del de la sociedad

El suscrito Notario ha visto los Estatutos de incorporación
presentados y Estado de New Jersey
con fecha Abril 28 1959 y certifica que de conformidad
con la legislación de dicho Estado la anterior declaración
juramentada es prueba suficiente de que los hechos sobre que
ella versa son ciertos o verdaderos de lo cual da fe

Notary Public (Notario Público)

NOTARIAL CERTIFICATE (INDIVIDUAL)

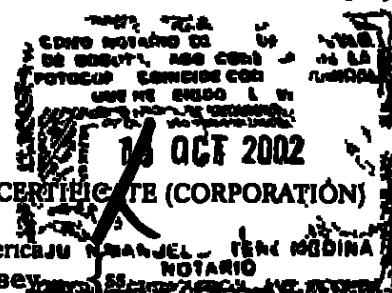
United States of America { ss
State of
County of
On this day of personally
appeared before me a Notary Public in and for the above
mentioned county

to me known to be the person described in and who
executed the foregoing document and who duly acknowledged
to me that executed same for the uses and purposes
therein expressed

NOTARIAL CERTIFICATE (INDIVIDUAL)

United States of America { ss
State of
County of
On this day of personally
appeared before me a Notary Public in and for the above
mentioned county

to me known to be the person described in and who
executed the foregoing document, and who duly acknowledged
to me that executed same for the uses and purposes
therein expressed



NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

United States of America { ss
State of New Jersey
County of Union
On this 22 day of December 2000 personally
came Donna L. Pollock

to me known and known to me to be the person who signed the
foregoing instrument who being by me duly sworn did depose
and say that he is the Administrator Patents

of MERCK & CO

INC

the company named within a
a Corporation organized and existing under the laws of the
State of New Jersey United States of
America domiciled at the City of Rahway
County of Union State of New Jersey
United States of America, and legally constituted for a period of
tenure not yet expired that the deponent is authorized by said
Company to confer this power of attorney that the seal affixed
hereunto by the deponent the name and on behalf of said
Corporation is the corporate seal thereof and that the purpose
for which this instrument is granted is included within the
corporate purposes of the Company

Certificate
The undersigned Notary Public has seen the articles of
incorporation of said Corporation executed at Rahway
State of New Jersey under date of April 28 1959
and hereby certifies that under the laws of said State the
foregoing acknowledgment is sufficient proof that the facts
therein contained are true which he attests

Barbara Ann Cozzi
NOTARY PUBLIC

BARBARA ANN COZZI
Notary Public Of New Jersey
My Commission Expires Nov. 30, 2008

Solicitud Internacional No
PCT/US 02/03086

Documento de patente citado en el reporte de búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
W0 9405687 A	17-03-1994	AU 4973393 A	29-03-1994
		CA 2143834 A1	17-03-1994
		EP 0658166 A1	21-06-1995
		W0 9405687 A1	17-03-1994
		JP 8504753 T	21-05-1996

Forma PCT ISA 210 (anexo familia de patentes) (Julio 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/US 02/03086

16
13

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07H19/14 A61K31/7064 A61P31/14

According 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 for minimum documentation to the extent that such documentation is included in fields searched

Electronic data base(s) 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
A	WO 94 05687 A (UNIV BIRMINGHAM WELLCOME FOUND (GB) MILLER JOHN ALLEN (GB) YOUN) 17 March 1994 (1994-03-17) abstract page 4	1 12
A	Y MURAI ET AL A synthesis and an X ray analysis of 2 C 3 -C and 5 C-methylsangivamycins HETEROCYCLES vol 33 1992 pages 391-404 XP008004758 page 391 page 394	1

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

Special Categories of cited document

A document defining the general state of the art which not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L documents 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 relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but late than the priority date claimed

T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X* document of particular relevance the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y* document of particular relevance the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 June 2002

Date of mailing of the international search report

01/07/2002

The mailing address of the SA

European Patent Office P B 58 8 Atenham 2

NL 2280 HV Rijswijk

Tel (3 70) 340-2040, T 3 051 open

Fax (3 70) 340-30 8

Authorized officer

de Nooy A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 02/03086

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 9405687	A	17-03-1994	AU	4973393 A	29-03-1994
			CA	2143834 A1	17-03-1994
			EP	0658166 A1	21-06-1995
			WO	9405687 A1	17-03-1994
			JP	8504753 T	21-05-1996

18
15

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA SEGÚN EL TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación

25 de Julio de 2002 (25 07 2002)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional

WO 02/057287 A3

(51) Clasificación Internacional de Patentes C07H 19/14
A61K 31/7064 A61P 31/14

(21) Número de Solicitud Internacional PCT/US02/03086

(22) Fecha de Registro Internacional. 18 de Enero de 2002
(18 01 2002)

(25) Idioma de registro: INGLES

(26) Idioma de Publicación INGLES

(30) Información de Prioridad

60/263,313 22 de Enero de 2001 (22 01 2001) US
60/282,069 6 de Abril de 2001 (06 04 2001) US
60/299 320 19 de Julio de 2001 (19 06 2001) US
60/344,528 25 de Octubre de 2001 (25 10 2001) US

(71) Solicitante (para todos los estados designados, excepto Estado Unidos de América) MERCK & CO. INC. [US/US] 126 East Lincoln Avenue Rahway NJ 07065-0907 (US). ISIS PHARMACEUTICALS, INC [US/US] 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 (US).

(74) Representante común DURETTE, Philippe, L. Merck & Co Inc. 126 East Lincoln Avenue Rahway NJ 07065-0907 (US).

(81) Estados Designados (nacionales) 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 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 TR, TT TZ, UA, UG US UZ, VN YU ZA, ZM ZW

(84) Estados Designados (regionales) patente ARIPO (GH GM KE LS MW MZ, SD SL, SZ, TZ UG ZM ZW) patente europea (AM AZ BY KG KZ, MD RU TJ TM) patente europea (AT BE, CH CY DE, DK ES FI FR GB GR IE, IT LU MC NL, PT SE TR) patente OAPI (BF BJ CF CG CI CM GA GN GQ GW ML, MR, NE SN TD TG).

Publicad

— con report de búsqueda internacional

(88) Fecha de la publicación del reporte de búsqueda internacional

10 de Octubre de 2002

Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas véase Las Notas Gulas sobre Códigos y Abreviaturas que aparecen al comienzo de cada edición regular de la Gaceta PCT

(72) Inventores e
(75) Inventores / Solicitantes (para los Estados Unidos de América únicamente) CARROLL, Steven, S. [US/US] 126 East Lincoln Avenue Rahway NJ 07065-0907 (US) MACCOSS, Malcolm [GB/US] 126 East Lincoln Avenue, Rahway NJ 07065-0907 (US). OLSEN David, B [US/US] 126 East Lincoln Avenue Rahway NJ 07065-0907 (US). BHAT Balkrishen [IN/US] 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 (US) BHAT Neelima [IN/US] 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 (US) COOK, Phillip David [US/US] 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 (US) ELDRUP Anne, B [DK/US] 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 (US) PRAKASH Thazha, P [IN/US] 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 (US) PRHAVC Marija [SI/US] 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 (US) SONG Quanlai [CN/US] 2292 Paraday Avenue Carlsbad CA 92008 (US)

(54) Título **COMPUESTOS NUCLEOSIDOS COMO INHIBIDORES DE POLIMERASA DE ARN VIRAL DEPENDIENTE DE ARN**

(57) Resumen El presente invento proporciona compuestos nucleosidos y ciertos de sus derivados que son inhibidores de la polimerasa de ARN viral dependiente del ARN. Estos compuestos son inhibidores de la replicación del ARN viral dependiente del ARN y son útiles para el tratamiento de la infección viral por ARN dependiente del ARN. Son particularmente útiles como inhibidores de la polimerasa NS5B del virus de la hepatitis C (VHC), como inhibidores de la replicación del VHC, y/o para el tratamiento de la infección por hepatitis C. El invento describe también composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos nucleosidos solos o en combinación con otros agentes con actividad contra la infección viral por ARN dependiente del ARN en particular la infección por el VHC. También se divulgan métodos para inhibir la polimerasa de ARN dependiente del ARN inhibir la replicación del ARN viral dependiente del ARN y/o tratar la infección viral por ARN dependiente del ARN con los compuestos nucleosidos del presente invento.

(10) International Publication Number
WO 02/057287 A3

WO 02/057287 A3

for monthly and other between actions up to the "Calendar" on each and other actions appearing in beginning of each regular issue of the PC7 Group.

(47) Abstract The present paper describes the synthesis and characterization of novel thiazole derivatives which are potent inhibitors of RNA-dependent RNA polymerase. These compounds inhibit RNA-dependent RNA replication in and are selective for the influenza A virus RNA-dependent RNA polymerase. They are particularly selective inhibitors of hepatitis C virus (HCV) NS5B polymerase. Inhibitors of HCV replication and/or of the treatment of hepatitis C infection. The review also describes pharmacokinetic properties of the compounds and compares them with other agents acting against RNA-dependent RNA polymerase. Particular HCV infection. Also discussed is the method of inhibiting RNA-dependent RNA polymerase. Inhibition of RNA-dependent RNA replication and/or treatment of RNA-dependent RNA infection with the compounds of the present review.

WO 02/057287 A3

20
17

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES
PCT
REPORTE DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL
(PCT Artículo 36 y Regla 70)

Referencia Solicitantes o agentes PCT 20717YS	SI SE REQUIERE ACCION POSTERIOR	Ver Notificación de Transmisión de Informe de Examen Preliminar Internacional (Formato PCT/IPEA/416)																								
Solicitud Internacional No PCT/US 02/03086	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 18/01/2002)	Fecha de prioridad (día/mes/año) 22/01/2001																								
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC , C07H19/14																										
Solicitante MERCK & CO., INC																										
1 Este informe de examen preliminar internacional ha sido preparado por esta Autoridad Examinadora Preliminar Internacional y se transmite al solicitante de conformidad con el Artículo 36 2 Este REPORTE consta de un total de <u>2</u> páginas incluyendo la carátula ☐ Este reporte también está acompañado de ANEXOS es decir páginas de descripción, reivindicaciones y/o dibujos que han sido modificados y son la base de este informe y/o páginas que contienen rectificaciones hechas ante esta Autoridad (ver Regla 70 16 y la Sección 607 de las Instrucciones Administrativas de conformidad con el PCT) Estos anexos constan de un total de páginas																										
3 Este informe contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 5%;">I</td> <td style="width: 5%;">☒</td> <td>Bases del reporte</td> </tr> <tr> <td>II</td> <td>☐</td> <td>Prioridad</td> </tr> <tr> <td>III</td> <td>☐</td> <td>No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad Industrial</td> </tr> <tr> <td>IV</td> <td>☐</td> <td>Falta de unidad de invención</td> </tr> <tr> <td>V</td> <td>☒</td> <td>Afirmación razonada de conformidad con el Artículo 35(2) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial, citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación</td> </tr> <tr> <td>VI</td> <td>☐</td> <td>Ciertos documentos citados</td> </tr> <tr> <td>VII</td> <td>☐</td> <td>Ciertos defectos en la solicitud internacional</td> </tr> <tr> <td>VIII</td> <td>☐</td> <td>Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional</td> </tr> </table>			I	☒	Bases del reporte	II	☐	Prioridad	III	☐	No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad Industrial	IV	☐	Falta de unidad de invención	V	☒	Afirmación razonada de conformidad con el Artículo 35(2) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial, citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación	VI	☐	Ciertos documentos citados	VII	☐	Ciertos defectos en la solicitud internacional	VIII	☐	Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional
I	☒	Bases del reporte																								
II	☐	Prioridad																								
III	☐	No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad Industrial																								
IV	☐	Falta de unidad de invención																								
V	☒	Afirmación razonada de conformidad con el Artículo 35(2) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial, citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación																								
VI	☐	Ciertos documentos citados																								
VII	☐	Ciertos defectos en la solicitud internacional																								
VIII	☐	Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional																								
Fecha de presentación de la demanda 06/08/2002	Fecha de terminación de este reporte 06/09/2002																									
Nombre y dirección de correo de la IPEA Oficina de Patentes Europea, P B 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Holanda Tel (+31 70) 340-2040 Fax (+31 70) 340-3016	Funcionario autorizado VERHULST W Teléfono No (+49-89) 2399 2828																									

I Bases del Reporte

La base de este reporte de examen preliminar internacional es la solicitud como fue originalmente presentada

V Declaración razonada según la Regla 66.2(a)(II) con respecto a la novedad nivel inventivo o aplicación Industrial

A la luz de los documentos citados en el reporte de búsqueda internacional se considera que la invención según lo definido en las reivindicaciones cumple con los criterios mencionados en el Artículo 33(1) del PCT esto es parece ser novedosa involucrar un nivel inventivo y ser aplicable industrialmente

TENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

To:

MERCK & CO INC
126 East Lincoln Avenue
Rahway NJ 07065 0907
ETATS UNIS D AMERIQUE

PAT REG COORD
DOCKET
ATTORNEY
MAINTANANCE
CASE REFERENCE CLERK
OTHER

SEP 18 2002

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT

(PCT Rule 71.1)

Date of mailing
(day/month/year)

11/09/2002

Applicant or agent's file reference

PCT 20717YS

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/US 02/ 03086

International filing date (day/month/year)

18/01/2002

Priority date (day/month/year)

22/01/2001

Applicant

MERCK & CO INC et al

1 The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary examination report and its annexes, if any established on the international application.

2 A copy of the report and its annexes, if any, being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.

3 Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.

4. REMINDER

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices)(Article 39(1))(see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where translation of the international application must be furnished to an elected Office that translation must contain translation of any annexes to the international preliminary examination report. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further detail on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether in that State the claimed inventions are patentable or not (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate for example to exemptions from patentability requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

Name and mailing address of the IPHA/

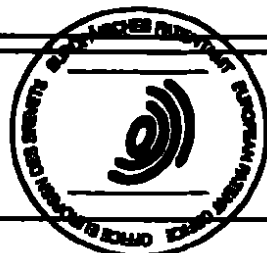


European Patent Office P B 3818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk Netherlands
Tel. (+31 70) 340-2040
Fax. (+31 70) 340-3016

Authorized officer

LUOMA M P

Tel. (+49-89) 2399 2828



Form PCT/IPEA/416 (August 2002) P20473

TENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant or agent's file reference PCT 20717YS	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/US 02/ 03086	International filing date (day/month/year) 18/01/2002	Priority date (day/month/year) 22/01/2001
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07H19/14		
Applicant MERCK & CO INC et al		

1	This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36
2	This REPORT consists of total of <u>2</u> sheets, including this cover sheet. ☐ This report is also accompanied by ANNEXES i.e. sheets of the description, claim and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectification made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consists of total of _____ sheets.
3	This report contains indication relating to the following items: I ☒ Basis of the report II ☐ Priority III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty inventive step and industrial applicability IV ☐ Lack of unity of invention V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty inventive step or industrial applicability citation and explanations supporting such statement VI ☐ Certain documents cited VII ☐ Certain defects in the international application VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 06/08/2002	Date of completion of this report 06/09/2002
Name and mailing address of the IPEA/  European Patent Office P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Netherlands Tel (+31 70) 340-2040 Fax (+31 70) 340-3016	Authorized officer VERHULST W Tel (+49-89) 2399 2828

Form PCT/IPEA/409 (cover sheet) (July 1998)



29
21

I Basis of the report

The basis of this international preliminary examination is the application as originally filed

**V Reasoned statement under Rule 66.2(a)(II) with regard to novelty Inventive step or
Industrial applicability**

In light of the documents cited in the international search report, it is considered that the invention as defined in the claims meets the criteria mentioned in Article 33 (1) PCT i.e. it appears to be novel to involve an inventive step and to be industrially applicable

TÍTULO DEL INVENTO**COMPUESTOS NUCLEÓSIDOS COMO INHIBIDORES DE POLIMERASA DE
ARN VIRAL DEPENDIENTE DE ARN**

5

RESUMEN OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

El presente invento proporciona compuestos nucleósidos y ciertos de sus derivados que son inhibidores de la polimerasa de ARN viral dependiente del ARN. Estos compuestos son inhibidores de la replicación del ARN viral dependiente del ARN y son útiles para el tratamiento de la infección viral por ARN dependiente del ARN. Son particularmente útiles como inhibidores de la polimerasa NS5B del virus de la hepatitis C (VHC) como inhibidores de la replicación del VHC y/o para el tratamiento de la infección por hepatitis C. El invento describe también composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos nucleósidos solos o en combinación con otros agentes con actividad contra la infección viral por ARN dependiente del ARN en particular la infección por el VHC. También se divulgan métodos para inhibir la polimerasa de ARN dependiente del ARN, inhibir la replicación del ARN viral dependiente del ARN y/o tratar la infección viral por ARN dependiente del ARN con los compuestos nucleósidos del presente invento.

10

15

TÍTULO DEL INVENTO
COMPUESTOS NUCLEÓSIDOS COMO INHIBIDORES DE POLIMERASA DE
ARN VIRAL DEPENDIENTE DE ARN

5 ALCANCE DEL INVENTO

El presente invento se ocupa de los compuestos nucleósidos y de algunos de sus derivados su síntesis y su uso como inhibidores de la polimerasa de ARN viral dependiente de ARN. Los compuestos del presente invento son inhibidores de la replicación del ARN viral dependiente de ARN siendo útiles para el

10 tratamiento de la infección por el ARN viral dependiente de ARN. Son particularmente útiles como inhibidores de la polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (VHC), como inhibidores de la replicación del VHC y para el tratamiento de la infección por hepatitis C.

15 ANTECEDENTES DEL INVENTO

La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) es un problema sanitario importante que culmina en enfermedad hepática crónica, por ejemplo, cirrosis y carcinoma hepatocelular en un número elevado de individuos infectados que se calcula entre el 2 y el 15% de la población mundial. Solamente en los Estados

20 Unidos se calcula que hay 4.5 millones de personas infectadas de acuerdo con el Centro de Control de Enfermedades de los EE UU. Según la Organización Mundial de la Salud hay más de 200 millones de individuos infectados en todo el mundo, a los que se suman al menos 3 a 4 millones de personas que contraen la infección anualmente. Una vez infectados aproximadamente un 20% de los individuos se

25 libran del virus, pero el resto alberga al VHC por el resto de su vida. Del 10 al 20 por ciento de los individuos crónicamente infectados finalmente contraen cirrosis o cáncer que les destruye el hígado. La enfermedad viral se transmite por vía parenteral mediante la sangre y productos sanguíneos contaminados, agujas hipodérmicas contaminadas o por transmisión sexual, así como verticalmente de las madres

30 infectadas o portadoras a sus hijos. Los tratamientos actuales para la infección por el VHC que están restringidos a la inmunoterapia con interferón- α solo o combinado con el análogo de nucleósido ribavirina, ofrecen un beneficio clínico limitado. Además, no se cuenta con una vacuna establecida para el VHC. Por consiguiente, hay una necesidad urgente de obtener agentes terapéuticos mejores que combatan

35 eficazmente la infección crónica por el VHC. Se examinó la situación actual de la

- tecnología referente al tratamiento de la infección por el VHC haciéndose referencia a las siguientes publicaciones B Dymock y col 'Novel approaches to the treatment of hepatitis C virus infection [Nuevos enfoques para el tratamiento de la infección por el virus de hepatitis C] Antiviral Chemistry & Chemotherapy 11 79 96 (2000) H
- 5 Rosen y col Hepatitis C virus current understanding and prospects for future therapies [Virus de hepatitis C conocimientos actuales y prospectos para terapias futuras] Molecular Medicine Today 5 393 399 (1999) D Moradpour y col 'Current and evolving therapies for hepatitis C' [Terapias para la hepatitis C actuales y en evolución] European J. Gastroenterol Hepatol, 11 1189-1202 (1999) R
- 10 Bartschlagger "Candidate Targets for Hepatitis C Virus-Specific Antiviral Therapy [Candidatos de objetivos para la terapia antiviral específica contra el virus de la hepatitis C] Intervirology 40 378 393 (1997) G M Lauer y B D Walker Hepatitis C Virus Infection [Infección por el virus de hepatitis C] N Engl J Med 345 41 52 (2001) B W Dymock, 'Emerging therapies for hepatitis C virus infection [Terapias en desarrollo para la infección por el virus de hepatitis C] Emerging Drugs, 6 13-42 (2001) y C Crabb, Hard Won Advances Spark Excitement about Hepatitis C [Adelantos logrados a duras penas causan entusiasmo acerca de la hepatitis C] Science 506-507 (2001) los textos de todos los cuales se incorporan aquí por referencia en su totalidad
- 15
- 20 Se han adoptado abordajes diferentes a la terapia para el VHC que incluyen la inhibición de la proteínasa serínica viral (proteasa NS3) helicasa y polimerasa de ARN dependiente de ARN (NS5B) y la formulación de una vacuna.
- El virión del VHC es un virus cubierto de cadena positiva de ARN con una sola secuencia genómica oligorribonucleótida de aproximadamente 9600
- 25 bases que codifica una poliproteína de unos 3 010 aminoácidos Los productos proteicos del gen del VHC comprenden las proteínas estructurales C E1 y E2 y las proteínas no estructurales NS2 NS3 NS4A y NS4B NS5A y NS5B Se cree que las proteínas no estructurales (NS) proporcionan la maquinaria catalítica para la replicación viral La proteasa NS3 libera NS5B la polimerasa de ARN dependiente de ARN de la cadena poliproteica La polimerasa NS5B del VHC es necesaria para la síntesis de un ARN bicatenario a partir de un ARN viral monocatenario que sirve como plantilla en el ciclo de replicación del VHC Por lo tanto, la polimerasa NS5B se considera como un componente esencial en el complejo de replicación del VHC [ver K Ishi y col 'Expression of Hepatitis C Virus NS5B Protein Characterization of Its RNA Polymerase Activity and RNA Binding [Expresión de la proteína NS5B
- 30
- 35

del virus de la hepatitis C Caracterización de su actividad de polimerasa de ARN y conjugación de ARN] Hepatology 29 1227 1235 (1999) y V Lohmann y col

- 5 Biochemical and Kinetic Analyses of NS5B RNA Dependent RNA Polymerase of the Hepatitis C Virus [Análisis bioquímico y cinético de la polimerasa de ARN dependiente de ARN NS5B del virus de la hepatitis C] Virology 249 108 118 (1998)] La inhibición de la polimerasa NS5B del VHC impide la formación del ARN bicatenario del VHC y por lo tanto, representa un abordaje atractivo para concebir tratamientos antivirales específicos para el VHC

- 10 Actualmente se ha descubierto que los compuestos nucleósidos del presente invento y ciertos derivados de los mismos son inhibidores potentes de la replicación del ARN viral dependiente del ARN y en particular de la replicación del VHC Los derivados 5 trifosfato de estos compuestos nucleósidos son inhibidores de la polimerasa de ARN viral dependiente del ARN y en particular de la polimerasa NS5B del VHC Los compuestos nucleósidos de que se trata y sus derivados son
- 15 útiles para el tratamiento de la infección por ARN viral dependiente de ARN y en particular de la infección por el VHC

- Por consiguiente, un objetivo del presente invento es proporcionar compuestos nucleósidos y ciertos de sus derivados que sean útiles como inhibidores de la polimerasa de ARN viral dependiente de ARN y en particular como inhibidores
- 20 de la polimerasa NS5B del VHC

Otro objetivo más del presente invento es proporcionar compuestos nucleósidos y ciertos de sus derivados que sean útiles como inhibidores de la replicación de un virus de ARN dependiente de ARN y en particular como inhibidores de la replicación del virus de la hepatitis C

- 25 Otro objetivo más del presente invento es proporcionar compuestos nucleósidos y ciertos de sus derivados que sean útiles en el tratamiento de la infección por ARN viral dependiente de ARN y en particular en el tratamiento de la infección por el VHC

- Otro objetivo más del presente invento es proporcionar composiciones
- 30 farmacéuticas que comprendan los compuestos nucleósidos del presente invento asociados con un agente portador farmacéuticamente aceptable

- Otro objetivo más del presente invento es proporcionar composiciones farmacéuticas que comprendan los compuestos nucleósidos del presente invento y sus derivados para usar como inhibidores de la polimerasa de ARN viral dependiente de
- 35 ARN y en particular como inhibidores de la polimerasa NS5B del VHC

Otro objetivo más del presente invento consiste en proporcionar composiciones farmacéuticas que comprendan los compuestos nucleósidos del presente invento y sus derivados para usar como inhibidores de la replicación del ARN viral dependiente del ARN y en particular como inhibidores de la replicación del VHC

Otro objetivo más del presente invento es proporcionar composiciones farmacéuticas que comprendan los compuestos nucleósidos del presente invento y sus derivados para usar en el tratamiento de la infección viral dependiente del ARN y en particular en el de la infección por el VHC

Otro objetivo más del presente invento es proporcionar composiciones farmacéuticas que comprendan los compuestos nucleósidos del presente invento y sus derivados en combinación con otros agentes con actividad contra un virus de ARN dependiente de ARN y en particular contra el VHC

Otro objetivo más del presente invento es proporcionar métodos para la inhibición de la polimerasa de ARN viral dependiente de ARN y en particular para la inhibición de la polimerasa NS5B del VHC

Otro objetivo más del presente invento es proporcionar métodos para la inhibición de la replicación del ARN viral dependiente del ARN y en particular para la inhibición de la replicación del VHC

Otro objetivo más del presente invento es proporcionar métodos para el tratamiento de la infección por ARN viral dependiente de ARN y en particular para el tratamiento de la infección por el VHC

Otro objetivo más del presente invento es proporcionar métodos para el tratamiento de la infección por ARN viral dependiente de ARN en combinación con otros agentes activos contra el virus de ARN dependiente de ARN y en particular para el tratamiento de la infección por el VHC, en combinación con otros agentes con actividad contra el VHC

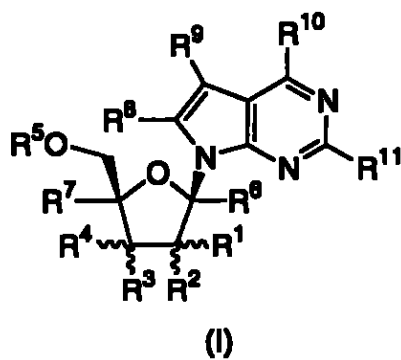
Otro objetivo más del presente invento es proporcionar compuestos nucleósidos y ciertos de sus derivados y sus composiciones farmacéuticas, para usar como un medicamento para la inhibición de la replicación del ARN viral dependiente del ARN y/o para el tratamiento de la infección viral dependiente del ARN y en particular para la inhibición de la replicación del VHC y/o el tratamiento de la infección por el VHC

Otro objetivo más del presente invento es estipular el uso de los compuestos nucleósidos del presente invento y ciertos de sus derivados así como sus

30
27

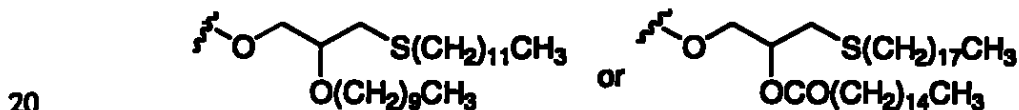
- composiciones farmacéuticas para la producción de un medicamento destinado a inhibir la replicación del ARN viral dependiente del ARN y/o para el tratamiento de la infección viral dependiente del ARN y en particular para inhibir la replicación del VHC y/o para el tratamiento de la infección por el VHC
- 5 Estos y otros objetivos se pondrán en evidencia a partir de la descripción detallada siguiente

- RESUMEN DEL INVENTO**
- El presente invento se relaciona con compuestos de la fórmula
- 10 estructural I de la configuración esteroquímica indicada



- o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos
donde R¹ es C₂₋₄ alquenilo, C₂₋₄ alquinilo o C₁₋₄ alquilo, donde el alquilo es insustituido o sustituido con hidroxilo amino C₁₋₄ alcoxi C₁₋₄ alquiltio o uno a tres
- 15 átomos de flúor
R² es hidrógeno flúor hidroxilo mercapto, C₁₋₄ alcoxi o C₁₋₄ alquilo o R¹ y R² conjuntamente con el átomo de carbono al cual se conjugan forman un sistema de anillo monocíclico saturado de 3 a 6 miembros, que contiene optativamente un heteroátomo seleccionado a partir de O S y NC₀₋₄ alquilo
- 20 R³ y R⁴ se seleccionan independientemente a partir del grupo que comprende hidrógeno, ciano, azido halógeno, hidroxilo mercapto, amino, C₁₋₄ alcoxi C₂₋₄ alquenilo, C₂₋₄ alquinilo y C₁₋₄ alquilo donde alquilo es insustituido o sustituido con hidroxilo amino, C₁₋₄ alcoxi C₁₋₄ alquiltio o uno a tres átomos de flúor
R⁵ es hidrógeno, C₁₋₁₀ alquilcarbonilo, P₃O₉H₄, P₂O₆H₃ o P(O)R¹³R¹⁴
- 25 R⁶ y R⁷ son cada uno independientemente hidrógeno metilo, hidroximetilo o fluorometilo

- 5 R^8 es hidrógeno, C_{1-4} alquilo, C_{2-4} alquínilo, halógeno, ciano, carboxi, C_{1-4} alquiloxicarbonilo, azido, amino, C_{1-4} alquilamino, $di(C_{1-4}$ alquil)amino, hidroxí, C_{1-6} alcoxi, C_{1-6} alquiltio, C_{1-6} alquilsulfonilo, $(C_{1-4}$ alquilo)0-2 aminometilo o C_{4-6} cicloheteroalquilo insustituido o sustituido con uno a dos grupos seleccionados independientemente a partir de halógeno, hidroxí, amino, C_{1-4} alquilo y C_{1-4} alcoxi.
 10 R^9 es hidrógeno, ciano, nitro, C_{1-3} alquilo, $NHCONH_2$, $CONR^{12}R^{12}$, $CSNR^{12}R^{12}$, $COOR^{12}$, $C(=NH)NH_2$, hidroxí, C_{1-3} alcoxi, amino, C_{1-4} alquilamino, $di(C_{1-4}$ alquil)amino, halógeno, (1,3-oxazol-2-ilo), (1,3-tiazol-2-ilo) o (imidazol-2-ilo) donde el alquilo es insustituido o sustituido con uno a tres grupos seleccionados independientemente a partir de halógeno, amino, hidroxí, carboxi y C_{1-3} alcoxi.
 15 R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente hidrógeno, hidroxí, halógeno, C_{1-4} alcoxi, amino, C_{1-4} alquilamino, $di(C_{1-4}$ alquil)amino, C_{3-6} cicloalquilamino, $di(C_{3-6}$ cicloalquil)amino o C_{4-6} cicloheteroalquilo insustituido o sustituido con uno a dos grupos seleccionados independientemente a partir de halógeno, hidroxí, amino, C_{1-4} alquilo y C_{1-4} alcoxi.
 cada R^{12} es independientemente hidrógeno o C_{1-6} alquilo, y R^{13} y R^{14} son cada uno independientemente hidroxí, $OCH_2CH_2SC(=O)C_{1-4}$ alquilo, $OCH_2O(C=O)OC_{1-4}$ alquilo, $NHCHMeCO_2Me$, $OCH(C_{1-4}$ alquil) $O(C=O)C_{1-4}$ alquilo,



siempre que, cuando R^1 es β -metilo y R^4 es hidrógeno o R^4 es β -metilo y R^1 es hidrógeno, R^2 y R^3 son α -hidroxí, R^{10} es amino y R^5 , R^6 , R^7 , R^8 y R^{11} son hidrógeno, entonces R^9 no es ciano ni $CONH_2$.

- 25 Los compuestos de fórmula I son útiles como inhibidores de la polimerasa de ARN viral dependiente de ARN y en particular de la polimerasa NS5B del VHC. También son inhibidores de la replicación del ARN viral dependiente del ARN y en particular de la replicación del VHC y son útiles para el tratamiento de la infección por ARN viral dependiente de ARN y en particular para el tratamiento de la infección por el VHC.

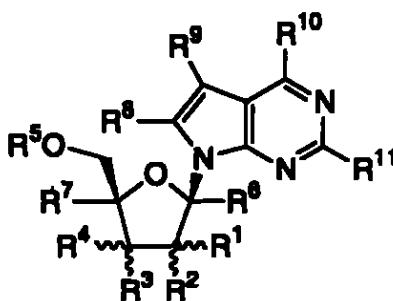
- 30 Dentro del presente invento también están comprendidas composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos solos o combinados con

otros agentes activos contra virus de ARN dependientes de ARN y en particular contra el VHC así como métodos para la inhibición de la replicación del ARN viral dependiente del ARN y para el tratamiento de la infección por ARN viral dependiente del ARN

5

DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL INVENTO

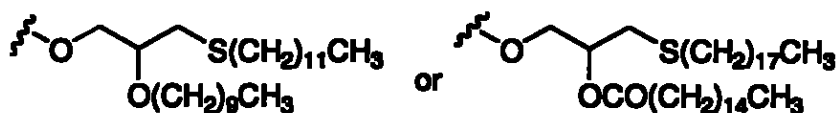
El presente invento se relaciona con compuestos de la fórmula estructural I de la configuración estereoquímica indicada



(I)

- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos
donde R¹ es C₂₋₄ alquenoilo, C₂₋₄ alquinoilo o C₁₋₄ alquilo, donde el alquilo es insustituido o sustituido con hidroxilo amino, C₁₋₄ alcoxi C₁₋₄ alquiltio o uno a tres átomos de flúor
R² es hidrógeno, flúor hidroxilo mercapto, C₁₋₄ alcoxi o C₁₋₄ alquilo o R¹ y R²
- 15 conjuntamente con el átomo de carbono al cual se conjugan forman un sistema de anillo monocíclico saturado de 3 a 6 miembros que optativamente contiene un heteroátomo seleccionado a partir de O S y NC₀₋₄ alquilo
R³ y R⁴ se seleccionan independientemente a partir del grupo que comprende hidrógeno, ciano, azido halógeno, hidroxilo mercapto, amino C₁₋₄ alcoxi C₂₋₄
- 20 alquenoilo C₂₋₄ alquinoilo y C₁₋₄ alquilo donde el alquilo es insustituido o sustituido con hidroxilo amino C₁₋₄ alcoxi C₁₋₄ alquiltio o uno a tres átomos de flúor
R⁵ es hidrógeno C₁₋₁₀ alquilcarbonilo, P₃O₉H₄, P₂O₆H₃ o P(O)R¹³R¹⁴
R⁶ y R⁷ son cada uno independientemente hidrógeno metilo hidroximetilo o fluorometilo
- 25 R⁸ es hidrógeno C₁₋₄ alquilo, C₂₋₄ alquinoilo halógeno ciano carboxilo C₁₋₄ alquilo oxycarbonilo azido, amino C₁₋₄ alquilamino, di(C₁₋₄ alquil)amino, hidroxilo

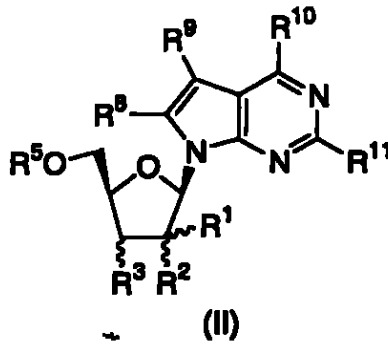
- C₁₋₆ alcoxi, C₁₋₆ alquiltío, C₁₋₆ alquilsulfonilo, (C₁₋₄ alquilo)₀₋₂ aminometilo o C₄₋₆ cicloheteroalquilo, insustituido o sustituido con uno a dos grupos seleccionados independientemente a partir de halógeno, hidroxilo, amino, C₁₋₄ alquilo y C₁₋₄ alcoxi. R⁹ es hidrógeno, ciano, nitro, C₁₋₃ alquilo, NHCONH₂, CONR¹²R¹², CSNR¹²R¹².
- 5 COOR¹², C(=NH)NH₂, hidroxilo, C₁₋₃ alcoxi, amino, C₁₋₄ alquilamino, di(C₁₋₄ alquil)amino, halógeno, (1,3-oxazol-2-ilo), (1,3-tiazol-2-ilo) o (imidazol-2-ilo) donde el alquilo es insustituido o sustituido con uno a tres grupos seleccionados independientemente a partir de halógeno, amino, hidroxilo, carboxilo y C₁₋₃ alcoxi.
- 10 R¹⁰ y R¹¹ son cada uno independientemente, hidrógeno, hidroxilo, halógeno, C₁₋₄ alcoxi, amino, C₁₋₄ alquilamino, di(C₁₋₄ alquil)amino, C₃₋₆ cicloalquilamino, di(C₃₋₆ cicloalquil)amino o C₄₋₆ cicloheteroalquilo, insustituido o sustituido con uno a dos grupos seleccionados independientemente a partir de halógeno, hidroxilo, amino, C₁₋₄ alquilo y C₁₋₄ alcoxi.
- cada R¹² es independientemente hidrógeno o C₁₋₆ alquilo y
- 15 R¹³ y R¹⁴ son cada uno independientemente, hidroxilo, OCH₂CH₂SC(=O)C₁₋₄ alquilo, OCH₂O(C=O)OC₁₋₄ alquilo, NHCHMeCO₂Me, OCH(C₁₋₄ alquil)O(C=O)C₁₋₄ alquilo,



- siempre que cuando R¹ es β metilo y R⁴ es hidrógeno o R⁴ es β metilo y R¹ es hidrógeno, R² y R³ son α hidroxilo, R¹⁰ es amino y R⁵, R⁶, R⁷, R⁸ y R¹¹ son hidrógeno, entonces R⁹ no es ciano ni CONH₂.
- 20

- Los compuestos de la fórmula I son útiles como inhibidores de la polimerasa de ARN viral dependiente de ARN. También son inhibidores de la replicación del ARN viral dependiente de ARN y son útiles para el tratamiento de la infección por ARN viral dependiente de ARN.
- 25

En una realización de los compuestos de la fórmula estructural I están los compuestos de la fórmula estructural II



- o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos
donde
- R^1 es C_{1-3} alquilo donde el alquilo es insustituido o sustituido con hidroxilo amino,
- 5 C_{1-3} alcoxi C_{1-3} alquiltio o uno a tres átomos de flúor
- R^2 es hidroxilo flúor o C_{1-3} alcoxi
- R^3 es hidrógeno halógeno, hidroxilo amino o C_{1-3} alcoxi
- R^5 es hidrógeno, $P_3O_9H_4$, $P_2O_6H_3$ o PO_3H_2
- R^8 es hidrógeno, amino o C_{1-4} alquilamino
- 10 R^9 es hidrógeno, ciano, metilo, halógeno o $CONH_2$ y
- R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente, hidrógeno halógeno, hidroxilo amino
- C_{1-4} alquilamino, $di(C_{1-4}$ alquil)amino o C_{3-6} cicloalquilamino
- siempre que cuando R^1 es β metilo, R^2 y R^3 son α hidroxilo R^{10} es amino y R^5 R^8 y R^{11} son hidrógeno entonces R^9 no es ciano ni $CONH_2$
- 15 En una segunda realización de los compuestos de la fórmula estructural I se encuentran los compuestos de fórmula estructural II donde
- R^1 es metilo, fluorometilo, hidroximetilo, difluorometilo, trifluorometilo o aminometilo
- R^2 es hidroxilo flúor o metoxilo
- 20 R^3 es hidrógeno fluor hidroxilo amino o metoxilo
- R^5 es hidrógeno o $P_3O_9H_4$,
- R^8 es hidrógeno o amino
- R^9 es hidrógeno, ciano, metilo halógeno o $CONH_2$ y
- R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente, hidrógeno, flúor hidroxilo o amino
- 25 siempre que cuando R^1 es β -metilo, R^2 y R^3 son α -hidroxilo R^{10} es amino y R^5 R^8 y R^{11} son hidrógeno entonces R^9 no es ciano ni $CONH_2$

Los ejemplos ilustrativos pero no limitantes de compuestos del presente invento, de fórmula estructural I, que son útiles como inhibidores de la polimerasa de ARN viral dependiente de ARN son los siguientes

- 4-amino-7 (2 C metilo- β D-arabinofuranosil)-7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina,
 5 4-amino-7 (2 C metilo- β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina,
 4-metilamino-7 (2 C metilo- β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina
 4-dimetilamino-7 (2 C metilo- β D-ribofuranosil) 7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina,
 4-ciclopropilamino-7 (2 C metilo- β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina
 4-amino-7-(2 C vinil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina,
 10 4-amino-7 (2 C hidroximetil- β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina,
 4-amino-7 (2 C fluorometil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-*d*]pirimidina
 4-amino-5 metilo-7 (2 C metil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina,
 ácido 4-amino-7 (2 C metil β D-ribofuranosil) 7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina 5
 carboxílico,
 15 4-amino-5 bromo-7 (2 C metil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-*d*]pirimidina
 4-amino-5-cloro-7-(2 C metilo- β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-*d*]pirimidina,
 4-amino-5 flúor 7 (2 C metil β D-ribofuranosil) 7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina,
 2 4-diamino-7 (2-C metil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-*d*]pirimidina,
 2 amino-7 (2-C metil β D-ribofuranosil) 7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina,
 20 2 amino-4-ciclopropilamino-7 (2 C metil β D ribofuranosil) 7H pirrol[2 3-
d]pirimidina,
 2 amino-7 (2-C metil β D-ribofuranosil) 7H pirrol[2 3-*d*]pirimidín-4(3H)-ona,
 4-amino-7-(2 C-etil β D ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina
 4-amino-7 (2-C 2-O-dimetil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina,
 25 7-(2 C metil β D-ribofuranosil) 7H pirrol[2 3-*d*]pirimidín-4(3H)-ona,
 2-amino-5 metil 7 (2-C 2-O-dimetil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-*d*]pirimidín
 4(3H)-ona,
 4-amino-7-(3-desoxi 2 C metil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-*d*] pirimidina,
 4-amino-7 (3-desoxi 2 C metil β D-arabinofuranosil)-7H pirrol[2,3-*d*] pirimidina,
 30 4-amino-2-flúor 7 (2-C metil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina,
 2 4-diamino-7 (2-C metil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina
 4-amino-7 (3 C metil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina
 4-amino-7-(3 C metil β D-xilofuranosil) 7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina,
 4-amino 7 (2,4-di C metil β D-ribofuranosil) 7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina y

4-amino-7-(3 desoxi 3 flúor 2-C metil β D-ribofuranosil) 7H pirrol[2 3

d]pirimidina

y los 5 trifosfatos correspondientes

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos

- 5 Otra ilustración del presente invento son los compuestos seleccionados a partir del grupo que comprende

4-amino-7 (2 C metil β D-arabinofuranosil)-7H pirrol[2 3-d]pirimidina,

4-amino-7 (2-C metil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina,

4-amino-7-(2 C fluorometil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-d]pirimidina,

- 10 4-amino-5 metil 7 (2 C metil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina,

4-amino-5 bromo-7 (2 C metil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina

4-amino-5-cloro-7 (2 C metil- β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-d]pirimidina

4-amino-5 flúor 7 (2 C metil β D-ribofuranosil) 7H pirrol[2 3-d]pirimidina,

y

- 15 4-amino-7 (2-C 2-O-dimetil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina

y los 5 trifosfatos correspondientes

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos

En una realización del presente invento, los compuestos nucleósidos del presente invento son útiles como inhibidores de la polimerasa monocatenaria de

- 20 sentido positivo del ARN viral dependiente de ARN como inhibidores de la replicación monocatenaria de sentido positivo del ARN viral dependiente del ARN y/o son útiles para el tratamiento de la infección por ARN viral monocatenario de sentido positivo, dependiente del ARN En una clase de esta realización, el virus de ARN monocatenario de sentido positivo, dependiente de ARN es un virus

- 25 *Flaviviridae* o un virus *Picornaviridae* En una subclase de esta clase el virus *Picornaviridae* es un rinovirus un poliovirus o un virus de la hepatitis A En una segunda subclase de esta clase, el virus *Flaviviridae* se selecciona a partir del grupo que comprende el virus de hepatitis C el de la fiebre amarilla, el del dengue el del Nilo occidental el de la encefalitis japonesa, el virus Banzí y el de la diarrea viral
- 30 bovina (VDVB) En una subclase de esta subclase el virus *Flaviviridae* es el virus de la hepatitis C

Otro aspecto del presente invento se ocupa de un método para inhibir la polimerasa de ARN viral dependiente de ARN un método para inhibir la replicación del ARN viral dependiente del ARN y/o un método para tratar la infección

por ARN viral dependiente del ARN en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula estructural I

- En una realización de este aspecto del presente invento la polimerasa de ARN viral dependiente de ARN es una polimerasa monocatenaria de sentido positivo de ARN viral dependiente de ARN. En una clase de esta realización la polimerasa monocatenaria de sentido positivo de ARN viral dependiente de ARN es una polimerasa de virus *Flaviviridae* o de virus *Picornaviridae*. En una subclase de esta clase, la polimerasa de virus *Picornaviridae* es polimerasa de rinovirus, polimerasa de poliovirus o polimerasa de virus de hepatitis A. En una segunda subclase de esta clase la polimerasa de virus *Flaviviridae* se selecciona a partir del grupo que comprende polimerasa del virus de hepatitis C del virus de fiebre amarilla, del virus de dengue, del virus del Nilo occidental, del virus de la encefalitis japonesa, del virus Banzai y del virus de la diarrea viral bovina (VDVB). En una subclase de esta subclase, la polimerasa de virus *Flaviviridae* es polimerasa del virus de hepatitis C.

- En una segunda realización de este aspecto del presente invento, la replicación del ARN viral dependiente del ARN es una replicación monocatenaria de sentido positivo del ARN viral dependiente del ARN. En una clase de esta realización la replicación monocatenaria de sentido positivo del ARN viral dependiente del ARN es la replicación de virus *Flaviviridae* o de virus *Picornaviridae*. En una subclase de esta clase, la replicación de virus *Picornaviridae* es replicación de rinovirus, poliovirus o virus de hepatitis A. En una segunda subclase de esta clase, la replicación de virus *Flaviviridae* se selecciona a partir del grupo que comprende la replicación del virus de hepatitis C del virus de la fiebre amarilla del virus de dengue, del virus del Nilo occidental del virus de la encefalitis japonesa del virus Banzai y del virus de la diarrea viral bovina. En una subclase de esta subclase, la replicación de virus *Flaviviridae* es replicación del virus de hepatitis C.

- En una tercera realización de este aspecto del presente invento la infección por ARN viral dependiente de ARN es una infección viral monocatenaria de sentido positivo dependiente del ARN. En una clase de esta realización la infección por ARN viral monocatenario de sentido positivo dependiente del ARN es una infección por virus *Flaviviridae* o por virus *Picornaviridae*. En una subclase de esta clase la infección por virus *Picornaviridae* es una infección por rinovirus poliovirus

- o virus de hepatitis A En una segunda subclase de esta clase, la infección por virus *Flaviviridae* se selecciona a partir del grupo que comprende infección por virus de hepatitis C de fiebre amarilla, del dengue del Nilo occidental de la encefalitis japonesa por virus Banzai y por virus de la diarrea viral bovina En una subclase de esta subclase, la infección por virus *Flaviviridae* es infección por virus de hepatitis C

A través de toda esta solicitud, los siguientes términos tienen los significados indicados

- Los grupos alquilo especificados antes intentan incluir los grupos alquilo de la longitud indicada, en una configuración recta o ramificada Los ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec- y terc butilo pentilo isopentilo, hexilo isohexilo y similares

El término 'alquenilo' significará alquenos de cadena recta o ramificada, de dos a seis átomos de carbono o de cualquier número dentro de estos límites (por ejemplo, etenilo, propenilo butenilo, pentenilo, etc)

- El término alquinilo significará alquinos de cadena recta o ramificada, de dos a seis átomos de carbono o cualquier número dentro de estos límites (por ejemplo, etinilo propinilo, butinilo pentinilo, etc)

El término cicloalquilo significará anillos cíclicos de alcanos de tres a ocho átomos de carbono o de cualquier número dentro de estos límites (es decir ciclopropilo ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo cicloheptilo o ciclooctilo)

- El término cicloheteroalquilo intenta incluir heterociclos no aromáticos que contienen uno o dos heteroátomos seleccionados a partir del nitrógeno, oxígeno y azufre Los ejemplos de cicloheteroalquilo de 4 a 6 miembros incluyen acetidinilo pirrolidinilo, piperidinilo morfolinilo tiamorfolinilo, imidazolidinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropirranilo tetrahidrotiofenilo, piperacínulo y similares

- El término "alcoxi" se refiere a alcóxidos de cadena recta o ramificada, con el número especificado de átomos de carbono (por ejemplo, C₁₋₄ alcoxi) o cualquier número dentro de estos límites [es decir metoxi (MeO-) etoxi isopropoxi etc]

El término alquiltío se refiere a alquilsulfuros de cadena recta o ramificada, con el número especificado de átomos de carbono (por ejemplo, C₁₋₄ alquiltío) o cualquier número dentro de estos límites [es decir metiltío (MeS) etiltío, isopropiltío, etc]

El término "alquilamino" se refiere a alquilaminas de cadena recta o ramificada, con el número especificado de átomos de carbono (por ejemplo C₁₋₄ alquilamino) o cualquier número dentro de estos límites [es decir metilamino etilamino, isopropilamino, t butilamino etc]

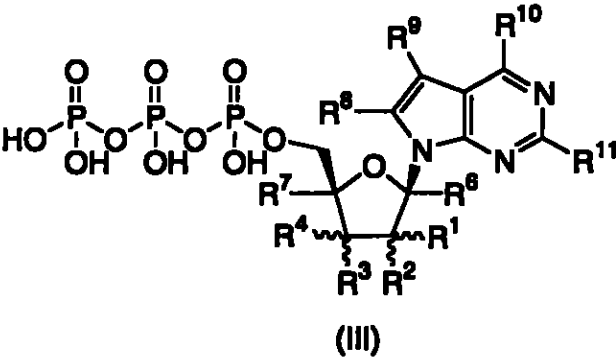
- 5 El término 'alquilsulfonilo' se refiere a alquilsulfonas de cadena recta o ramificada, con el número especificado de átomos de carbono (por ejemplo, C₁₋₆ alquilsulfonilo) o cualquier número dentro de estos límites [es decir metilsulfonilo (MeSO₂) etilsulfonilo, isopropilsulfonilo, etc]

- 10 El término 'alquiloxicarbonilo' se refiere a ésteres de cadena recta o ramificada de un derivado de ácido carboxílico del presente invento, con el número de átomos de carbono especificado (por ejemplo, C₁₋₄ alquiloxicarbonilo) o cualquier número dentro de estos límites [es decir metiloxycarbonilo (MeOCO-) etiloxycarbonilo o butiloxycarbonilo]

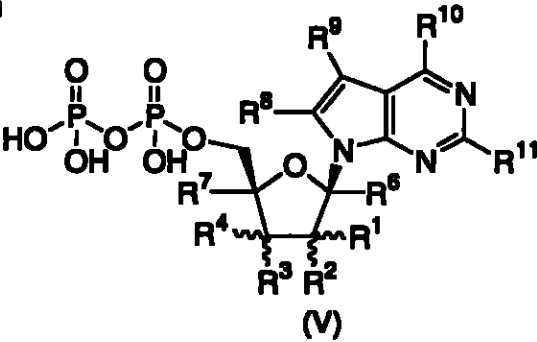
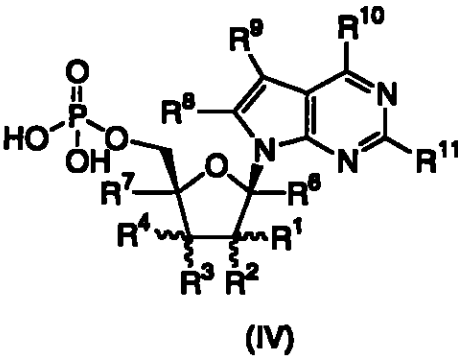
- 15 El término 'arilo' incluye tanto fenilo y naftilo como piridilo. El grupo arilo es optativamente sustituido con uno a tres grupos seleccionados independientemente a partir de C₁₋₄ alquilo, halógeno ciano, nitro, trifluorometilo, C₁₋₄ alcoxi y C₁₋₄ alquilho

- El término 'halógeno' intenta incluir los átomos halógenos de flúor cloro, bromo y yodo
- 20 El término 'sustituido' se considera que incluye grados múltiples de sustitución con un sustituyente identificado. En los casos en que se divulgan o reivindican múltiples porciones sustituyentes, el compuesto sustituido puede ser sustituido independientemente por una o más de las porciones sustituyentes que se divulgan o reivindican individual o pluralmente

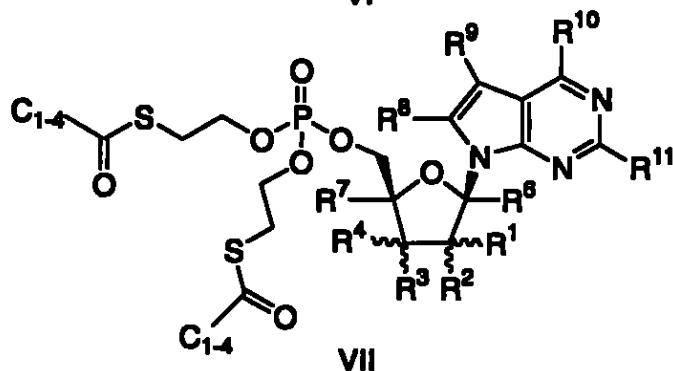
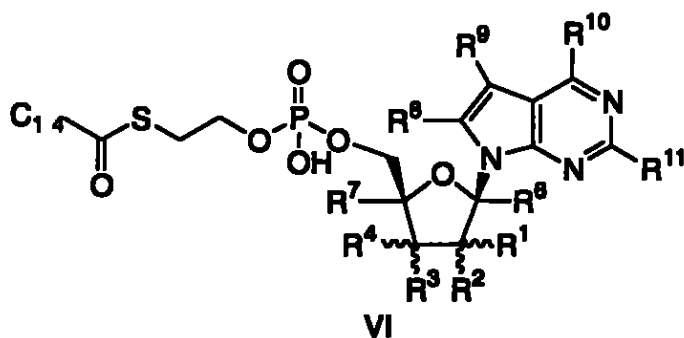
- 25 El término '5 trifosfato' se refiere a un derivado estéreo del ácido trifosfónico del grupo 5 hidroxilo de un compuesto nucleósido del presente invento, que tiene la siguiente fórmula estructural III general



donde R¹ R¹¹ son como se definió antes Los compuestos del presente invento también intentan incluir sales farmacéuticamente aceptables del éster trifosfato así como sales farmacéuticamente aceptables de derivados de éster 5 monofosfato y 5 difosfato de las fórmulas estructurales IV y V respectivamente,



El término 5 -(S acil 2 tioetil)fosfato o SATE se refiere a un derivado mono o di-éster de un derivado nucleósido 5 monofosfato del presente invento de fórmulas estructurales VI y VII, respectivamente, así como a las sales farmacéuticamente aceptables del monoéster



- El término composición como se usa en composición farmacéutica intenta comprender un producto que incluye el o los ingredientes activos y el o los ingredientes inertes que forman el agente portador así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente de la combinación
- 5 acomplejamiento o agregación de dos o más ingredientes cualquiera o de la disociación de uno o más de los ingredientes o de otros tipos de reacciones o interacciones de uno o más de los ingredientes De acuerdo con ello, las composiciones farmacéuticas del presente invento comprenden cualquier composición
- 10 formada por la mezcla de un compuesto del presente invento y un agente portador farmacéuticamente aceptable

Debe entenderse que los términos 'administración de y administrar un compuesto significan proporcionar un compuesto del invento o un profármaco de un compuesto del invento al individuo que lo necesite

- 15 Otro aspecto del presente invento se ocupa de un método para inhibir la polimerasa NS5B del VHC inhibir la replicación del VHC o tratar la infección por el VHC con un compuesto del presente invento en combinación con uno o más agentes útiles para el tratamiento de la infección por el VHC Dichos agentes activos contra el VHC incluyen entre otros, ribavirina, levovirina, viramudina, timosina alfa

1 interferón- α , interferón- α pegilado (peginterferón- α) una combinación de
 peginterferón- α y ribavirina, una combinación de interferón- α y levovirina y una
 combinación de peginterferón- α y levovirina El interferón- α incluye entre otros,
 interferón- α 2a recombinante (como interferón Roferon disponible de Hoffmann
 5 LaRoche Nutley NJ) interferón- α 2a pegilado (PegasysTM) interferón- α 2b (como
 Intron A disponible de Schering Corp Kenilworth NJ) interferón- α 2b pegilado
 (PegIntronTM) un interferón recombinante de consenso (como el interferón alfacon 1)
 y un producto purificado de interferón- α . El interferón recombinante de consenso, de
 Amgen tiene el nombre comercial de Infergen® La levovirina es el L-enantiómero
 10 de ribavirina, que ha demostrado actividad inmunomodulante similar a la de la
 ribavirina La viramidina representa un análogo de la ribavirina, divulgado en WO
 01/60379 (asignado a ICN Pharmaceuticals) De acuerdo con este método del
 presente invento los componentes individuales de la combinación pueden
 administrarse por separado en momentos diferentes durante el curso de la terapia o
 15 bien concurrentemente en formas divididas o en una sola combinación Por lo tanto,
 se entiende que este invento comprende todos dichos regímenes de tratamiento
 simultáneo o alternante y que el término administración debe interpretarse de
 acuerdo con ello Se entenderá que el alcance de las combinaciones de los
 compuestos de este invento con otros agentes útiles para el tratamiento de la infección
 20 por el VHC incluye, en principio cualquier combinación con cualquier composición
 farmacéutica para el tratamiento de la infección por el VHC Cuando un compuesto
 del presente invento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se usa en
 combinación con un segundo agente terapéutico activo contra el VHC la dosis de
 cada compuesto puede ser la misma o diferente de la dosis usada cuando el compuesto
 25 se administra por sí solo

Para el tratamiento de la infección por el VHC, los compuestos del
 presente invento también pueden administrarse en combinación con un agente que es
 un inhibidor de la proteasa serínica NS3 del VHC La proteasa serínica NS3 del VHC
 es una enzima viral esencial que se ha descrito como un objetivo excelente para la
 30 inhibición de la replicación del VHC Tanto los inhibidores de la proteasa NS3 del
 VHC basados como no basados en substratos se divulgan en WO 98/22496 WO
 98/46630 WO 99/07733 WO 99/07734 WO 99/38888 WO 99/50230 WO
 99/64442 WO 00/09543 WO 00/59929 y GB 2337262 La proteasa NS3 del VHC
 como objetivo para el desarrollo de inhibidores de la replicación del VHC y para el
 35 tratamiento de la infección por el VHC se examina en B W Dymock, 'Emerging

therapies for hepatitis C virus infection [Terapias en desarrollo para la infección por el virus de hepatitis C] Emerging Drugs 6 13-42 (2001)

Ribavirina, levovirina y viremudina pueden ejercer sus efectos contra el VHC al modular colecciones intracelulares de nucleótidos guanínicos mediante la inhibición de la enzima intracelular deshidrogenasa de monofosfato inosínico (IMPDH) IMPDH es la enzima limitante de la tasa en la ruta biosintética, en la biosíntesis *de novo* de nucleótido guanínico La ribavirina es fosforilada intracelularmente con facilidad y el derivado monofosfato es un inhibidor de IMPDH. Por consiguiente, la inhibición de IMPDH representa otro objetivo útil para el descubrimiento de inhibidores de la replicación del VHC Por lo tanto, los compuestos del presente invento también pueden administrarse en combinación con un inhibidor de IMPDH, por ejemplo VX-497 que se divulga en WO 97/41211 y WO 01/00622 (asignado a Vertex) otro inhibidor de IMPDH como el divulgado en WO 00/25780 (asignado a Bristol Myers Squibb) o micofenolato mofetilico [ver A C Allison y E.M Eugui Agents Action 44 (Supl) 165 (1993)]

Para el tratamiento de la infección por el VHC los compuestos del presente invento pueden ser administrados en combinación con el agente antiviral amantadina (1-aminoadamantano [para obtener una descripción exhaustiva de este agente, ver J Kirschbaum, Anal Profiles Drug Subs 12 1 36 (1983)]

El término 'farmacéuticamente aceptable' indica que el agente portador diluyente o excipiente debe ser compatible con los otros ingredientes de la fórmula y no debe ser deletéreo para el individuo que lo reciba.

Además dentro del presente invento se incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos nucleósidos y sus derivados del presente invento, en asociación con un agente portador farmacéuticamente aceptable Otro ejemplo del invento es una composición farmacéutica obtenida combinando cualquiera de los compuestos descritos antes y un agente portador farmacéuticamente aceptable Otra ilustración del invento es un proceso para obtener una composición farmacéutica que comprende combinar cualquiera de los compuestos descritos antes y un agente portador farmacéuticamente aceptable

También incluidas dentro del presente invento están las composiciones farmacéuticas útiles para inhibir la polimerasa de ARN viral dependiente de ARN en particular la polimerasa NS5B del VHC que comprende una cantidad eficaz de un compuesto del presente invento y un agente portador farmacéuticamente aceptable

Las composiciones farmacéuticas útiles para el tratamiento de la infección por ARN

viral dependiente del ARN en particular la infección por el VHC también están comprendidas dentro del presente invento del mismo modo que un método para inhibir la polimerasa de ARN viral dependiente de ARN en particular la polimerasa NS5B del VHC y un método para tratar la replicación viral dependiente del ARN y en particular la replicación del VHC Además el presente invento se ocupa de una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto del presente invento, en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de otro agente activo contra el virus de ARN dependiente de ARN y en particular contra el VHC Los agentes con actividad contra el VHC incluyen entre otros, ribavirina, levovirina, viramidina, timosina-alfa 1 un inhibidor de la proteasa serínica NS3 del VHC interferón- α , interferón- α pegilado (peginterferón- α), una combinación de interferón- α y ribavirina, una combinación de peginterferón- α y ribavirina, una combinación de interferón- α y levovirina y una combinación de peginterferón- α y levovirina El interferón- α incluye, entre otros interferón- α 2a recombinante (como Roferon, disponible de Hoffmann LaRoche, Nutley NJ) interferón- α 2b (como Intron A, disponible de Schering Corp Kenilworth NJ) un interferón de consenso y un producto purificado de interferón- α . Para obtener un examen de la ribavirina y su actividad contra el VHC ver J O Saunders y S A. Raybuck Inosine Monophosphate Dehydrogenase Consideration of Structure Kinetics and Therapeutic Potential [Deshidrogenasa de monofosfato inosínico Consideración de la estructura, cinética y potencial terapéutico] Ann Rep Med Chem 35 201 210 (2000)

Otro aspecto del presente invento se ocupa del uso de los compuestos nucleósidos y sus derivados y de sus composiciones farmacéuticas para la producción de un medicamento para la inhibición de la replicación del ARN viral dependiente del ARN en particular de la replicación del VHC y/o para el tratamiento de la infección por ARN viral dependiente de ARN en particular de la infección por el VHC Otro aspecto más del presente invento se ocupa de los compuestos nucleósidos y sus derivados y de sus composiciones farmacéuticas para el uso como un medicamento para la inhibición de la replicación del ARN viral dependiente del ARN en particular de la replicación del VHC y/o para el tratamiento de la infección por ARN viral dependiente de ARN en particular de la infección por el VHC

Las composiciones farmacéuticas del presente invento comprenden un compuesto de fórmula estructural I como un ingrediente activo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y pueden también contener un agente

portador farmacéuticamente aceptable y optativamente otros ingredientes terapéuticos

Las composiciones incluyen aquéllas adecuadas para administración oral rectal tópica, parenteral (con inclusión de administración subcutánea intramuscular e intravenosa) ocular (oftálmica) pulmonar (inhalación nasal o bucal) o administración nasal aunque la vía más adecuada, en cualquier caso, depende de la naturaleza y severidad de las afecciones tratadas y de la naturaleza del ingrediente activo Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse convenientemente en formas posológicas unitarias y prepararse utilizando cualquiera de los métodos bien conocidos en el arte de la farmacia

En la práctica, los compuestos de fórmula estructural I pueden combinarse como el ingrediente activo, en una mezcla íntima con un portador farmacéutico de acuerdo con las técnicas de formulación farmacéutica convencionales El portador puede tomar una amplia variedad de formas, dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración por ejemplo, la oral o la parenteral (incluso la forma intravenosa) Al preparar las composiciones para la forma posológica oral se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos usuales por ejemplo, agua, glicoles, aceites alcoholes agentes saboreantes conservadores agentes colorantes y similares, en el caso de preparaciones orales líquidas tales como, por ejemplo, suspensiones elixires y soluciones o agentes portadores, como almidones azúcares celulosa microcristalina, diluyentes agentes granulantes, lubricantes aglutinantes desintegrantes y similares, en el caso de preparaciones orales sólidas tales como, por ejemplo, polvos cápsulas y tabletas duras y blandas, prefiriéndose las preparaciones orales sólidas a las preparaciones líquidas

Debido a la facilidad de la administración las tabletas y cápsulas representan unidades posológicas orales más ventajosas en cuyo caso obviamente se emplean portadores farmacéuticos sólidos Si se desea, las tabletas pueden revestirse usando técnicas acuosas o no acuosas normales Tales composiciones y preparaciones deben contener al menos un 0.1 por ciento de compuesto activo El porcentaje de compuesto activo en estas composiciones puede, naturalmente, variar y ser convenientemente de entre un 2 por ciento y un 60 por ciento del peso de la unidad La cantidad de compuesto activo en dichas composiciones terapéuticamente útiles es tal que se obtenga una posología eficaz Los compuestos activos también pueden administrarse por vía intranasal como por ejemplo, en gotas o rociados

Las tabletas píldoras cápsulas y similares, también pueden contener un agente aglutinante, por ejemplo goma tragacanto, acacia almidón de maíz o gelatina excipientes como fosfato dicálcico un agente desintegrante como almidón de maíz almidón de papas ácido algínico un lubricante como estearato de magnesio y un agente edulcorante como sacarosa lactosa o sacarina Cuando una forma posológica unitaria es una cápsula, puede contener además de los materiales del tipo mencionado, un portador líquido, como un aceite graso.

Varios otros materiales pueden estar presentes como revestimientos o para modificar la forma física de la unidad posológica Por ejemplo, las tabletas pueden laminarse con laca, azúcar o con ambos Un jarabe o elixir puede contener además del ingrediente activo, sacarosa como agente edulcorante metilo y propilparabenos como conservadores, un colorante y saborizador como sabor a cerezas o a naranjas

Los compuestos de la fórmula estructural I también pueden administrarse por vía parenteral Las soluciones o suspensiones de estos compuestos activos pueden prepararse en agua mezclada en forma adecuada con un agente tensioactivo tal como hidroxipropilcelulosa. También pueden prepararse dispersiones en glicerol glicoles polietilénicos líquidos y sus mezclas en aceites Bajo condiciones normales de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un agente conservador para evitar la proliferación de microorganismos

Las formas farmacéuticas adecuadas para el uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles En todos los casos la forma debe ser estéril y debe ser lo suficientemente líquida como para facilitar la administración usando jeringas Debe ser estable bajo las condiciones de producción y almacenamiento y conservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos El portador puede ser un medio disolvente o de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol poliol (por ejemplo, glicerol glicol propilénico y glicol polietilénico líquido) sus mezclas apropiadas y aceites vegetales

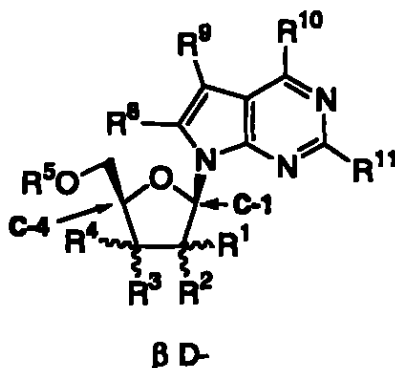
Puede emplearse cualquier vía adecuada de administración para proporcionar a un mamífero especialmente a un ser humano, una posología eficaz de un compuesto del presente invento Por ejemplo pueden emplearse las vías oral rectal tópica parenteral ocular pulmonar nasal y similares Las formas posológicas incluyen tabletas trociscos dispersiones suspensiones soluciones cápsulas cremas

ungüentos aerosoles y similares Preferiblemente los compuestos de la fórmula estructural I se administran por vía oral

- Para la administración oral al ser humano las posologías varían entre 0.01 y 1000 mg/kg de peso corporal en dosis divididas En una realización los
- 5 límites posológicos son de 0,1 a 100 mg/kg de peso corporal en dosis divididas En otra realización los límites posológicos son de 0.5 a 20 mg/kg de peso corporal en dosis divididas Para la administración oral las composiciones se proporcionan preferiblemente, en forma de tabletas o cápsulas que contienen entre 10 y 1000
- 10 miligramos del ingrediente activo, particularmente 1.5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 750, 800, 900 y 1000 miligramos del ingrediente activo para el ajuste sintomático de la posología al paciente que se desea tratar

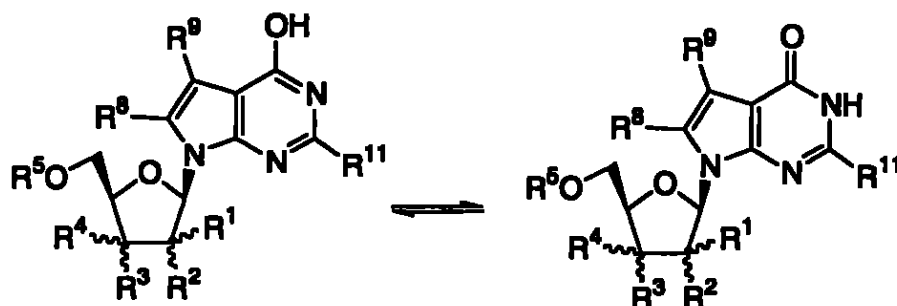
- La posología eficaz del ingrediente activo empleado puede variar dependiendo del compuesto en particular que se emplee de la modalidad de administración de la afección tratada y de la severidad de esta última. Esta posología
- 15 puede ser determinada fácilmente por una persona tecnológicamente competente Este régimen posológico puede ajustarse para ofrecer la respuesta terapéutica óptima

Los compuestos del presente invento contienen uno o más centros asimétricos y por consiguiente pueden ocurrir como racematos y mezclas racémicas, enantiómeros individuales mezclas diastereoméricas y diastereómeros individuales. El presente invento intenta comprender compuestos nucleósidos que presentan la configuración estereoquímica β-D para el anillo de furanosa, de cinco miembros como se indica en la fórmula estructural siguiente, es decir compuestos nucleósidos en los cuales los sustituyentes en las posiciones C-1 y C-4 del anillo de furanosa de cinco miembros exhiben la configuración estereoquímica β (orientación hacia arriba como lo indica una línea gruesa)



Algunos de los compuestos descritos aquí contienen dobles ligaduras olefinicas y a menos que se especifique lo contrario, intentan incluir los isómeros geométricos E y Z.

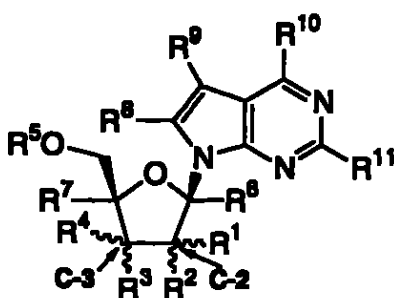
Algunos de los compuestos descritos aquí pueden existir como tautómeros tales como tautómeros ceto-enólicos. Los tautómeros individuales así como sus mezclas están comprendidos dentro de los compuestos de la fórmula estructural I. A continuación se exhibe un ejemplo de tautómeros ceto-enólicos que se intenta comprender dentro de los compuestos del presente invento



Los compuestos de fórmula estructural I pueden ser separados en sus diastereoisómeros individuales por ejemplo, por cristalización fraccional a partir de un disolvente adecuado, tal como metanol o acetato de etilo o una mezcla de los mismos, mediante cromatografía quiral usando una fase estacionaria ópticamente activa

Como alternativa cualquier estereoisómero de un compuesto de la fórmula estructural I puede obtenerse mediante síntesis estereoespecífica, usando materias primas ópticamente puras o reactivos de configuración conocida.

La estereoquímica de los sustituyentes en las posiciones C 2 y C 3 del anillo de furanosa de los compuestos del presente invento de fórmula estructural I, se indica con las líneas ondeadas que significan que los sustituyentes R¹ R² R³ y R⁴ pueden tener la configuración β (sustituyente 'hacia abajo') o α (sustituyente 'hacia arriba') independientemente entre sí. La notación de la estereoquímica mediante una línea gruesa como en las posiciones C 1 y C-4 del anillo de furanosa, significa que el sustituyente tiene la configuración β (sustituyente 'hacia arriba')



(I)

Los compuestos del presente invento pueden administrarse en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. El término sales farmacéuticamente aceptables se refiere a las sales preparadas a partir de bases o ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables que incluyen bases inorgánicas u orgánicas y ácidos inorgánicos u orgánicos. Las sales de compuestos básicos comprendidos dentro del término sal farmacéuticamente aceptable se refieren a sales no tóxicas de los compuestos de este invento que generalmente se preparan haciendo reaccionar la base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado. Las sales representativas de compuestos básicos del presente invento incluyen entre otras las siguientes: acetato, bencensulfonato, benzoato, bicarbonato, bisulfato, bitartrato, borato, bromuro

- camsilato, carbonato, cloruro clavulanato citrato, dihidrocloruro edetato edisilato
estolato, esilato, fumarato gluceptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato,
hexilresorcinato hidrabamina, bromhidrato, clorhidrato, hidroxinaftoato, yoduro,
isotonato, lactato, lactobionato, laurato, malato, maleato mandelato, mesilato,
5 metilbromuro, metilnitrato, metilsulfato, mucato, napsilato nitrato, sal de N
metilglucamin-amonio, oleato oxalato, pamoato (embonato) palmitato, pantotenato,
fosfato/difosfato poligalacturonato salicilato, estearato, sulfato, subacetato,
succinato, tanato, tartrato, teoclate, tosilato, trietilyoduro y valerato Además, cuando
los compuestos del invento contienen una porción ácida, sus sales farmacéuticamente
10 aceptables incluyen entre otras sales derivadas de bases inorgánicas, que incluyen las
de aluminio, amonio, calcio, cobre, férricas, ferrosas de litio, magnesio, mangánicas,
manganosas de potasio, sodio, cinc y similares Particularmente preferidas son las
sales de amonio, calcio, magnesio, potasio y sodio Las sales derivadas de bases
orgánicas no tóxicas, farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas
15 primarias secundarias y terciarias aminas cíclicas y resinas básicas de intercambio
iónico tales como arginina, betaína cafeína, colina, N,N-dibenciletilendiamina,
dietilamina 2-dietilaminoetanol etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N
etilpiperidina glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina,
metilglucamina, morfolina, piperacina, piperidina resinas poliamínicas procaína,
20 purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina y
similares

- También, en el caso de que se encuentre presente un ácido carboxílico
(-COOH) o grupo alcohólico en los compuestos del presente invento, se pueden
emplear ésteres farmacéuticamente aceptables de derivados de ácido carboxílico tales
25 como metilo, etilo o pivaloiloximetilo, o derivados acílicos de alcoholes como
acetato o maleato. Se incluyen los ésteres y grupos acílicos conocidos en la tecnología
como modificadores de las características de solubilidad o hidrólisis para usar como
fórmulas de liberación sostenida o como profármacos

30 Preparación de los compuestos nucleósidos y derivados del invento

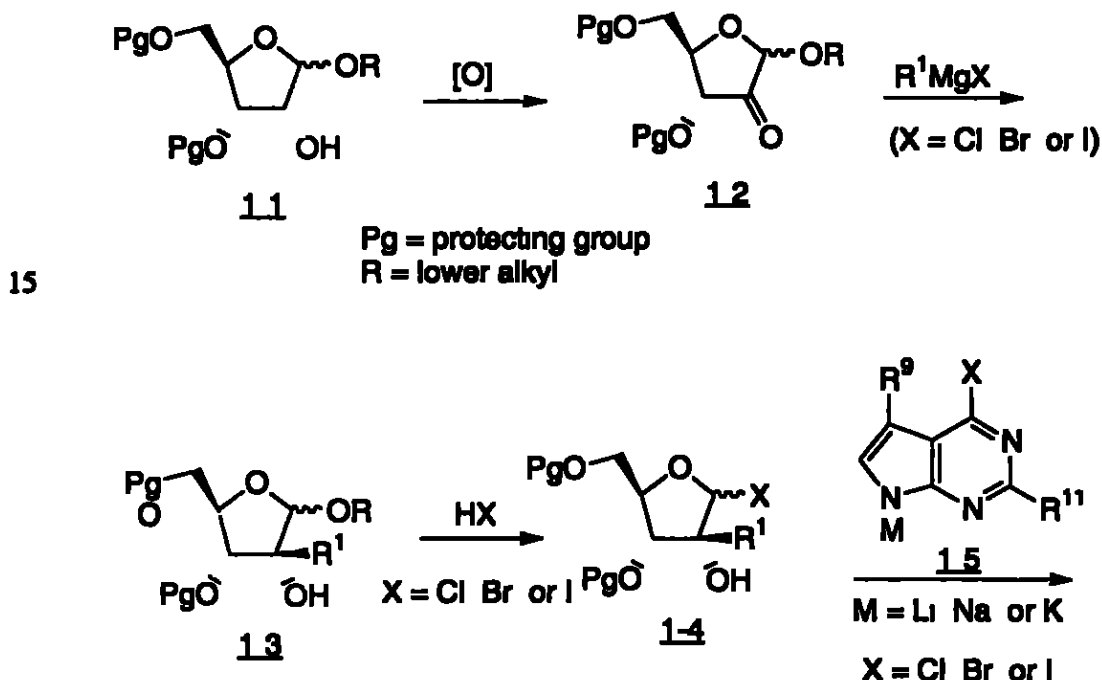
- Los compuestos nucleósidos y sus derivados del presente invento
pueden prepararse siguiendo las metodologías sintéticas bien establecidas en la
práctica de la química de nucleósidos y nucleótidos Se hace referencia al siguiente
texto para una descripción de los métodos sintéticos usados en la preparación de los
35 compuestos del presente invento 'Chemistry of Nucleosides y Nucleotides [La

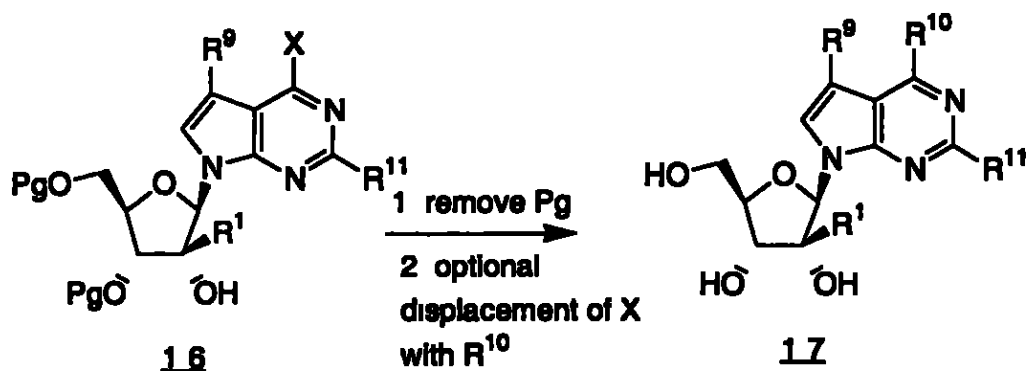
química de nucleósidos y nucleótidos] L.B. Townsend, redac volúmenes 1-3
Plenum Press 1988 que se incorpora aquí por referencia en su totalidad

- Un método general representativo para la preparación de compuestos del presente invento se describe en el Esquema 1 más abajo. Este esquema ilustra la síntesis de compuestos del presente invento de fórmula estructural 1-7, donde el anillo de furanosa tiene la configuración β D-ribo. La materia prima es un alquil furanósido protegido por 3,5 bis-O tal como metil furanósido de fórmula estructural 1-1. El grupo C-2 hidroxilo se oxida entonces con un agente oxidante adecuado, tal como trióxido de cromo o reactivo de cromato, peryodimano de Dess-Martin o por oxidación de Swern para dar una cetona C-2 de fórmula estructural 1-2. El añadido de un reactivo de Grignard, tal como un haluro alquil, alquénil o alquínil magnésico (por ejemplo, MeMgBr, EtMgBr, vinylMgBr, alilMgBr y etinilMgBr) o un alquil alquénil o alquínil litio, como MeLi, a través de la doble ligadura de carbonilo de 1-2 en un disolvente orgánico adecuado, tal como tetrahydrofurano, éter dietílico y similares proporciona el alcohol C-2 terciario de fórmula estructural 1-3. Un buen grupo residual (como Cl, Br e I) se introduce a continuación en la posición C-1 (anomérica) del derivado del azúcar furanosa, mediante el tratamiento del furanósido de la fórmula 1-3 con un haluro de hidrógeno en un disolvente orgánico adecuado, tal como el bromuro de hidrógeno en ácido acético, para dar el haluro furanosílico intermedio 1-4. Un C-1 sulfonato, como metán sulfonato (MeSO₂O-) trifluorometán sulfonato (CF₃SO₂O-) o p-toluensulfonato (-OTs) también puede servir como un grupo residual útil en la reacción subsiguiente, para generar la unión glucosídica (nucleosídica). La unión nucleosídica se construye por el tratamiento del agente intermedio de fórmula estructural 1-4 con la sal metálica (tal como la de litio, sodio o potasio) de una 1H-pirrol[2,3-d]pirimidina 1-5 sustituida en forma apropiada, tal como una 4-halo-1H-pirrol[2,3-d]pirimidina apropiadamente sustituida, que puede ser generada *in situ* mediante el tratamiento con un hidruro alcalino (como un hidruro de sodio) un hidróxido alcalino (como el hidróxido de potasio) un carbonato alcalino (como el carbonato de potasio) o una hexametildisilazida alcalina (como NaHMDS) en un disolvente orgánico anhidro adecuado, tal como acetonitrilo, tetrahydrofurano, 1-metil-2-pirrolidiona o N,N-dimetilformamida (DMF). La reacción de desplazamiento puede ser catalizada usando un catalizador de transferencia de fase como TDA-1 o cloruro de trietilbencil amonio, en un sistema de dos fases (sólida-líquida o líquida-líquida). Los grupos protectores optativos en el nucleósido protegido de fórmula estructural 1-6 se separan entonces siguiendo las metodologías de desprotección

- establecidas como las descritas en T W Greene y P G M Wuts Protective Groups in Organic Synthesis [Grupos protectores en la síntesis orgánica] 3 ed John Wiley & Sons 1999 La introducción optativa de un grupo amino en la posición 4 del núcleo de pirrol[2,3-d]pirimidina se efectúa por el tratamiento del compuesto 4-halo
- 5 intermedio 1-6 con la amina apropiada, tal como amoníaco alcohólico o amoníaco líquido, para generar una amina primaria en la posición C-4 (NH₂) una alquilamina para generar una amina secundaria (NHR) o una dialquilamina para generar una amina terciaria (NRR) Se puede derivar un compuesto 7H pirrol[2,3-d]pirimidín 4(3H)ona por hidrólisis de 1-6 con base acuosa, tal como hidróxido de sodio acuoso.
- 10 La alcoholisis (tal como la metanolisis) de 1-6 da un C-4 alcóxido (-OR), mientras que el tratamiento con un alquil mercáptido da un derivado C-4 alquílo (-SR) Tal vez se necesiten manipulaciones químicas subsiguientes bien conocidas por los tecnólogos de habilidad normal en el arte de la química orgánica/medicinal para lograr los compuestos descritos del presente invento

Scheme 1



58
50

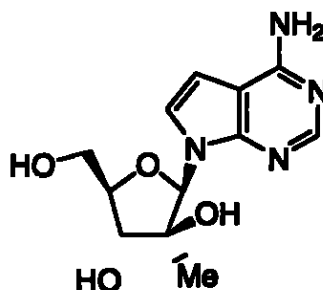
Clave Scheme = Esquema protecting group = grupo protector lower alkyl = alquilo inferior remove Pg = extraer Pg optional displacement of X with R¹⁰ = desplazamiento optativo de X con R¹⁰ or = o.

5

Los ejemplos dados más adelante ofrecen citas de publicaciones que contienen detalles para la preparación de los compuestos finales o intermedios empleados en la preparación de los compuestos finales del presente invento. Los compuestos nucleósidos del presente invento se prepararon de acuerdo con los procedimientos detallados en los ejemplos siguientes. No se intenta que los ejemplos limiten el alcance de este invento en forma alguna, por lo que no se deben considerar desde dicho punto de vista. Los individuos versados en el arte de la síntesis de nucleósidos y nucleótidos apreciarán fácilmente que las variaciones conocidas de las condiciones y procesos de los procedimientos preparatorios siguientes pueden usarse para preparar éstos y otros compuestos del presente invento. Todas las temperaturas se dan en grados Celsius a menos que se indique lo contrario

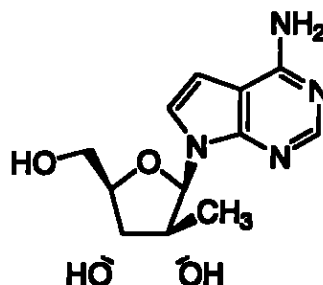
EJEMPLO 1

4-Amino-7 (2 C metil β-D-arabinofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina

84
51

- Se agregó a trióxido de cromo (1.57 g, 1.57 mmol) en diclorometano (DCM) (10 ml) a 0°C anhídrido acético (145 mg, 1.41 mmol) y luego piridina (245 mg, 3.10 mmol). La mezcla se agitó durante 15 minutos después de lo cual se añadió una solución de 7-[3,5-O-[1,1,3,3-tetrakis(1-metiletil)-1,3-disiloxandilo]-β-D-ribofuranosil]-7H-pirrol[2,3-d]pirimidín-4-amina [para la preparación ver *J. Am. Chem. Soc.* 105 4059 (1983)] (508 mg, 1.00 mmol) en DCM (3 ml). La solución resultante se agitó durante 2 horas y se vertió en acetato de etilo (10 ml) filtrándose posteriormente a través de gel de sílice, usando acetato de etilo como el eluyente. Los filtrados combinados se evaporaron al vacío, se recogieron en éter dietílico/THF (1:1) (20 ml) se enfriaron a -78°C y se añadió, gota a gota, bromuro de metilmagnesio (3M en THF) (3.30 ml, 10 mmol). La mezcla se agitó a -78°C durante 10 minutos permitiéndose después que llegara a temperatura ambiente (ta) y se detuvo añadiendo cloruro de amonio acuoso saturado (10 ml) extrayéndose con DCM (20 ml). La fase orgánica se evaporó al vacío y el producto crudo se purificó sobre gel de sílice usando metanol al 5% en diclorometano como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se reunieron y evaporaron al vacío. El aceite resultante se recogió en THF (5 ml) y se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (FTBA) sobre sílice (1.1 mmol/g sobre sílice) (156 mg). La mezcla se agitó a ta durante 30 minutos, se filtró y se evaporó al vacío. El producto crudo se purificó sobre gel de sílice usando metanol al 10% en diclorometano como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se reunieron y evaporaron al vacío para dar el compuesto deseado (49 mg) en forma de un sólido incoloro.
- ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.08 (s, 3H) 3.67 (m, 2H) 3.74 (m, 1H) 3.83 (m, 1H) 5.19 (m, 1H) 5.23 (m, 1H) 5.48 (m, 1H) 6.08 (1H, s) 6.50 (m, 1H) 6.93 (bs, 2H) 7.33 (m, 1H) 8.02 (s, 1H)

EJEMPLO 2

4-Amino-7 (2 C metil β -D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidinaPaso A 3,5 Bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-1 O-metil α D ribofuranosa

- 5 Se agitó a temperatura ambiente, por 45 minutos una mezcla de 2-O-acetil 3,5 bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-1 O metil α D-ribofuranosa [para la preparación, ver Helv Chim Acta 78 486 (1995)] (52.4 g, 0.10 mol) en K_2CO_3 metanólico (500 ml saturado a ta) y luego se concentró bajo presión reducida. El residuo oleoso se suspendió en CH_2Cl_2 (500 ml) se lavó con agua (300 ml + 5 x 200 ml) y salmuera (200 ml) se desecó (Na_2SO_4) filtró y concentró para dar el compuesto del título (49.0 g) en forma de un aceite incoloro, que se usó sin más purificación en el Paso B siguiente.
- 10 ^1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 3.28 (s, 3H, OCH_3) 3.53 (d, 2H, $J_{3,4} = 4.5$ Hz, H 5a, H 5b) 3.72 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.6$ Hz, $J_{3,2} = 6.6$ Hz, H 3) 3.99 (ddd, 1H, $J_{2,1} = 4.5$ Hz, $J_{2,OH-2} = 9.6$ Hz, H 2) 4.07 (m, 1H, H-4) 4.50 (s, 2H, CH_2Ph) 4.52-4.60 (2d, 2H, $J_{gem} = 13.6$ Hz, CH_2Ph) 4.54 (d, 1H, OH 2) 4.75 (d, 1H, H 1) 7.32-7.45, 7.52-7.57 (2m, 10H, 2Ph).
- 15 ^{13}C NMR ($DMSO-d_6$) δ 55.40, 69.05, 69.74, 71.29, 72.02, 78.41, 81.45, 103.44, 127.83, 127.95, 129.05, 129.28, 131.27, 131.30, 133.22, 133.26, 133.55, 133.67, 135.45, 135.92.

20

Paso B 3,5 Bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-1 O-metil- α D-eritro-pentofuranos-2-ulosa

- A una suspensión helada de periodinano de Dess-Martin (50.0 g, 118 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (350 ml) bajo argón (Ar) se agregó gota a gota, una
- 25 solución del compuesto del Paso A (36.2 g, 75 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (200 ml) durante 0.5 horas. La mezcla de la reacción se agitó a $0^\circ C$ durante 0.5 horas y luego a temperatura ambiente por 3 días. La mezcla se diluyó con Et_2O anhidro (600 ml) y se vertió dentro de una mezcla helada de $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ (180 g) en $NaHCO_3$ acuoso.

saturado (1400 ml) Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado (600 ml) agua (800 ml) y salmuera (600 ml) se secó (MgSO_4) filtró y evaporó para dar el compuesto del título (34.2 g) en forma de un aceite incoloro, que se usó sin más purificación en el Paso C siguiente

- 5 ^1H NMR (CDCl_3) δ 3.50 (s, 3H, OCH_2) 3.79 (dd, 1H, $J_{3a,3b} = 11.3$ Hz, $J_{5a,4} = 3.5$ Hz, H 5a) 3.94 (dd, 1H, $J_{5b,4} = 2.3$ Hz, H 5b) 4.20 (dd, 1H, $J_{3,1} = 1.3$ Hz, $J_{3,4} = 8.4$ Hz, H 3) 4.37 (ddd, 0H, H 3) 4.58 4.69 (9d, 2H, $J_{gem} = 13.0$ Hz, CH_2Ph) 4.87 (d, 1H, H 1) 4.78 5.03 (2d, 2H, $J_{gem} = 12.5$ Hz, CH_2Ph) 7.19-7.26 7.31 7.42 (2m, 10H, 2Ph)
- 10 ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 55.72, 69.41, 69.81, 69.98, 77.49, 78.00, 98.54, 127.99, 128.06, 129.33, 129.38, 131.36, 131.72, 133.61, 133.63, 133.85, 133.97, 134.72, 135.32, 208.21

Paso C 3,5 Bis O-(2,4-diclorofenilmetil) 2 C metil 1 O-metil- α D-ribofuranosa

- 15 A una solución de MeMgBr en Et_2O anhidro (0.48 M, 300 ml) a -55°C se agregó, gota a gota, una solución del compuesto del Paso B (17.40 g, 36.2 mmol) en Et_2O anhidro (125 ml). Se permitió que la mezcla de la reacción se calentara a -30°C y se agitó por 7 horas a temperatura entre -30°C y -15°C después
- 20 de lo cual se vertió en agua helada (500 ml) y la mezcla se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 0.5 horas. A continuación la mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite (10 $\times$ 5 cm) que se lavó minuciosamente con Et_2O . La fase orgánica se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró. El residuo se disolvió en hexanos (aproximadamente 30 ml), se aplicó a una columna de gel de sílice (10 $\times$ 7
- 25 cm, preempacada en hexanos) y se eluyó con hexanos y hexanos/ EtOAc (9/1) para dar el compuesto del título (16.7 g) en forma de un jarabe incoloro.
- ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.36 (d, 3H, $J_{\text{Me,OH}} = 0.9$ Hz, 2C Me) 3.33 (q, 1H, OH) 3.41 (d, 1H, $J_{3,4} = 3.3$ Hz) 3.46 (s, 3H, OCH_3) 3.66 (d, 2H, $J_{3,4} = 3.7$ Hz, H 5a, H 5b) 4.18 (q, aparente 1H, H-4) 4.52 (s, 1H, H 1) 4.60 (s, 2H, CH_2Ph) 4.63 4.81 (2d, 2H, $J_{gem} =$
- 30 13.2 Hz, CH_2Ph) 7.19 7.26 7.34-7.43 (2m, 10H, 2Ph)
- ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 24.88, 55.45, 69.95, 70.24, 70.88, 77.06, 82.18, 83.01, 107.63, 127.32, 129.36, 130.01, 130.32, 133.68, 133.78, 134.13, 134.18, 134.45, 134.58

Paso D 4-Cloro-7-[3,5 bis O-(2,4-diclorofenilmetil) 2 C metil β D-ribofuranosil] 7H pirrol[2,3-d]pirimidina

35

- A una solución del compuesto del Paso C (9,42 g 19 mmol) en diclorometano anhidro (285 ml) a 0°C se añadió HBr (5,7 M en ácido acético, 20 ml 114 mmol) gota a gota. La solución resultante se agitó a 0°C durante 1 hora y luego a ta durante 3 horas, se evaporó al vacío y se coevaporó con tolueno anhidro (3 x 40 ml). El residuo oleoso se disolvió en acetonitrilo anhidro (50 ml) y se añadió a una solución de la sal de sodio de 4-cloro-1H pirrol[2,3-d]pirimidina en acetonitrilo [generado *in situ* a partir de 4-cloro-1H pirrol[2,3-d]pirimidina [para la preparación ver J Chem Soc 131 (1960)] (8,76 g, 57 mmol) en acetonitrilo anhidro (1000 ml y NaH (60% en aceite mineral 2,28 g 57 mmol) después de 4 horas de agitación vigorosa a ta]. La mezcla combinada se agitó a ta durante 24 horas y luego se evaporó hasta sequedad. El residuo se suspendió en agua (250 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 500 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (300 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y evaporaron. El producto crudo se purificó en una columna de gel de sílice (10 cm x 10 cm) usando acetato de etilo/hexano (1:3 y 1:2) como el eluyente. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y evaporaron al vacío para dar el producto deseado (5,05 g) en forma de una espuma incolora.
- ¹H NMR (CDCl₃) δ 0,93 (s, 3H, CH₃), 3,09 (s, 1H, OH), 3,78 (dd, 1H, J_{5,5'} = 10,9 Hz, J_{5,4} = 2,5 Hz, H 5), 3,99 (dd, 1H, J_{5',4} = 2,2 Hz, H 5), 4,23-4,34 (m, 2H, H 3 H-4), 4,63-4,70 (2d, 2H, J_{gem} = 12,7 Hz, CH₂Ph), 4,71-4,80 (2d, 2H, J_{gem} = 12,1 Hz, CH₂Ph), 6,54 (d, 1H, J_{5,6} = 3,8 Hz, H 5), 7,23-7,44 (m, 10H, 2Ph).
- ¹³C NMR (CDCl₃) δ 21,31, 69,10, 70,41, 70,77, 79,56, 80,41, 81,05, 91,11, 100,57, 118,21, 127,04, 127,46, 127,57, 129,73, 129,77, 130,57, 130,99, 133,51, 133,99, 134,33, 134,38, 134,74, 135,21, 151,07, 151,15, 152,47.

25

Paso E 4-Cloro-7-(2-C metil β-D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina

- A una solución del compuesto del Paso D (5,42 g, 8,8 mmol) en diclorometano (175 ml) a -78 °C se añadió, gota a gota, tricloruro de boro (1M en diclorometano, 88 ml 88 mmol). La mezcla se agitó a -78 °C durante 2,5 horas y luego a -30°C a -20°C durante 3 horas. La reacción se detuvo añadiendo metanol/diclorometano (1:1) (90 ml) y la mezcla resultante se agitó a -15 °C durante 30 minutos después de lo cual se neutralizó con amoníaco acuoso a 0°C y se agitó a ta durante 15 minutos. El sólido se filtró y se lavó con CH₂Cl₂/MeOH (1/1 250 ml). El filtrado combinado se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía instantánea sobre gel de sílice usando gradiente de CH₂Cl₂ y CH₂Cl₂/MeOH (99:1

98.2, 95.5 y 90.10) como el eluyente para obtener el compuesto deseado (1.73 g) en forma de una espuma incolora, que se transformó en un sólido amorfo después del tratamiento con MeCN

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 0.64 (s, 3H, CH₃), 3.61-3.71 (m, 1H, H-5), 3.79-3.88 (m, 1H, H-5'), 3.89-4.01 (m, 2H, H-3, H-4), 5.15-5.23 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 6.24 (s, 1H, H-1), 6.72 (d, 1H, *J*_{5,6} = 3.8 Hz, H-5), 8.13 (d, 1H, H-6), 8.65 (s, 1H, H-2)

¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ 20.20, 59.95, 72.29, 79.37, 83.16, 91.53, 100.17, 117.63, 128.86, 151.13, 151.19, 151.45

10

Paso F. 4-Amino-7-(2-C-metil-β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-*d*]pirimidina

Al compuesto del Paso E (1.54 g, 5.1 mmol) se añadió amoníaco metanólico (saturado a 0°C, 150 ml). La mezcla se calentó en un autoclave de acero inoxidable a 85°C durante 14 horas y luego se enfrió y evaporó al vacío. La mezcla cruda se purificó en una columna de gel de sílice con CH₂Cl₂/MeOH (9/1) como eluyente para dar el compuesto del título en forma de una espuma incolora (0.8 g) que se separó como un sólido amorfo después del tratamiento con MeCN. El sólido amorfo se recrystalizó a partir de metanol/acetronitrilo p.f. 222°C.

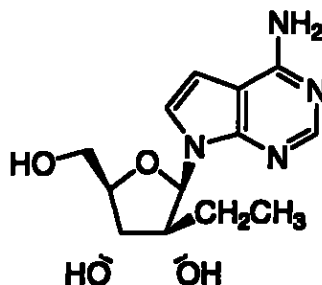
¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 0.62 (s, 3H, CH₃), 3.57-3.67 (m, 1H, H-5), 3.75-3.97 (m, 3H, H-5, H-4, H-3), 5.00 (s, 1H, 2'-OH), 5.04 (d, 1H, *J*_{3-OH,3} = 6.8 Hz, 3'-OH), 5.06 (t, 1H, *J*_{5'-OH,5} = 5.1 Hz, 5'-OH), 6.11 (s, 1H, H-1), 6.54 (d, 1H, *J*_{5,6} = 3.6 Hz, H-5), 6.97 (br s, 2H, NH₂), 7.44 (d, 1H, H-6), 8.02 (s, 1H, H-2)

¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ 20.26, 60.42, 72.72, 79.30, 82.75, 91.20, 100.13, 103.08, 121.96, 150.37, 152.33, 158.15

CL-EM Hallado 279.10 (M H⁺) calculado para C₁₂H₁₆N₄O₄+H⁺ 279.11

EJEMPLO 3

4-Amino-7-(2-C-etil-β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-*d*]pirimidina

59
40

Paso A 3,5 Bis-O (2,4-diclorofenilmetil)-2-C-etil 1 O-metil α D-ribofuranosa

Se añadió lentamente al éter dietílico (300 ml) a -78°C EtMgBr (3.0 M 16.6 ml) y luego gota a gota, el compuesto del Paso B del Ejemplo 2 (4.80 g, 10.0 mmol) en Et₂O anhidro (100 ml). La mezcla de la reacción se agitó a -78°C durante 15 minutos, se permitió que se calentara a -15°C y se agitó por otras 2 horas, vertiéndose luego en una mezcla de agua (300 ml) y Et₂O (600 ml) con agitación. La fase orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó al vacío. El producto crudo se purificó sobre gel de sílice usando acetato de etilo/hexano (1/2) como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se reunieron y evaporaron al vacío para dar el producto deseado (3.87 g) en forma de un aceite incoloro.

Paso B 4-Cloro-7-[3,5 bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-2-C-etil β-D-ribofuranosil] 7H pirrol[2,3-d]pirimidina

A una solución del compuesto del Paso A (1.02 mg, 2.0 mmol) en diclorometano (40 ml) se añadió gota a gota, HBr (5.7 M en ácido acético) (1.75 ml, 10.0 mmol) a 0°C . La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, se evaporó al vacío y se coevaporó dos veces a partir del tolueno (10 ml). El residuo oleoso se disolvió en acetonitrilo (10 ml) y se añadió bajo agitación vigorosa a una mezcla de 4-cloro-1H pirrol[2,3-d]pirimidina (307 mg, 2.0 mmol), hidróxido de potasio (337 mg, 6.0 mmol) y tris[2-(2-metoxietoxi)etil]amina (130 mg, 0.4 mmol) en acetonitrilo (10 ml). La mezcla resultante se agitó a ta durante la noche y luego se vertió en una mezcla de cloruro de amonio saturado (100 ml) y acetato de etilo (100 ml) bajo agitación. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó al vacío. El producto crudo se purificó sobre gel de sílice usando acetato de etilo/hexano (1/2) como eluyente para dar el producto deseado (307 mg) en forma de una espuma incolora.

80
57

Paso C 4-Cloro-7-(2 C-etil β-D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina

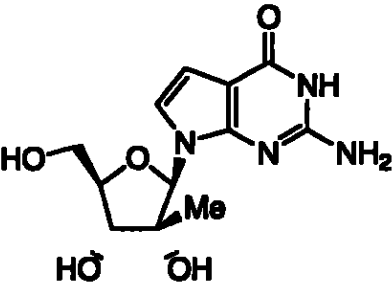
A una solución del compuesto del Paso B (307 mg, 0.45 mmol) en diclorometano (8 ml) se añadió tricloruro de boro (1M en diclorometano) (4.50 ml 4.50 mmol) a 78 °C. La mezcla se agitó a 78 °C durante 1 hora y luego a 10°C durante 3 horas. La reacción se detuvo al añadir metanol/diclorometano (1:1) (10 ml) agitando a 15 °C durante 30 minutos y se neutralizó añadiendo hidróxido de amonio acuoso. La mezcla se evaporó bajo presión reducida y el aceite resultante se purificó sobre gel de sílice usando metanol/diclorometano (1:9) como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se reunieron y evaporaron al vacío para dar el producto deseado (112 mg) en forma de una espuma incolora.

Paso D 4-Amino-7-(2 C-etil β-D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina

Al compuesto del Paso C (50 mg, 0.16 mmol) se agregó amoníaco saturado en metanol (4 ml). La mezcla se agitó a 75 °C durante 72 horas, en un recipiente cerrado, se enfrió y se evaporó al vacío. La mezcla cruda se purificó sobre gel de sílice usando metanol/diclorometano (1:9) como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se reunieron y evaporaron al vacío para dar el producto deseado (29 mg) en forma de un polvo incoloro.
1H NMR (200 MHz, DMSO-d₆) δ 0.52 (t, 3H), 1.02 (m, 2H), 4.01-3.24 (m, 6H), 5.06 (m, 1H), 6.01 (s, 1H), 6.51 (d, 1H), 6.95 (s, br, 2H), 6.70 (d, 1H), 7.99 (s, 1H).
CL-EM Hallado 295.2 (M+H⁺) calculado para C₁₃H₁₈N₄O₄+H⁺ 295.14.

EJEMPLO 4

25 2-Amino-7-(2-C metil β-D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina-4(3H) ona



Paso A 2-Amino-4-cloro-7-[3,5 bis O-(2,4-diclorofenilmetil)-2-C metil β-D-ribofuranosil]-7H pirrol[2,3-d]pirimidina

A una solución helada del producto del Paso C del Ejemplo 2 (1 27 g, 2 57 mmol) en CH_2Cl_2 (30 ml) se añadió HBr (5 7 M en ácido acético 3 ml) gota a gota. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente por 2 horas, se concentró bajo presión reducida y se coevaporó con tolueno (2×15 ml). El aceite resultante se disolvió en acetonitrilo (MeCN) (15 ml) y se añadió, gota a gota, a una mezcla bien agitada de 2-amino-4-cloro-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina [para la preparación, ver *Heterocycles* 35 825 (1993)] (433 mg, 2 57 mmol) KOH (al 85% en polvo) (0 51 g, 7 7 mmol) tris-[2-(2-metoxietoxi)etil]amina (165 μl , 0 51 mmol) en acetonitrilo (30 ml). La mezcla obtenida se agitó a ta durante 1 hora, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó en una columna de gel de sílice usando hexanos/EtOAc 5/1 3/1 y 2/1 como eluyentes para dar el compuesto del título en forma de una espuma incolora (0 65 g).

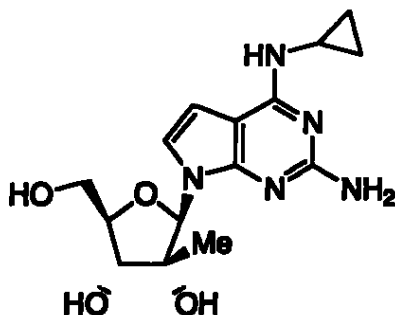
Paso B 2-Amino-4-cloro-7-(2-C-metil- β -D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina

A una solución del producto del Paso A (630 mg, 1 0 mmol) en CH_2Cl_2 (20 ml) a 78 °C se añadió tricloruro de boro (1M en CH_2Cl_2) (10 ml, 10 mmol). La mezcla se agitó a 78 °C durante 2 horas, luego a 20 °C durante 2 5 horas. La reacción se detuvo con $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (1 1) (10 ml) se agitó a 20 °C durante 0 5 horas y se neutralizó a 0 °C con el amoníaco acuoso. El residuo se filtró, se lavó con $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (1 1) y el filtrado combinado se evaporó al vacío. El residuo se purificó en columna de gel de sílice con $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 50/1 y 20/1 como eluyente para dar el compuesto del título en forma de espuma incolora (250 mg).

Paso C 2-Amino-7-(2-C-metil- β -D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4(3H)-ona

Se calentó una mezcla del producto del Paso B (90 mg, 0 3 mmol) en NaOH (2N 9 ml) acuoso a temperatura de reflujo durante 5 horas después de lo cual se neutralizó a 0 °C con HCl acuoso 2 N y se evaporó hasta sequedad. La purificación en columna de gel de sílice, con $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 5/1 como eluyente, dio el compuesto del título en forma de un sólido blanco (70 mg).

^1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 0 86 (s, 3H), 3 79 (m, 1H), 3 90-4 05 (m, 3H), 6 06 (s, 1H), 6 42 (d, $J = 3 7$ Hz, 1H), 7 05 (d, $J = 3 7$ Hz, 1H).

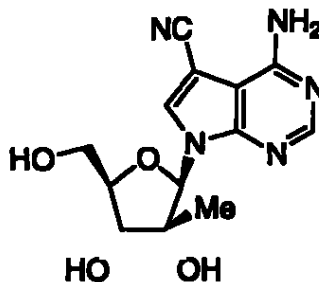
EJEMPLO 5**2-Amino-4-ciclopropilamino-7-(2-C metil β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina**

5

Se calentó una solución de 2-amino-4-cloro-7-(2-C metil β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina (Ejemplo 4, Paso B) (21 mg, 0.07 mmol) en ciclopropilamina (0.5 ml) a 70°C durante dos días. Después se evaporó hasta obtenerse un residuo oleoso y se purificó en columna de gel de sílice con CH₂Cl₂/MeOH, 20/1 como eluyente para dar el compuesto del título en forma de sólido blanco (17 mg).

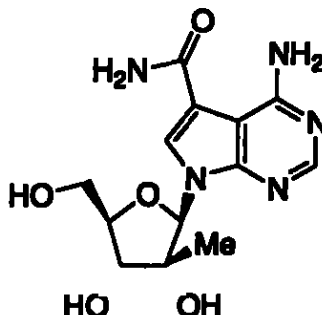
¹H NMR (200 MHz, CD₃CN) δ 0.61 (m, 2H), 0.81 (m, 2H), 0.85 (s, 3H), 2.83 (m, 1H), 3.74-3.86 (m, 1H), 3.93-4.03 (m, 2H), 4.11 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.02 (s, 1H), 6.49 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 3.7 Hz, 1H).

15

EJEMPLO 6**4-Amino-7-(2-C metil β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-5-carbonitrilo**

Este compuesto se preparó siguiendo los procedimientos descritos por Y. Murai y colab. en *Heterocycles* 33:391-404 (1992).

20

EJEMPLO 7**4-Amino-7 (2 C metil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidín 5-carboxamida**

5

Este compuesto se preparó siguiendo los procedimientos descritos por Y Murai y colab en Heterocycles 33 391-404 (1992)

EJEMPLO 8

10

Proceso general para la porción SATE de profármaco

Los pronucleótidos S-acil 2 tioetil (SATE) se examinan en C R Wagner V V Iyer y E.J McIntee, 'Pronucleotides Toward the In Vivo Delivery of Antiviral and Anticancer Nucleotides [Pronucleótidos Hacia una entrega de nucleótidos antivirales y contra el cáncer in vivo] Med Res Rev 20 1 35 (2000) que se incorpora aquí por referencia en su totalidad Los derivados SATE de nucleósidos también se divulgan en las patentes de EE UU N° 5 770 725 5 849 905 y 6 020 482 cuyos contenidos se incorporan aquí por referencia en su totalidad.

20

Bis(S acetyl 2 tioetil)-N,N-diisopropilfosforamida

Se disolvió 2 mercaptoetanol (5 g, 64 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) A esta solución se añadió trietilamina (7.67 ml 57.6 mmol) y la mezcla de la reacción se enfrió en baño de hielo a 0°C Se añadió, gota a gota, anhídrido acético (4.54 ml 48 mmol) en 10 minutos y la mezcla de la reacción se agitó a 0°C durante 1 hora. A continuación se permitió que la mezcla de la reacción alcanzara la temperatura ambiente durante un período de 2 horas La mezcla de la reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (50 ml) se lavó con agua (75 ml) NaHCO₃ acuoso al 5% (75 ml) y salmuera

25

- (75 ml) La fase orgánica se desecó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró al vacío para dar un aceite. Seguidamente, el aceite se disolvió en THF anhidro (40 ml) y se añadió trietilamina anhidra (7.76 ml). A esta mezcla se añadieron tamices moleculares activados (4Å) y se la mantuvo a temperatura ambiente durante 10 minutos. La
- 5 mezcla de la reacción se enfrió en un baño de hielo a 0°C y se añadió dicloruro diisopropilfosforamidoso (6.47 g, 32.03 mmol). A continuación, la mezcla de la reacción se agitó a 0°C durante 2 horas bajo atmósfera inerte. Se añadió hexano (40 ml) a la mezcla de la reacción y el precipitado formado se filtró, se concentró a un
- 10 cuarto de su volumen, se purificó por cromatografía de columna cargada con gel de sílice y se eluyó con hexano que contenía trietilamina al 3% y cantidades crecientes de acetato de etilo (0 a 7%) para obtener el compuesto del título en forma de un aceite (2.36 g).
- ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.17 (s, 6H), 1.21 (s, 6H), 2.36 (s, 6H), 3.14 (t, $J = 6.44$ Hz), 3.51, 3.84 (m, 6H). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 24.47, 24.61, 30.48, 42.85, 43.1, 61.88.
- 15 62.23, 195.26. ^{31}P NMR (CDCl_3) δ 146.96.

EJEMPLO 9

Derivados 5 trifosfato

- 20 Los 5 trifosfatos nucleósidos del presente invento se prepararon siguiendo los procedimientos generales descritos en *Rev. 100/2047* (2000).

EJEMPLO 10

Purificación y análisis de pureza de derivados 5 trifosfato

- Los derivados trifosfato se purificaron por cromatografía de intercambio de aniones (AX) usando una columna Mono Q (Pharmacia) de 30 x 100 mm con un sistema tampón de Tris 50 mM pH 8. Los gradientes de elución típicamente fueron NaCl de 40 a 0.8 mM en volúmenes de dos columnas, a 6.5
- 30 ml/minuto. Se recogieron las fracciones apropiadas a partir de la cromatografía de intercambio aniónico y se desalinificaron mediante cromatografía de fase reversa (FR) usando una columna Luna C18 de 250 x 21 mm (Phenomenex) con un flujo de 10 ml/minuto. Los gradientes de elución generalmente fueron del 1 al 95% de metanol en 14 minutos a una concentración constante de acetato de trietilamonio 5 mM (TEAA).

68
62

Los espectros de masa de los trifosfatos purificados se determinaron usando un espectrómetro de masa CLAR integrado en un MSD 1100 de Hewlett Packard (Palo Alto CA) Se usó columna Luna (C18(2)) 150 x 2 mm más guarda de columna de 30 x 2 mm, tamaño de partícula de 3 µm de Phenomenex para CLAR de FR Se realizó un gradiente lineal de 0 a 50% de acetonitrilo (15 minutos) en TEAA 20 mM (acetato de trietilamonio) pH 7 en serie con detección espectral de masa en la modalidad de ionización negativa Se usó nitrógeno gaseoso y un nebulizador neumático para generar el electrospray Se tomaron muestras de masa entre límites de 150 a 900 Las masas moleculares se determinaron usando el kit de análisis de HP Chemstation

La pureza de los trifosfatos purificados se determinó por CLAR FR y AX analítica Típicamente se obtuvo CLAR FR con una columna Luna o Jupiter de Phenomenex (250 x 4.6 mm) tamaño de partícula de 5 µm con un gradiente de acetonitrilo de 2 a 70% en 15 minutos, en TEAA 100 mM pH 7 CLAR AX se llevó a cabo en una columna Mono Q (Pharmacia) de 1.6 x 5 mm. Los trifosfatos se eluyeron con un gradiente de NaCl de 0 a 0.4 M a concentración constante de Tris 50 mM pH 8 La pureza de los trifosfatos generalmente fue de >80%

EJEMPLO 11

20

Derivados de 5' monofosfato

Los 5' monofosfatos nucleósidos del presente invento se prepararon siguiendo los procedimientos generales descritos en *Tetrahedron Lett* 50 5065 (1967)

25

EJEMPLO 12

Caracterización de espectros de masa de derivados de 5' trifosfato

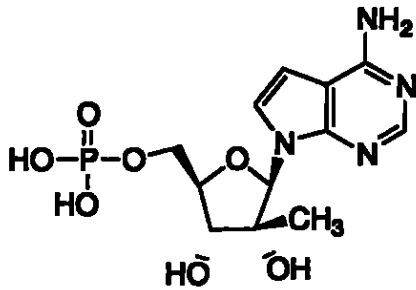
Los espectros de masa de 5' trifosfatos, de los compuestos del presente invento, se determinaron como se describió en el Ejemplo 10 En el cuadro siguiente se enumeran las masas calculadas y experimentales para 5' trifosfatos representativos, preparados de acuerdo con los procedimientos del Ejemplo 9 Los números de ejemplos corresponden al compuesto madre del 5' trifosfato

66
63

Ejemplo	Calculado	Hallado
1	520 0	519 9
2	520 0	520 0
3	534 0	534 0
4	536 0	536 0

EJEMPLO 13

5 [4-Amino-7-(2-C metil β-D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d] pirimidín] 5 monofosfato

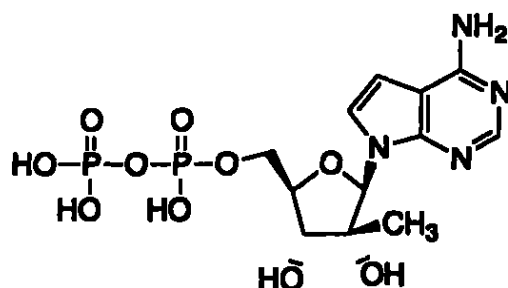


Se añadió trimetilfosfato (0.5 ml) al compuesto del Paso F del Ejemplo 2 (14 mg, 0.05 mmol) (desecado por coevaporación con piridina y varias veces con tolueno). La mezcla se agitó durante la noche en un recipiente herméticamente cerrado. A continuación se enfrió a 0°C y se añadió oxícloruro fosforoso (0.0070 ml, 0.075 mmol) usando una jeringa. La mezcla se agitó durante 3 horas a 0°C deteniéndose la reacción mediante el añadido de bicarbonato de tetraetilamonio (TEAB) (1M) (0.5 ml) y agua (5 ml). La mezcla de la reacción se purificó y analizó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 10.

15 Espectro de masa por rociado de electrones (EM RE) Hallado 359.2 (M⁺ H⁺) calculado para C₁₂H₁₇N₄O₇P H⁺ 359.1

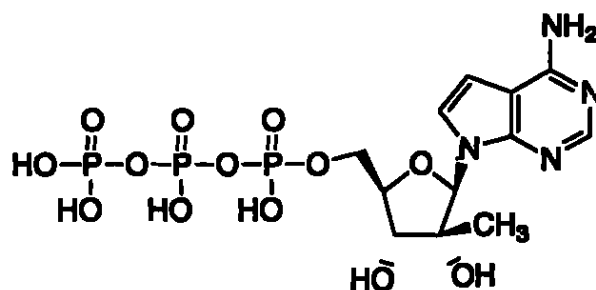
EJEMPLO 14

20 [4-Amino-7-(2-C metil β-D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d] pirimidín] 5 -difosfato



- Al compuesto del Paso F del Ejemplo 2 (56 mg, 0.20 mmol) (desechado por coevaporación con piridina y varias veces con tolueno) se añadió fosfato trimetílico (almacenado sobre tamices) (1.0 ml). La mezcla se agitó durante la noche en un recipiente herméticamente cerrado. A continuación se enfrió a 0°C y se añadió oxiclóruo fosforoso (0.023 ml, 0.25 mmol) usando una jeringa. La mezcla se agitó durante 2 horas a 0°C, agregándose luego tributilamina (0.238 ml, 1.00 mmol) y fosfato de tributilamonio (generado a partir de ácido fosfórico y tributilamina en piridina, seguido de evaporación azeotrópica repetida con piridina y acetonitrilo) (1.0 mmol en 3.30 ml de acetonitrilo). La mezcla se agitó durante 30 minutos más a 0°C. El frasco sellado se abrió entonces y la reacción se detuvo añadiendo TEAB (1M) (1.0 ml) y agua (5 ml). La mezcla de la reacción se purificó y analizó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 10.
- EM RE Hallado 439.0 (M⁺H⁺) calculado para C₁₂H₁₈N₄O₁₀P₃ H⁺ 439.04

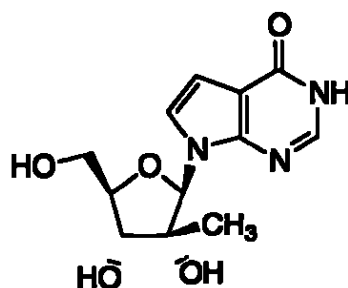
15

EJEMPLO 15**[4-Amino-7-(2-C-metil-β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-5-yl] trifosfato**

- Al compuesto del Paso F del Ejemplo 2 (20 mg, 0.07 mmol) (desechado por coevaporación con piridina y varias veces con tolueno) se añadió fosfato trimetílico (almacenado sobre tamices) (0.4 ml). La mezcla se agitó durante la noche

- en un recipiente herméticamente cerrado. A continuación se enfrió a 0 °C y se añadió oxiclورو fosforoso (0.0070 ml, 0.075 mmol) mediante una jeringa. La mezcla se agitó durante 3 horas a 0 °C agregándose luego tributilamina (0.083 ml, 0.35 mmol) pirofosfato de tributilamonio (127 mg, 0.35 mmol) y acetonitrilo (almacenado sobre tamices) (0.25 ml). La mezcla se agitó durante 30 minutos más a 0 °C. el frasco sellado se abrió entonces y la reacción se detuvo añadiendo TEAB (1M) (0.5 ml) y agua (5 ml). La mezcla de la reacción se purificó y analizó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 10.
- EM RE Hallado 519.0 (M H⁺) calculado para C₁₂H₁₉N₄O₁₃P₃ H⁺ 519.01

10

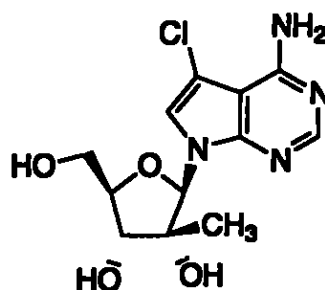
EJEMPLO 16**7-(2-C metil β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4(3H)-ona**

- Se añadió hidróxido de sodio acuoso (1M) al compuesto del Paso E del Ejemplo 2 (59 mg, 0.18 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 1 hora, se enfrió, se neutralizó con HCl acuoso (2 M) y se evaporó al vacío. El residuo se purificó sobre gel de sílice usando diclorometano/metanol (4:1) como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se reunieron y evaporaron al vacío para obtener el producto deseado (53 mg) en forma de un aceite incoloro.
- ¹H NMR (CD₃CN) δ 0.70 (s, 3H), 3.34-4.15 (m superpuestos, 7H), 6.16 (s, 1H), 6.57 (d, 3.6 Hz, 1H), 7.37 (d, 3.6 Hz, 1H), 8.83 (s, 1H).

EJEMPLO 17

25

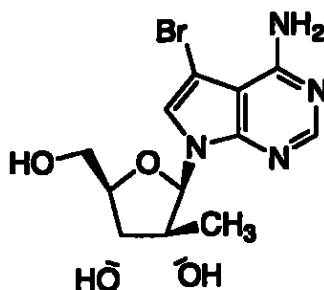
4-Amino-5-cloro-7-(2-C metil β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina



- A una solución previamente enfriada (0°C) del compuesto del Paso F del Ejemplo 2 (140 mg, 0,50 mmol) en DMF (2,5 ml) se añadió *N*-clorosuccinimida (0,075 g, 0,55 mmol) en DMF (0,5 ml) gota a gota. La solución se agitó a t_a durante 1 hora y la reacción se detuvo añadiendo metanol (4 ml) y se evaporó al vacío. El producto crudo se purificó sobre gel de sílice usando metanol/diclorometano (1/9) como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se reunieron y evaporaron al vacío para dar el producto deseado (55 mg) en forma de un sólido incoloro.
- ¹H NMR (CD₃CN) δ 0,80 (s, 3H), 3,65–4,14 (m superpuestos, 7H), 5,97 (s br, 2H), 6,17 (s, 1H), 7,51 (s, 1H), 8,16 (s, 1H).
- EM RE Hallado 315,0 (M+H⁺) calculado para C₁₂H₁₃ClN₄O₄ + H⁺ 315,09

EJEMPLO 18

- 15 4-Amino-5-bromo-7-(2-C-metil β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina



- A una solución previamente enfriada (0°C) del compuesto del Paso F del Ejemplo 2 (28 mg, 0,10 mmol) en DMF (0,5 ml) se añadió *N*-bromosuccinimida (0,018 g, 0,10 mmol) en DMF (0,5 ml), gota a gota. La solución se agitó a 0°C durante 20 minutos y luego a t_a durante 10 minutos. La reacción se detuvo añadiendo metanol (4 ml) y se evaporó al vacío. El producto crudo se purificó sobre gel de sílice usando metanol/diclorometano (1/9) como eluyente. Las fracciones que contenían el

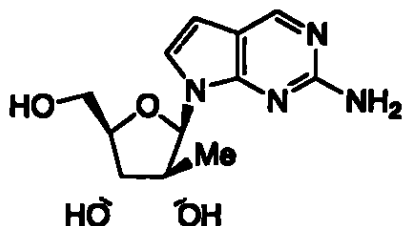
producto se reunieron y evaporaron al vacío para dar el producto deseado (13.0 mg) en forma de un sólido incoloro

^1H NMR (CD_3CN) δ 0.69 (s, 3H), 3.46–4.00 (m superpuestos, 7H), 5.83 (s br, 2H), 6.06 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 8.05 (s, 1H)

5 EM RE Hallado 359.1 ($\text{M}+\text{H}^+$) calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{BrN}_4\text{O}_4 + \text{H}^+$ 359.04

EJEMPLO 19

2-Amino-7-(2-C metil β -D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina



10

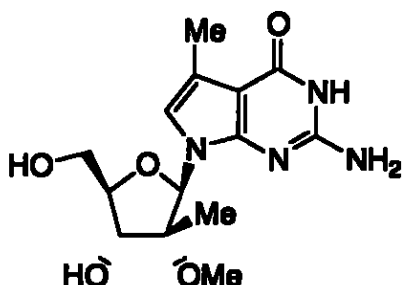
Se agitó durante la noche a temperatura ambiente, una mezcla de 2-amino-4-cloro-7-(2-C metil β -D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina (Ejemplo 4 Paso B) (20 mg, 0.07 mmol) en EtOH (1.0 ml), piridina (0.1 ml) y 10% Pd/C (6 mg) bajo H_2 (a presión atmosférica). La mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite que se había lavado minuciosamente con EtOH. El filtrado combinado se evaporó y purificó en una columna de sílice con $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 20/1 y 10/1 como eluyente para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (16 mg).

15 ^1H NMR (200 MHz, CD_3OD) δ 0.86 (s, 3H, 2-C-Me), 3.82 (dd, $J_{5,4} = 3.6$ Hz, $J_{5,5'} = 12.7$ Hz, 1H, H-5), 3.94–4.03 (m, 2H, H-5, H-4), 4.10 (d, $J_{3,4} = 8.8$ Hz, 1H, H-3), 6.02 (s, 1H, H-1), 6.41 (d, $J_{5,6} = 3.8$ Hz, 1H, H-5), 7.39 (d, 1H, H-6), 8.43 (s, 1H, H-4). EM RE 281.4 (MH^+)

20

EJEMPLO 20

25 2-Amino-5-metil-7-(2-C,2-O-dimetil β -D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-4(3H)-ona



Paso A 2-Amino-4-cloro-7-[3,5 bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-2 C metil β-D-ribofuranosil] 5 metil 7H pirrol[2,3-d]pirimidina

- A una solución helada del producto del Paso C del Ejemplo 2 (1 57 g, 3 16 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se añadió HBr (5 7 M en ácido acético, 3 3 ml) gota a gota. La mezcla de la reacción se agitó a 0°C durante 1 hora y luego a temperatura ambiente por 2 horas. se concentró al vacío y se coevaporó con tolueno (2 × 20 ml). El aceite obtenido se disolvió en MeCN (20 ml) y se añadió, gota a gota, a una solución de la sal de sodio de 2-amino-4-cloro-5 metil 1H pirrol[2 3-d]pirimidina en acetonitrilo [generada *in situ* a partir de 2-amino-4-cloro-5 metil 1H pirrol[2 3-d]pirimidina [para la preparación, ver Liebigs Ann. Chem. 1984 708 721] (1 13 g, 6 2 mmol) en acetonitrilo anhidro (150 ml) y NaH (al 60% en aceite mineral 248 mg, 6 2 mmol) después de 2 horas de agitación vigorosa a ta]. La mezcla combinada se agitó a ta durante 24 horas y luego se evaporó hasta sequedad. El residuo se suspendió en agua (100 ml) y se extrajo con EtOAc (300 + 150 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (100 ml) se desecaron sobre Na₂SO₄ se filtraron y se evaporaron. El producto crudo se purificó en una columna de gel de sílice (5 × 7 cm) usando acetato de etilo/hexano (0 a 30% de EtOAc en gradiente de pasos del 5%) como el eluyente. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y evaporaron al vacío para dar el producto deseado (0 96 g) en forma de una espuma incolora.

Paso B 2-Amino-4-cloro-7-[3,5 bis-O-(2,4-diclorofenilmetil) 2-C,2 O-dimetil β-D-ribofuranosil] 5 metil 7H pirrol[2,3-d]pirimidina

- A una mezcla helada del producto del Paso A (475 mg, 0 7 mmol) en THF (7 ml) se añadió NaH (al 60% en aceite mineral 29 mg) y se agitó a 0°C durante 0 5 horas. A continuación se añadió MeI (48 µl) y la mezcla de la reacción se agitó a ta durante 24 horas. La reacción se detuvo con MeOH y la mezcla se evaporó. El

producto crudo se purificó en columna de gel de sílice (5 × 3 5 cm) usando hexano/acetato de etilo (9/1 7/1 5/1 y 3/1) como eluyente Las fracciones que contenían el producto se combinaron y evaporaron para dar el compuesto deseado (200 mg) en forma de una espuma incolora

5

Paso C 2 Amino-7 [3,5 bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-2-C,2 O-dimetil β-D-ribofuranosil] 5 metil 7H pirrol[2,3-d]pirimidín-4(3H)-ona

Se calentó durante la noche a 135°C, una mezcla del producto del Paso B (200 mg, 0,3 mmol) en 1 4-dioxano (15 ml) en NaOH acuoso (2N 15 ml) en una botella a presión A continuación la mezcla se enfrió a 0°C, se neutralizó con HCl acuoso 2N y se evaporó hasta sequedad El producto crudo se suspendió en MeOH se filtró y el sólido se lavó minuciosamente con MeOH El filtrado combinado se concentró y el residuo se purificó en una columna de gel de sílice (5 × 5 cm) usando CH₂Cl₂/MeOH (40/1 30/1 y 20/1) como eluyente para obtener el compuesto deseado (150 mg) en forma de una espuma incolora.

15

Paso D 2 Amino-5 metil 7 (2-C,2-O-dimetil β-D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidín-4(3H)-ona

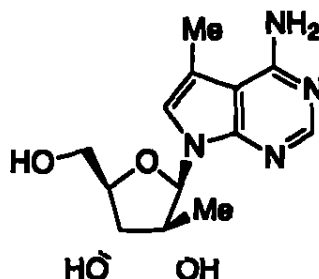
Una mezcla del producto del Paso C (64 mg, 0 1 mmol) en MeOH (5 ml) y Et₃N (0 2 ml) y 10% Pd/C (24 mg) se hidrogenó en un hidrogenador Parr a 50 psi a ta, durante 1 5 días después de lo cual se filtró a través de una almohadilla de Celite que se había lavado minuciosamente con MeOH El filtrado combinado se evaporó y el residuo se purificó en una columna de gel de sílice (3 × 4 cm) con CH₂Cl₂/MeOH (30/1 20/1) como eluyente para dar 2 amino-5 metil 7 (5 O-bencil 2 C 2 O-dimetil β-D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidín-4(3H)-ona El compuesto (37 mg) se siguió hidrogenando en EtOH (2 ml) con 10% Pd/C y bajo hidrógeno a presión atmosférica Después de agitar por 2 días a ta, la mezcla de la reacción se filtró a través de Celite el filtrado se evaporó y el producto crudo se purificó en una columna de gel de sílice (1 × 7 cm) con CH₂Cl₂/MeOH (30/1 20/1 y 10/1) como eluyente, para dar el compuesto del título (12 mg) después de la liofilización

¹H NMR (200 MHz CD₃OD) δ 0 81 (s 3H, 2 C Me) 2 16 (d, J_{H-6,C5-Me} = 1 3 Hz 3H C5 Me) 3 41 (s 3H 2 -OMe) 3 67 (dd J_{5,4} = 3 4 Hz J_{5,5'} = 12 6 Hz 1H, H 5) 3 81 3 91 (m 3H H 5 H-4 H 3) 6 10 (s 1H, H 1) 6,66 (d, 1H H-6)

EM RE 323 3 (M H)

25

30

EJEMPLO 21**4-Amino-5 metil 7 (2 C metil β-D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina**

5

Paso A 4-Cloro-7 [3,5 bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-2-C metil β-D-ribofuranosil] 5 metil 7H-pirrol[2,3-d]pirimidina

A una solución helada del producto del Paso C del Ejemplo 2 (1.06 g, 2.1 mmol) en CH_2Cl_2 (30 ml) se añadió HBr (5.7 M en ácido acético, 2.2 ml) gota a gota. La mezcla de la reacción se agitó a 0°C durante 1 hora y luego a temperatura ambiente durante 2 horas, se concentró al vacío y se coevaporó con tolueno (2×15 ml). El aceite obtenido se disolvió en MeCN (10 ml) y se añadió, gota a gota, a una solución de la sal de sodio de 4-cloro-5 metil 1H pirrol[2,3-d]pirimidina en acetonitrilo [generada *in situ* a partir de 4-cloro-5 metil 1H pirrol[2,3-d]pirimidina [para la preparación ver *J. Med. Chem.* 33 1984 (1990)] (0.62 g, 3.7 mmol) en acetonitrilo anhidro (70 ml) y NaH (al 60% en aceite mineral 148 mg, 3.7 mmol) después de 2 horas de agitación vigorosa a rt . La mezcla combinada se agitó a rt durante 24 horas y luego se evaporó hasta sequedad. El residuo se suspendió en agua (100 ml) y se extrajo con EtOAc (250 + 100 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (50 ml) se desecaron sobre Na_2SO_4 se filtraron y se evaporaron. El producto crudo se purificó en una columna de gel de sílice (5×5 cm) usando gradiente de hexano/acetato de etilo (9/1 5/1 3/1) como el eluyente. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y evaporaron al vacío para dar el producto deseado (0.87 g) en forma de una espuma incolora.

25

Paso B 4-Cloro-5 metil 7 (2-C metil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina

74
71

- A una solución del compuesto del Paso A (0.87 g, 0.9 mmol) en diclorometano (30 ml) a 78 °C, se añadió tricloruro de boro (1M en diclorometano 9.0 ml, 9.0 mmol) gota a gota. La mezcla se agitó a -78°C durante 2.5 horas y luego entre -30°C y -20°C durante 3 horas. La reacción se apagó añadiendo
- 5 metanol/diclorometano (1/1) (9 ml) y la mezcla resultante se agitó a -15 °C durante 30 minutos después de lo cual se neutralizó con amoníaco acuoso a 0°C y se agitó a ta durante 15 minutos. El sólido se filtró y se lavó con CH₂Cl₂/MeOH (1/1, 50 ml). El filtrado combinado se evaporó y el residuo se purificó en una columna de gel de sílice (5 × 5 cm) usando gradiente de CH₂Cl₂ y CH₂Cl₂/MeOH (40/1 y 30/1) como el
- 10 eluyente para obtener el compuesto deseado (0.22 g) en forma de una espuma incolora.

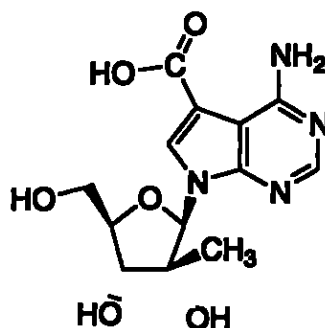
Paso C 4-Amino-5 metil 7 (2-C metil β-D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina

- 15 Al compuesto del Paso B (0.2 g, 0.64 mmol) se añadió amoníaco metanólico (saturado a 0°C, 40 ml). La mezcla se calentó en un autoclave de acero inoxidable a 100°C durante 14 horas y luego se enfrió y evaporó al vacío. La mezcla cruda se purificó en una columna de gel de sílice (5 × 5 cm) con gradiente de CH₂Cl₂/MeOH (50/1, 30/1, 20/1) como eluyente para obtener el compuesto del título
- 20 en forma de un sólido blanco (0.12 g).
- ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 0.60 (s, 3H, 2-C-Me), 2.26 (s, 3H, 5C-Me), 3.52-3.61 (m, 1H, H-5), 3.70-3.88 (m, 3H, H-5, H-4, H-3), 5.00 (s, 1H, 2'-OH), 4.91-4.99 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 6.04 (s, 1H, H-1), 6.48 (br s, 2H, NH₂), 7.12 (s, 1H, H-6), 7.94 (s, 1H, H-2). EM RE 295.2 (MH⁺).

25

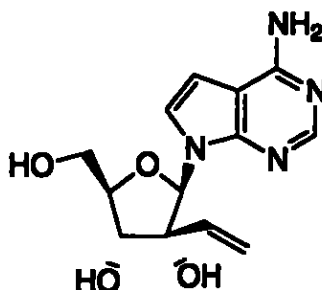
EJEMPLO 22

Ácido 4-amino-7 (2-C metil β-D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidin 5-carboxílico

75
72

- El compuesto del Ejemplo 6 (0.035 g 0.11 mmol) se disolvió en una mezcla de amoníaco acuoso (4 ml 30% en peso) y amoníaco metanólico saturado (2 ml) y se añadió una solución de H₂O₂ en agua (2 ml 35% en peso). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. El disolvente se extrajo bajo presión reducida y el residuo obtenido se purificó por CLAR en columna de fase reversa (Altech Altima C 18 10 x 299 mm, A = agua, B = acetonitrilo 10 a 60% B en 50 minutos flujo 2 ml/minuto) para dar el compuesto del título (0.015 g 41%) en forma de un sólido blanco.
- ¹H NMR (CD₃OD) δ 0.85 (s, 3H, Me), 3.61 (m 1H), 3.82 (m 1H), 3.99-4.86 (m, 2H), 6.26 (s 1H), 8.10 (s, 2H), 8.22 (s 1H). ¹³C NMR (CD₃OD) 20.13, 61.37, 73.79, 80.42, 84.01, 93.00, 102.66, 112.07, 130.07, 151.40, 152.74, 159.12, 169.30. HRMS (FAB) Calculado para C₁₃H₁₇N₄O₆ 325.1148 hallado 325.1143.

15

EJEMPLO 234-amino-7-(2-C vinyl β-D-ribofuranosil)-7H-pyrrolo[2,3-d]pirimidinaPaso A.3,5-Bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-2-C vinyl 1-O-metil-α-D-ribofuranosa

20

76
73

Se trituró finamente cloruro de cerio heptahidratado (50 g, 134.2 mmol) en un mortero precalentado y se transfirió a un balón equipado con agitador mecánico. El frasco se calentó a vacío elevado durante la noche a 160°C. El vacío se liberó bajo argón y el frasco se enfrió a temperatura ambiente. Se canuló dentro del frasco THF anhidro (300 ml). La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas y luego se enfrió a -78 °C. Se añadió bromuro de vinil magnesio (1M en THF 120 ml, 120 mmol) y se continuó la agitación a -78 °C durante 2 horas. A esta suspensión se añadió una solución de 3,5-bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-1-O-metil- α -D-eritro-pentofuranosa 2-ulosa (14 g, 30 mmol) [proveniente del Ejemplo 2 Paso B] en THF anhidro (100 ml) gota a gota, con agitación continua. La reacción se agitó a -78 °C durante 4 horas. La reacción se detuvo con solución saturada de cloruro de amonio y se permitió que se equilibrara a temperatura ambiente. La mezcla se filtró a través de almohadilla de Celite y el residuo se lavó con Et₂O (2 x 500 ml). Se separó la capa orgánica y se extrajo la capa acuosa con Et₂O (2 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron hasta formar un aceite amarillo viscoso. El aceite se purificó por cromatografía instantánea (SiO₂, 10% de EtOAc en hexanos). Se obtuvo el compuesto del título (6.7 g, 13.2 mmol) en forma de un aceite amarillo pálido.

20

Paso B 4-Cloro-7-[3,5-bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-2-C-vinil β -D-ribofuranosil]-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina

A una solución del compuesto del Paso A (6.4 g, 12.6 mmol) en diclorometano anhidro (150 ml) a -20°C se añadió HBr (solución al 30% en AcOH, 20 ml, 75.6 mmol) gota a gota. La solución obtenida se agitó a temperaturas entre -10°C y 0°C durante 4 horas, se evaporó al vacío y se coevaporó con tolueno anhidro (3 x 40 ml). El residuo oleoso se disolvió en acetonitrilo anhidro (100 ml) y se añadió a una solución de la sal de sodio de 4-cloro-1H-pirrol[2,3-d]pirimidina (5.8 g, 37.8 mmol) en acetonitrilo (generada in situ como se describió en el Ejemplo 2) a -20°C. Se permitió que la mezcla obtenida se equilibrara a temperatura ambiente y se agitó a dicha temperatura durante 24 horas. La mezcla se evaporó entonces hasta sequedad, se recogió en agua y se extrajo con EtOAc (2 x 300 ml). Los extractos combinados se desecaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron. La mezcla cruda se purificó por

cromatografía instantánea (SiO₂, 10% de EtOAc en hexanos) y se aisló el compuesto del título (1.75 g) en forma de una espuma blanca.

Paso C 4-Amino-7-[3,5-bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-2-C-vinil-β-D-ribofuranosil]-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina

5 El compuesto del Paso B (80 mg) se disolvió en la cantidad mínima de 1,4-dioxano y se lo colocó en una bomba de acero inoxidable. La bomba se enfrió a -78 °C y se añadió amoníaco líquido. A continuación se selló y calentó a 90 °C durante 24 horas. Se permitió que el amoníaco se evaporara y el residuo se concentró hasta
10 obtener un sólido blanco que se usó en el paso siguiente sin más purificación.

Paso D: 4-amino-7-(2-C-vinil-β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina

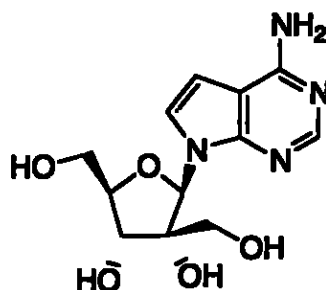
A una solución del compuesto del Paso C (60 mg) en diclorometano a -78 °C se añadió tricloruro de boro (1M en diclorometano) gota a gota. La mezcla se
15 agitó a -78 °C durante 2,5 horas y luego a temperaturas entre -30 °C y -20 °C durante 3 horas. La reacción se detuvo añadiendo metanol/diclorometano (1:1) y la mezcla obtenida se agitó a -15 °C durante 0,5 horas, después de lo cual se neutralizó con amoníaco acuoso a 0 °C y se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. El
20 sólido se filtró y lavó con metanol/diclorometano (1:1). El filtrado combinado se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía instantánea (SiO₂, metanol al 10% en EtOAc que contenía 0.1% de trietilamina). Las fracciones que contenían el producto se evaporaron para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (10 mg).

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 3.6 (m, 1H, H-5), 3.8 (m, 1H, H-5), 3.9 (m, 1H, H-4),
25 4.3 (t, 1H, H-3), 4.8-5.3 (m, 6H, CH=CH₂, 2 OH, 3 OH, 5-OH), 6.12 (s, 1H, H-1),
6.59 (d, 1H, H-5), 7.1 (br s, 1H, NH₂), 7.43 (d, 1H, H-6), 8.01 (s, 1H, H-2).
EM RE Hallado 291.1 (M⁺) calculado para C₁₃H₁₆N₄O₄ H⁺ 291.2

EJEMPLO 24

30

4-Amino-7-(2-C-hidroximetil-β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina



Paso A **4-Cloro-7 [(3,5 bis O-(2,4-diclorofenilmetil)-2 C hidroximetil β D-ribofuranosil] 7H pirrol[2,3-d]pirimidina**

- A una solución del compuesto del Ejemplo 23 Paso B (300 mg, 0.48 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml) se añadieron N-óxido de N metilmorfolina (300 mg, 2.56 mmol) y tetróxido de osmio (solución al 4% en agua, 0.3 ml). La mezcla se agitó en la oscuridad durante 14 horas. El precipitado se extrajo por filtración a través de tapón de Celite, se diluyó con agua (3 veces) y se extrajo con EtOAc. La capa de EtOAc se desecó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío. El residuo oleoso se recogió en diclorometano (5 ml) y se agitó sobre NaIO₄ en gel de sílice (3 g, NaIO₄ al 10%) durante 12 horas. El gel de sílice se extrajo por filtración y el residuo se evaporó y recogió en etanol absoluto (5 ml). La solución se enfrió en baño de hielo y se añadió borhidrato de sodio (300 mg, 8 mmol) en porciones pequeñas. La mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas y luego se diluyó con EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua (2 x 20 ml) y salmuera (20 ml) y se desecó sobre Na₂SO₄. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía instantánea (SiO₂, 2:1 hexanos/EtOAc) para dar el compuesto del título (160 mg, 0.25 mmol) en forma de escamas blancas.

Paso B **4-Amino-7 [(3,5 bis O-(2,4-diclorofenilmetil)-2 C hidroximetil β D-ribofuranosil] 7H pirrol[2,3-d]pirimidina**

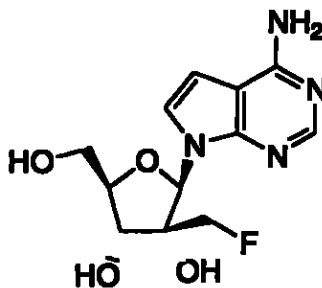
- El compuesto del Paso A (150 mg, 0.23 mmol) fue disuelto en la cantidad mínima de 1,4-dioxano (10 ml) y se colocó en una bomba de acero inoxidable que se enfrió a -78°C y a la que se añadió amoníaco líquido. La bomba se selló y calentó a 90°C durante 24 horas. Se permitió que el amoníaco se evaporara y el residuo se concentró hasta obtener un sólido blanco que se usó en el paso siguiente sin más purificación.

Paso C 4-Amino-7 (2-C hidroximetil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina

- El compuesto del Paso B (120 mg, 0.2 mmol) se disolvió en 1 l metanol/diclorometano se añadió 10% Pd-C y la suspensión se agitó bajo una atmósfera de H₂ durante 12 horas. El catalizador se extrajo por filtración a través de una almohadilla de Celite y se lavó con cantidades copiosas de metanol. El filtrado combinado se evaporó al vacío y el residuo se purificó por cromatografía instantánea (SiO₂ metanol al 10% en EtOAc que contenía trietilamina al 0.1%) para obtener el compuesto del título (50 mg) en forma de un polvo blanco.
- ¹H NMR (CD₃OD) δ 3.12 (d, 1H, CH₂) 3.33 (d, 1H, CH₂) 3.82 (m, 1H, H-5) 3.99-4.1 (m, 2H, H-4, H-5') 4.3 (d, 1H, H-3) 6.2 (s, 1H, H-1) 6.58 (d, 1H, H-5) 7.45 (d, 1H, H-6) 8.05 (s, 1H, H-2)
- CL-EM Hallado 297.2 (M+H⁺) calculado para C₁₂H₁₆N₄O₅ + H⁺ 297.3

EJEMPLO 25

4-Amino-7 (2-C fluorometil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina



Paso A 4-Cloro-7 [3,5 bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-2-C fluorometil β-D-ribofuranosil] 7H pirrol[2,3-d]pirimidina

- A una solución del compuesto del Ejemplo 24 Paso A (63 mg, 0.1 mmol) en diclorometano anhidro (5 ml) bajo argón se añadieron 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (2 mg, 0.015 mmol) y trietilamina (62 μl, 0.45 mmol). La solución se enfrió en baño de hielo y se añadió cloruro de p-toluensulfonilo (30 mg, 0.15 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se lavó con NaHCO₃ (2 × 10 ml) agua (10 ml) y salmuera (10 ml) se desecó sobre Na₂SO₄ y se concentró hasta un sólido rosado al vacío. El sólido se disolvió en THF anhidro (5 ml) y se enfrió en un baño de hielo. Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio

- (solución 1M en THF 1 ml 1 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. El disolvente se extrajo al vacío, el residuo se recogió en diclorometano y se lavó con NaHCO₃ (2 × 10 ml), agua (10 ml) y salmuera (10 ml). La capa de diclorometano se desecó sobre Na₂SO₄ anhidro, se concentró al vacío y se purificó por cromatografía instantánea (SiO₂ 2 l hexanos/EtOAc) para obtener el compuesto del título (20 mg) en forma de un sólido blanco.

Paso B 4-Amino-7-[3,5-bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-2-C-fluorometil-β-D-ribofuranosil]-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina

- El compuesto del Paso A (18 mg, 0.03 mmol) se disolvió en la cantidad mínima de 1,4-dioxano y se colocó en una bomba de acero inoxidable que se enfrió a -78 °C añadiéndose entonces amoníaco líquido. La bomba se selló y calentó a 90°C durante 24 horas. Se permitió que el amoníaco se evaporara y el residuo se concentró hasta obtener un sólido blanco que se usó en el paso siguiente sin más purificación.

Paso C 4-amino-7-(2-C-fluorometil-β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina

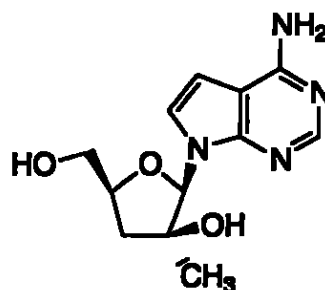
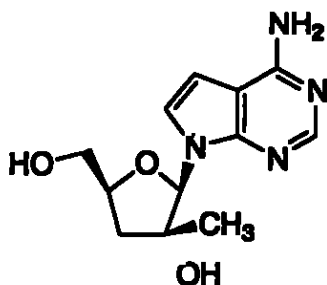
- El compuesto del Paso B (16 mg) se disolvió en 1 l metanol/diclorometano, se añadió 10% Pd-C y la suspensión se agitó bajo una atmósfera de H₂ durante 12 horas. El catalizador se extrajo por filtración a través de una almohadilla de Celite y se lavó con cantidades copiosas de metanol. El filtrado combinado se evaporó al vacío y el residuo se purificó por cromatografía instantánea (SiO₂, metanol al 10% en EtOAc que contenía trietilamina al 0.1%) para dar el compuesto del título (8 mg) en forma de un polvo blanco.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 3.6-3.7 (m, 1H, H-5), 3.8-4.3 (m, 5H, H-5, H-4, H-3, CH₂), 5.12 (t, 1H, 5'-OH), 5.35 (d, 1H, 3'-OH), 5.48 (s, 1H, 2'-OH), 6.21 (s, 1H, H-1), 6.52 (d, 1H, H-5), 6.98 (br s, 2H, NH₂), 7.44 (d, 1H, H-6), 8.02 (s, 1H, H-2).
¹⁹F NMR (DMSO-d₆) δ 230.2 (t).

- EM RE Hallado 299.1 (M+H⁺) calculado para C₁₂H₁₃FN₄O₄ + H⁺ 299.27

EJEMPLOS 26 y 27

4-Amino-7-(3-desoxi-2-C metil β-D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d] pirimidina y 4-amino-7-(3-desoxi-2-C metil β-D-arabinofuranosil)-7H pirrol[2,3-d] pirimidina



Paso A 7 [2,5 Bis-O-(*tert*-butildimetilsilil)-β-D-ribofuranosil]-7H pirrol[2,3-d]pirimidina y 7 [3,5 bis-O-(*tert*-butildimetilsilil)-β-D-ribofuranosil]-7H pirrol[2,3-d] pirimidina

A una solución agitada de tubercidina (50 g, 187 mmol) en una mezcla de piridina (75 ml) y DMF (185 ml) se añadió nitrato de plata (6,36 g, 388 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se enfrió en un baño de hielo se añadió THF (374 ml) y cloruro de *tert*-butildimetilsililo (56 g, 37 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. A continuación la mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite y se lavó con THF. El filtrado y los lavados se diluyeron con éter que contenía una pequeña cantidad de cloroformo. La capa orgánica se lavó sucesivamente con bicarbonato de sodio y agua (3 x 50 ml). Se desecó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró. La piridina se extrajo por coevaporación con tolueno y el residuo se purificó por cromatografía instantánea sobre gel de sílice usando MeOH al 5 al 7% en CH₂Cl₂ como el eluyente. Rendimiento 30 g.

Paso B 7 [2,5 Bis-O-(*tert*-butildimetilsilil)-β-D-ribofuranosil]-4-[di-(4-metoxifenil)fenilmetil]amino-7H pirrol[2,3-d]pirimidina y 7 [3,5 bis-O-(*tert*-butildimetilsilil)-β-D-ribofuranosil]-4-[di-(4-metoxifenil)fenilmetil]amino-7H pirrol[2,3-d]pirimidina

A una solución de la mezcla de los compuestos del Paso A (30 g, 60 mmol) en piridina anhidra (30 ml) se añadió cloruro de 4,4'-dimetoxitritilo (28 g, 82 mmol) y la mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se trituró entonces con piridina acuosa y se extrajo con éter. La capa orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró hasta una

espuma amarilla (5.6 g). El residuo se purificó por cromatografía instantánea sobre el de sílice usando como eluyente EtOAc al 20 a 25% en hexanos. Las fracciones apropiadas se recogieron y concentraron para dar nucleósidos protegidos por 2,5-bis-O-(*tert*-butildimetilsililo) y por 3,5-bis-O-(*tert*-butildimetilsililo) como espumas incoloras (2.2 g y 1.0 g, respectivamente).

Paso C: 7-[2,5-Bis-O-(*tert*-butildimetilsililo)-3-O-tosil-β-D-ribofuranosil]-4-[di-(4-metoxifenil)fenilmetil]amino-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina

A una solución enfriada al hielo, de nucleósido protegido por 2,5-bis-O-(*tert*-butildimetilsililo) del Paso B (2.0 g, 2.5 mmol) en piridina (22 ml) se añadió cloruro de p-toluensulfonilo (1.9 g, 9.8 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante cuatro días. A continuación se trituró con piridina acuosa (al 50% 10 ml) y se extrajo con éter (3 × 50 ml) que contenía una pequeña cantidad de CH₂Cl₂ (10 ml). La capa orgánica se lavó con bicarbonato de sodio y agua (3 × 30 ml) después se lavó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. La piridina se extrajo por coevaporación con tolueno (3 × 25 ml). El aceite residual se filtró a través de una almohadilla de gel de sílice usando hexano acetato de etilo (70/30) como eluyente, rendimiento 1.4 g.

Paso D: 4-[Di-(4-metoxifenil)fenilmetil]amino-7-[3-O-tosil-β-D-ribofuranosil]-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina

Una solución del compuesto del Paso C (1.0 g, 1.1 mmol) y THF (10 ml) se agitó con fluoruro de tetrabutilamonio (solución 1M en THF = 2.5 ml) durante 0.5 horas. La mezcla se enfrió y diluyó con éter (50 ml). La solución se lavó con agua (3 × 50 ml) se desecó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró hasta obtener un aceite. El residuo se purificó pasándolo a través de una almohadilla de gel de sílice usando hexano acetato de etilo (1/1) como eluyente. rendimiento 780 mg.

Paso E: 4-Amino-7-(3-desoxi-2-C-metil-β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina y 4-amino-7-(3-desoxi-2-C-metil-β-D-arabinofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina

Una solución de CH₃MgI (solución 3.0 M en éter 3.0 ml) en tolueno anhidro (3.75 ml) fue enfriada en un baño de hielo. A continuación se le añadió una solución del compuesto del Paso D (500 mg, 0.8 mmol) en tolueno anhidro (3.7 ml). La mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 3.5 horas, se enfrió, se

- trató con solución acuosa de NH_4Cl y se extrajo con éter (50 ml que contenían 10 ml de CH_2Cl_2) La capa orgánica se separó y se lavó con salmuera (2×30 ml) y agua (2×25 ml) se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró a un aceite que se purificó por cromatografía instantánea sobre gel de sílice usando MeOH al 4% en CH_2Cl_2 para
- 5 obtener el compuesto 2-C- α -metilo (149 mg) y el compuesto 2-C- β -metilo (34 mg) Estos derivados se trataron por separado con ácido acético al 80% y la mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas El ácido acético se extrajo mediante coevaporación repetida con etanol y tolueno El residuo se sometió a
- 10 partición entre el cloroformo y agua. La capa acuosa se lavó con cloroformo y se concentró El residuo evaporado se purificó sobre gel de sílice usando MeOH al 5 a 10% en CH_2Cl_2 como el eluyente, para proporcionar los compuestos deseados en forma de sólidos blancos

4-Amino-7-(3-desoxi 2-C metil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina (9 0 mg)

- 15 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 0.74 (s, 3H, CH_3) 1.77 (dd, 1H, H-3') 2.08 (t, 1H, H-3) 3.59 (m, 1H, H-5) 3.73 (m, 1H, H-5') 4.15 (m, 1H, H-4) 5.02 (t, 1H, OH-5) 5.33 (s, 1H, OH-2) 6.00 (s, 1H, H-1), 6.54 (d, 1H, H-7) 6.95 (br s, 2H, NH_2) 7.47 (d, 1H, H-8) 8.00 (s, 1H, H-2) EM RE 263.1 [M⁺H]

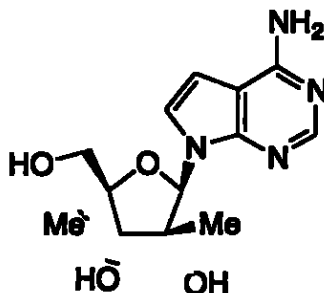
4-Amino-7-(3-desoxi 2-C metil β -D-arabinofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina (15 mg)

- 20 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 1.23 (s, 3H, CH_3) 2.08 (ddd, 2H, H-3 y 3'), 3.57 (m, 2H, H-5 y 5') 4.06 (m, 1H, H-4) 5.10 (s, 1H, OH-2), 5.24 (t, 1H, OH-5) 6.01 (s, 1H, H-1), 6.49 (d, 1H, H-7) 6.89 (br s, 2H, NH_2) 7.35 (d, 1H, H-8) 8.01 (s, 1H, H-2) EM RE 265.2 [M⁺H]

25

EJEMPLO 28

4-Amino-7-(2,4-C-dimetil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina



Paso A **5 Desoxi 1,2 O-isopropilidén D-xilofuranosa**

- Se disolvieron 1 2-O-isopropilidén D-xilofuranosa (38,4 g, 0 2 mol) 4-dimetilaminopiridina (5 g) y trietilamina (55 7 ml 0 4 mol) en diclorometano (300 ml) Se añadió cloruro de p-toluensulfonilo (38 13 g, 0 2 mol) y la mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas A continuación la mezcla se vertió en bicarbonato de sodio acuoso saturado (500 ml) y las dos capas se separaron La capa orgánica se lavó con solución acuosa de ácido cítrico (al 20% 200 ml) se desecó (Na_2SO_4) y se evaporó para dar un sólido (70 0 g) el que se disolvió en THF seco (300 ml) y se le añadió LiAlH_4 (16,0 g, 0,42 mol) en porciones durante un intervalo de 30 minutos La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos Se añadió acetato de etilo (100 ml) gota a gota durante 30 minutos y la mezcla se filtró a través de un lecho de gel de sílice El filtrado se concentró y el aceite resultante se cromatografió sobre gel de sílice (EtOAc/hexano 1/4) para obtener el producto en forma de un sólido (32 5 g)

Paso B **3,5 Bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-1 O-metil-4-metil- α -D-ribofuranosa**

- Se añadieron óxido de cromo (50 g, 0 5 mol) anhídrido acético (50 ml 0,53 mol) y piridina (100 ml 1 24 mol) a diclorometano (1 litro) en un baño de agua helada y la mezcla se agitó durante 15 minutos Se añadió 5-desoxi 1 2 O-isopropilidén D-xilofuranosa (32 g, 0 18 mol) en diclorometano (200 ml) y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 30 minutos La solución de la reacción se diluyó con acetato de etilo (1 litro) y se filtró a través de un lecho de gel de sílice El filtrado se concentró para dar un aceite amarillo El aceite se disolvió en 1 4-dioxano (1 litro) y formaldehído (37% 200 ml) La solución se enfrió a 0°C y se añadió KOH sólido (50 g) La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche y luego se extrajo con acetato de etilo (6 $\times$ 200 ml) Después de proceder a la concentración el residuo se cromatografió sobre gel de sílice (EtOAc) para obtener el producto en

- forma de un aceite (1.5 g). El aceite se disolvió en 1-metil-2-pirrolidinona (20 ml) y se añadieron cloruro de 2,4-diclorofenilmetilo (4 g, 20.5 mmol) y NaH (60% 0.8 g). La mezcla se agitó durante la noche y se diluyó con tolueno (100 ml). Se lavó entonces con bicarbonato de sodio acuoso saturado (3 x 50 ml), se desecó (Na_2SO_4) y se evaporó. El residuo se disolvió en metanol (50 ml) y se añadió HCl en dioxano (4 M 2 ml). La solución se agitó durante la noche y se evaporó. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (EtOAc/hexano 1/4) para dar el producto deseado en forma de un aceite (2.01 g).
- 10 **Paso C** 3,5-Bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-2,4-di-C-metil-1-O-metil- α -D-ribofuranosa
- El producto (2.0 g, 4.0 mmol) obtenido en el Paso B y peryodinano de Dess-Martin (2.0 g) en diclorometano (30 ml) fueron agitados a temperatura ambiente durante la noche y luego se concentraron bajo presión reducida. El residuo se trituró con éter (50 ml) y se filtró. El filtrado se lavó con una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (2.5 g) en solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (50 ml), se desecó (MgSO_4), se filtró y se evaporó. El residuo se disolvió en Et_2O anhidro (20 ml) y se añadió, gota a gota, a una solución de MeMgBr en Et_2O (3 M 10 ml) a -78°C . Se permitió que la mezcla de la reacción se calentara a -30°C y se agitó a temperatura entre -30°C y -15°C durante 5 horas, después de lo cual se vertió en solución acuosa saturada de cloruro de amonio (50 ml). Las dos capas se separaron y la capa orgánica se desecó (MgSO_4), se filtró y se concentró. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (EtOAc/hexano 1/9) para dar el compuesto del título en forma de un jarabe (1.40 g).
- 25 **Paso D** 4-Cloro-7-[3,5-bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-2,4-di-C-metil- β -D-ribofuranosil]-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina
- Al compuesto del Paso C (0.70 g, 1.3 mmol) se añadió HBr (5.7 M en ácido acético 2 ml). La solución obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, se evaporó al vacío y se coevaporó con tolueno anhidro (3 x 10 ml).
- 30 Se agitaron 4-cloro-1H-pirrol[2,3-d]pirimidina (0.5 g, 3.3 mmol) y KOH en polvo (85% 150 mg, 2.3 mmol) en 1-metil-2-pirrolidinona (5 ml) durante 30 minutos y la mezcla se coevaporó con tolueno (10 ml). La solución obtenida se vertió dentro del residuo de azúcar bromada previo y la mezcla se agitó durante la noche. La mezcla se diluyó con tolueno (50 ml), se lavó con agua (3 x 50 ml) y se concentró bajo presión.

reducida El residuo se cromatógrafió sobre gel de sílice eluyéndose con EtOAc/hexano (15/85) para dar un sólido (270 mg)

Paso E 4-Amino-7-(2,4-C-dimetil-β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina

5 El compuesto del Paso D (270 mg) se disolvió en dioxano (2 ml) y se le añadió amoníaco líquido (20 g) en un autoclave de acero inoxidable. La mezcla se calentó a 100°C durante 15 minutos y luego se enfrió y evaporó. El residuo se cromatógrafió sobre gel de sílice (EtOAc) para dar un sólido (200 mg). Dicho sólido (150 mg) y Pd/C (10% 150 mg) en metanol (20 ml) se agitaron bajo H₂ (30 psi) durante 3 horas, se filtraron y se evaporaron. El residuo se cromatógrafió sobre gel de sílice (MeOH/CH₂Cl₂ 1/9) para dar el producto deseado en forma de un sólido (35 mg).

15 ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 0.65 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 3.43 (m, 2H), 4.06 (d, 1H, *J* 6.3 Hz), 4.87 (s, 1H), 5.26 (br 1H), 5.08 (d, 1H, *J* 6.3 Hz), 5.25 (t, 1H, *J* 3.0 Hz), 6.17 (s, 1H), 6.54 (d, 1H, *J* 3.5 Hz), 6.97 (s, br 2H), 7.54 (d, 1H, *J* 3.4 Hz), 8.02 (s, 1H).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ 18.19, 21.32, 65.38, 73.00, 79.33, 84.80, 90.66, 99.09,

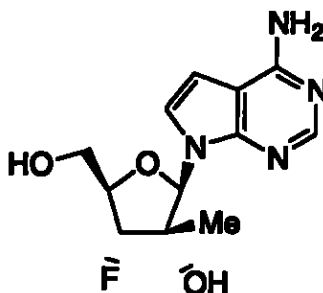
102.41, 121.90, 149.58, 151.48, 157.38.

CL-EM Hallado 295.1 (M+H⁺) calculado para C₁₃H₁₈N₄O₄+H⁺ 295.1

20

EJEMPLO 29

4-Amino-7-(3-desoxi-3-flúor-2-C-metil-β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina



25

Paso A 3-Desoxi-3-flúor-1-O-metil-5-O-toluoil-α-D-ribofuranosa

87
8A

Se agitaron durante 30 minutos 1 2 *O*-isopropilidén *D*-xilofuranosa (9 0 g 50 mmol) y cloruro de *p*-toluofilo (7 0 ml 50 mmol) en piridina (50 ml) Se añadió agua (10 ml) y la mezcla se concentró bajo presión reducida El residuo se disolvió en tolueno (500 ml) y la solución se lavó con agua (200 ml) y solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (200 ml) Las dos capas se separaron y la capa orgánica se evaporó El residuo se disolvió en metanol (100 ml) y se añadió HCl en dioxano (4 M 10 ml) La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche y luego se evaporó bajo presión reducida. El aceite obtenido fue cromatografiado sobre gel de sílice (EtOAc/hexano 1/1) para dar un aceite (10 1 g) el que se disolvió en diclorometano (100 ml) y se le añadió trifluoruro de dietilaminoazufre (DAST) (5 7 ml) La mezcla se agitó durante la noche y luego se vertió en solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (100 ml) A continuación se la extrajo con tolueno (2 × 50 ml) y las capas orgánicas combinadas se concentraron El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (EtOAc/hexano 15/85) para dar el compuesto del título en forma de un aceite (1 50 g)

Paso B **3-Desoxi-3-flúor-2-C-metil-1-O-metil-5-O-toluofil- α -D-ribofuranosa**

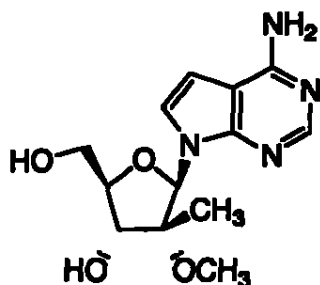
El producto del Paso A (1 0 g 3,5 mmol) y peryodinano de Dess-Martin (2,5 g) en diclorometano (20 ml) se agitaron durante la noche a temperatura ambiente y luego se concentraron bajo presión reducida El residuo se trituró con éter dietílico (50 ml) y se filtró El filtrado se lavó con una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (12 5 g) en solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (100 ml) se desecó (MgSO_4) se filtró y se evaporó El residuo se disolvió en THF anhidro (50 ml) Se le añadieron TiCl_4 (3 ml) y bromuro de metil magnesio en éter etílico (3 M 10 ml) a -78°C y la mezcla se agitó a temperatura entre -50° y -30° durante 2 horas Posteriormente la mezcla se vertió en solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (100 ml) y se filtró a través de Celite El filtrado se extrajo con tolueno (100 ml) y se evaporó El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (EtOAc/hexano 15/85) para dar el compuesto del título en forma de un aceite (150 mg)

Paso C **4-Amino-7-(3-desoxi-3-flúor-2-C-metil- β -D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-*d*]pirimidina**

El producto del Paso B (150 mg, 0 5 mmol) se disolvió en HBr (al 30%) en ácido acético (2 ml) Después de una hora, la mezcla se evaporó bajo presión

- reducida y se coevaporó con tolueno (10 ml) Se agitaron 4-cloro-1*H* pirrol[2,3-*d*]pirimidina (0,5 g 3,3 mmol) y KOH en polvo (85% 150 mg, 2,3 mmol) en DMF (3 ml) durante 30 minutos y la mezcla se coevaporó con tolueno (2 ml) La solución obtenida se vertió en el azúcar bromada previa y la mezcla se agitó durante la noche
- 5 A continuación se la diluyó con tolueno (50 ml) se lavó con agua (3 x 50 ml) y se concentró bajo presión reducida El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (EtOAc/hexano 15/85) para dar un aceite (60 mg) el que se disolvió en dioxano (2 ml) y se le añadió amoníaco líquido (20 g) en un autoclave de acero inoxidable La mezcla se calentó a 85 °C durante 18 horas y luego se enfrió y se evaporó El residuo
- 10 se cromatografió sobre gel de sílice (metanol/diclorometano 1/9) para dar el compuesto del título en forma de un sólido (29 mg)
- ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 0,81 (s, 3H) 3,75 (m, 2H), 4,16 (m, 1H) 5,09 (dd, 1H *J* 53,2 7,8 Hz) 5,26 (br 1H) 5,77 (s, 1H) 6,15 (d, 1H *J* 2,9 Hz) 6,59 (d, 1H, *J* 3,4 Hz) 7,02 (s br 2H) 7,39 (d, 1H, *J* 3,4 Hz), 8,06 (s, 1H)
- 15 ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) 19,40 59,56, 77,24 79,29 90,15 91,92 99,88 102,39 121,17 149,80 151,77 157,47
- ¹⁹F NMR (DMSO-*d*₆) δ 14,66 (m)
- EM RE Hallado 283,1 (M+H⁺) calculado para C₁₂H₁₅FN₄O₃+H⁺ 283,1

20

EJEMPLO 30**4-Amino-7-(2 C,2 O-dimetil β-D-ribofuranosil)-7*H* pirrol[2,3-*d*]pirimidina**

- 25 **Paso A** **4-cloro-7-[3,5 bis-O-(2,4-diclorofenilmetil) 2 C,2 O-dimetil β-D-ribofuranosil]-7*H* pirrol[2,3-*d*]pirimidina**

A una solución previamente enfriada (0°C) del compuesto del Ejemplo 2 Paso D (618 mg, 1,0 mmol) en THF (8 ml) se añadió yoduro de metilo (709 mg, 5,0

- mmol) y NaH (al 60% en aceite mineral) (44 mg, 1.1 mmol). La mezcla obtenida se agitó durante la noche a t_a y luego se vertió en una mezcla de cloruro de amonio acuoso saturado (50 ml) y diclorometano (50 ml) bajo agitación. La capa orgánica se lavó con agua (50 ml), se secó (MgSO₄) y se evaporó al vacío. El producto crudo obtenido se purificó sobre gel de sílice usando acetato de etilo/hexano como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se reunieron y evaporaron al vacío para dar el producto deseado (735 mg) en forma de una espuma incolora.

Paso B 4-amino-7-[3,5-bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-2-C,2-O-dimetil-β-D-ribofuranosil]-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina

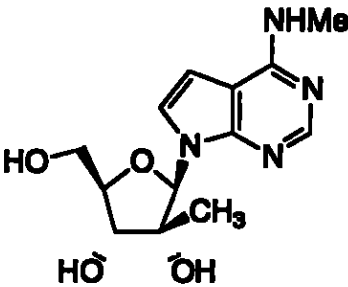
- Al compuesto del Paso A (735 mg, 1.16 mmol) se añadió amoníaco metanólico (saturado a 0°C) (20 ml). La mezcla se calentó en un autoclave de acero inoxidable a 80°C durante la noche, se enfrió y el contenido se evaporó al vacío. La mezcla cruda se purificó sobre gel de sílice usando acetato de etilo/hexano como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se reunieron y evaporaron al vacío para dar el producto deseado (504 mg) en forma de una espuma incolora.

Paso C 4-amino-7-(2-C,2-O-dimetil-β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina

- Una mezcla del producto del Paso C (64 mg, 0.1 mmol), MeOH (5 ml), Et₃N (0.2 ml) y 10% de Pd/C (61 mg) se hidrogenó en un hidrogenador de Parr a 50 psi y a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se filtró a través de Celite, se evaporó al vacío y se filtró a través de una almohadilla de gel de sílice usando metanol al 2% en diclorometano como eluyente. El producto deseado se recogió y evaporó al vacío. El compuesto se volvió a disolver en metanol (10 ml) y se añadió 10% de Pd/C (61 mg). La mezcla se hidrogenó en un hidrogenador de Parr a 55 psi y a temperatura ambiente durante dos semanas. Se filtró a través de Celite, se evaporó al vacío y se purificó sobre gel de sílice usando metanol al 10% en diclorometano como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se reunieron y evaporaron al vacío para dar el producto deseado (110 mg) en forma de una espuma incolora.
- ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 0.68 (s, 3H), 3.40 (s, 3H), 3.52, 3.99 (m superpuesto, 4H), 4.92 (d, 1H), 5.07 (t, 1H), 6.26 (s, 1H), 6.55 (d, 1H), 7.00s br 2H, 7.46 (d, 1H), 8.05 (s, 1H).
- CL-EM Hallado 293.1 (M H⁺) calculado para C₁₂H₁₆N₄O₄ H⁺ 293.12

EJEMPLO 31

4-Metilamino-7 (2-C metil β-D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina



5

El compuesto del Paso E del Ejemplo 2 (200 mg, 0.67 mmol) se añadió a metilamina (5 ml condensada en un autoclave pequeño de acero inoxidable) y se calentó a 85 C por 48 horas, después de lo cual se enfrió y evaporó al vacío. La mezcla cruda se purificó sobre gel de sílice usando etanol como eluyente para dar el compuesto del título que se separó en forma de un sólido amorfo después del tratamiento con MeCN. El sólido amorfo se disolvió en agua y se liofilizó para dar un polvo incoloro (144 mg).

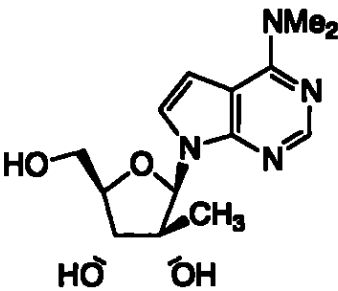
¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 0.63 (s, 3H, CH₃), 3.32 (s, 3H, N-CH₃), 3.58-3.67 (m, 1H, H-5), 3.79-3.39 (m, 3H, H-5, H-4, H-3), 5.03 (s, 1H, 2'-OH), 5.04-5.11 (1H, 3'-OH, 1H, 5'-OH), 6.14 (s, 1H, H-1), 6.58 (d, 1H, *J*_{5,6} = 3.6 Hz, H-5), 7.46 (d, 1H, H-6), 7.70 (br s, 1H, NH), 8.14 (s, 1H, H-2).
CL-EM Hallado 295.1 (M + H⁺) calculado para C₁₃H₁₈N₄O₄ + H⁺ 294.3

15

EJEMPLO 32

20

4-Dimetilamino-7 (2-C metil β-D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina



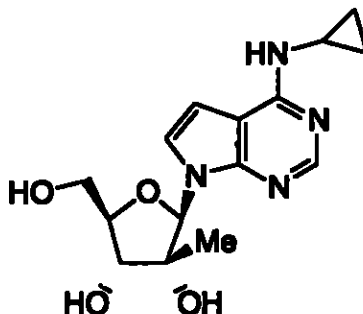
El compuesto del Paso E del Ejemplo 2 (200 mg, 0.67 mmol) se añadió a dimetilamina (5 ml condensada en un autoclave pequeño de acero inoxidable) y se calentó a 85 °C por 48 horas después de lo cual se enfrió y evaporó al vacío. La mezcla cruda se purificó sobre gel de sílice usando etanol como eluyente para dar el compuesto del título, que se separó en forma de un sólido amorfo después del tratamiento con MeCN. El sólido amorfo se disolvió en agua y se liofilizó para dar un polvo incoloro (164 mg).

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 0.64 (s, 3H, CH₃), 3.29 (s, 3H, N-CH₃), 3.32 (s, 3H, N-CH₃), 3.60-3.66 (m, 1H, H-5), 3.77-3.97 (m, 3H, H-5, H-4, H-3), 5.04 (s, 1H, 2'-OH), 5.06-5.11 (1H, 3'-OH, 1H, 5'-OH), 6.21 (s, 1H, H-1), 6.69 (d, 1H, *J*_{3,4} = 3.6 Hz, H-5), 7.55 (d, 1H, H-6), 8.13 (s, 1H, H-2).
CL-EM Hallado 309.3 (M H⁺) calculado para C₁₄H₂₀N₄O₄+H⁺ 308.33

EJEMPLO 33

15

4-Ciclopropilamino-7 (2 C metil β-D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina

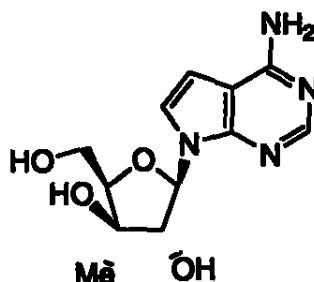


El compuesto del Paso E del Ejemplo 2 (200 mg, 0.67 mmol) se añadió a ciclopropilamina (5 ml condensada en un autoclave pequeño de acero inoxidable) y se calentó a 85 °C por 48 horas después de lo cual se enfrió y evaporó al vacío. La mezcla cruda se purificó sobre gel de sílice usando etanol como eluyente para dar el compuesto del título, que se separó en forma de un sólido amorfo después del tratamiento con MeCN. El sólido amorfo se disolvió en agua y se liofilizó para dar un polvo incoloro (148 mg).

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 0.51-0.58 (m, 2H), 0.64 (s, 3H, CH₃), 0.74-0.076 (m, 2H), 3.62-3.67 (m, 1H, H-5), 3.79-3.82 (m, 3H, H-5''), 3.92-3.96 (m, H-4, H-3), 5.03 (s

^1H 2 -OH) 5 05 5 10 (^1H 3 OH, ^1H 5 -OH) 6 15 (s ^1H H 1) 7 48 (d ^1H $J_{5,6}$ = 3 6 Hz H 5) 7 59 (d ^1H H-6) 8 13 (s ^1H , H 2)
CL-EM Hallado 321 1 (M H^+) calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_4 + \text{H}^+$ 320 3

5

EJEMPLO 34**4-Amino-7 (3 C metil β -D-xilofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina**

Paso A 7 [2,5 Bis *O*-(*tert*-butildimetilsilil)- β -D-ribofuranosil]-4-[(4-metoxifenil)difenilmetil]amino-7H pirrol[2,3-d]pirimidina y 7 [3,5 bis *O*-(*tert*-butildimetilsilil)- β -D-ribofuranosil]-4 [(4-metoxifenil)difenilmetil]amino-7H pirrol[2,3-d]pirimidina

10

A una solución de una mezcla de los compuestos del Paso A de los Ejemplos 26 y 27 (0 32 g, 0 65 mmol) en piridina anhidra (6 ml) se añadió cloruro de monometoxitritilo (0 30 g, 0 98 mmol) y la mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró entonces y el residuo se sometió a partición entre CH_2Cl_2 (70 ml) y agua (20 ml). La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El residuo se purificó en columna de gel de sílice usando entre 5 y 13% de EtOAc en hexanos como eluyente.

Las fracciones apropiadas se recogieron y concentraron para dar nucleósidos protegidos por 2 5 bis-*O*-(*tert*-butildimetilsilil)- y 3 5 bis-*O*-(*tert*-butildimetilsilil) en forma de espumas incoloras (343 mg y 84 mg, respectivamente).

15

20

Paso B 7 [2,5 Bis-*O*-(*tert*-butildimetilsilil)- β -D-*entro*-pentofuranos 3 ulosil]-4-[(4-metoxifenil)difenilmetil]amino-7H pirrol[2,3-d]pirimidina

25

A una suspensión bien agitada de trióxido de cromo (91 mg, 0 91 mmol) en CH_2Cl_2 (4 ml) a 0°C se añadieron piridina (147 μl , 1 82 mmol) y luego anhídrido acético (86 μl , 0 91 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente.

durante 0 5 horas A continuación, se añadió el nucleósido protegido por 2,5 bis-O-(*tert*-butildimetilsilil) del Paso A (343 mg 0 45 mmol) en CH₂Cl₂ (2 5 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas A continuación la mezcla se vertió en EtOAc helado (10 ml) y se filtró a través de una columna corta de gel de sílice usando EtOAc como el eluyente El filtrado se evaporó y el residuo se purificó en columna de gel de sílice, con hexanos y hexanos/EtOAc (7/1) como eluyentes para dar el compuesto del título (180 mg)

Paso C 7 [2,5 Bis O-(*tert*-butildimetilsilil)-3 C metil β-D-ribofuranosil]-4-[(4-metoxifenil)difenilmetil]amino-7H pirrol[2,3-*d*]pirimidina y 7 [2,5 Bis-O-(*tert*-butildimetilsilil) 3 C metil β-D-xilofuranosil]-4-[(4-metoxifenil)difenilmetil]amino-7H pirrol[2,3-*d*]pirimidina

A una mezcla de MeMgBr (solución 3 0 M en éter 0 17 ml 0 5 mmol) en hexanos anhidros (1 5 ml) a temperatura ambiente, se añadió gota a gota, una solución del compuesto del Paso B (78 mg 0 1 mmol) en hexanos anhidros (0,5 ml) Después de agitar por 2 horas a temperatura ambiente, la mezcla de la reacción se vertió en agua helada (10 ml) se diluyó con EtOAc (20 ml) y se filtró a través de Celite que se lavó entonces minuciosamente con EtOAc Las capas se separaron y la orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre (Na₂SO₄) y se concentró El residuo se purificó en una columna de gel de sílice usando entre 8 y 25% de EtOAc en hexanos como eluyente para dar el isómero 3-C-metil xilo (60 mg) y el 3-C metil ribo (20 mg)

Paso D 4-Amino-7-(3 C metil β-D-xilofuranosil) 7H pirrol[2,3-*d*]pirimidina

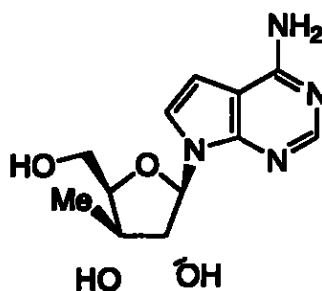
A una solución helada del isómero 3 C-metil xilo del Paso C (60 mg, 0 08 mmol) in THF (2 ml) se añadió TBAF (1 M en THF 0 32 ml 0 32 mmol) La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas se diluyó con CH₂Cl₂ (50 ml) se lavó con agua (3 × 15 ml) se secó y se evaporó El residuo se disolvió en dioxano (0 3 ml) y se añadió ácido acético al 80% (3 ml) La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 día y luego se evaporó. El residuo se coevaporó con dioxano se recogió en agua (50 ml) y se lavó con CH₂Cl₂ (2 × 10 ml) La capa acuosa se concentró y luego se liofilizó El residuo se purificó en columna de gel de sílice con CH₂Cl₂/MeOH (20/1 y 10/1) como eluyente para dar

el compuesto del título en forma de un compuesto blanco algodonoso después de la liofilización (10 mg)

^1H NMR (CD_3CN) δ 1.28 (s, 3H CH_3), 3.56 (br s, 1H OH) 3.78 (m, 3H H-4 H 5 H 5) 4.10 (br s, 1H, OH) 4.44 (d, 1H, $J_{2,1} = 3.9$ Hz, H 2) 5.58 (d, 1H H 1) 5.85 (br s, 2H, NH_2) 6.15 (br s, 1H, OH) 6.48 (d, 1H $J_{5,6} = 3.7$ Hz H 5) 7.23 (d, 1H H-6) 8.11 (s, 1H, H 2) EM RE 281 [MH]

EJEMPLO 35

10 4-Amino-7 (3 C metil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina



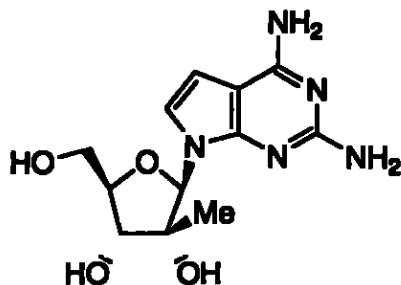
El ribosómero (20 mg) del Paso C del Ejemplo 32 se desprotegió usando el procedimiento descrito en el Paso D del Ejemplo 32, para dar el compuesto del título (4 mg)

15 ^1H NMR (CD_3CN) δ 1.43 (s, 3H, CH_3) 3.28 (br s, 1H OH) 3.58 (m, 2H H 5 H 5) 3.99 (m, 1H, H-4) 4.10 (br s, 1H, OH) 4.62 (d, 1H $J_{2,1} = 8.1$ Hz, H 2) 5.69 (d, 1H, H 1) 5.88 (br s, 3H, OH, NH_2) 6.45 (br s, 1H, OH), 6.51 (d, 1H, $J_{5,6} = 3.7$ Hz H 5) 7.19 (d, 1H H-6) 8.12 (s, 1H, H 2) EM RE 281 [MH]

20

EJEMPLO 36

2,4 Diamino-7 (2 C metil β -D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina

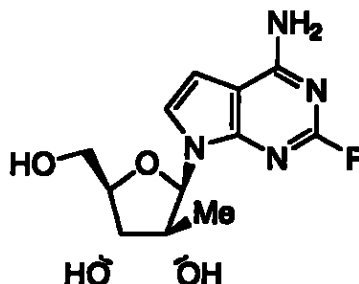


Una mezcla del producto del Paso B del Ejemplo 4 (24 mg) en amoníaco acuoso (al 30% 10 ml) se calentó en un autoclave de acero inoxidable a 100°C durante la noche, después de lo cual se enfrió y evaporó. El residuo se purificó en una columna de gel de sílice con CH₂Cl₂/MeOH (10/1 y 5/1) como eluyente para dar el compuesto del título (15 mg)

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 0.68 (s, 3H, CH₃) 3.48 3.58 (m, 1H, H-5) 3.68 3.73 (m, 2H, H-5, H-4) 3.84 (m, 1H, H-3) 4.72 (s, 1H, 2'-OH) 4.97 5.03 (m, 2H, 3'-OH, 5'-OH) 5.45 (br s, 2H, NH₂) 6.00 (s, 1H, H-1) 6.28 (d, 1H, *J* = 3.7 Hz, H-5) 6.44 (br s, 2H, NH₂) 6.92 (d, 1H, *J* = 3.7 Hz, H-6)
EM RE 294.1 (M H⁺)

EJEMPLO 37

15 4-Amino-2-fluor-7-(2-C-metil β-D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina



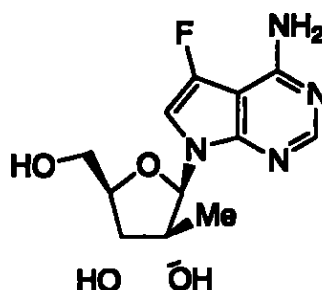
A una solución de HF/piridina (al 70% 2 ml) diluida con piridina (1 ml) a -30°C se añadió el compuesto del Ejemplo 36 (60 mg, 0.2 mmol) en 0.5 ml de piridina, seguido de nitrato de *tert*-butilo (36 μl 0.3 mmol). La agitación se mantuvo durante 5 minutos a -25°C. A continuación la solución se vertió en agua helada (5 ml) se neutralizó con NaOH acuoso 2 N y se evaporó hasta sequedad. El residuo se

purificó en columna de gel de sílice con CH₂Cl₂/MeOH (20/1 y 10/1) como eluyente para dar el compuesto del título

EJEMPLO 38

5

4 Amino-5 fluor 7-(2 C metil β-D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina



Paso A 4-Acetilamino-7-(2,3,5 tri O-acetil 2 C metil β-D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina

- 10 A una solución del compuesto del Paso F del Ejemplo 2 (280 mg, 1 00 mmol) en piridina se añadió anhídrido acético (613 mg 6 0 mmol) La solución obtenida se agitó durante la noche a temperatura ambiente se evaporó al vacío y la mezcla cruda resultante se purificó sobre gel de sílice usando acetato de etilo/hexano como eluyente Las fracciones que contenían el producto deseado se reunieron y se
- 15 evaporaron al vacío para dar el producto deseado

Paso B 4-Acetilamino-5 bromo-7-(2,3,5 tri O-acetil 2 C metil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina

- 20 A una solución previamente enfriada (0°C) del compuesto del Paso A (460 mg, 1 00 mmol) en DMF se añadió N bromosuccinimida (178 mg, 1 0 mmol) en DMF La solución obtenida se agitó a 0°C durante 30 minutos y luego a temperatura ambiente por otros 30 minutos La reacción se detuvo añadiendo metanol y se evaporó al vacío La mezcla cruda obtenida se purificó sobre gel de sílice usando acetato de etilo/hexano como el eluyente Las fracciones que contenían el producto deseado se
- 25 reunieron y se evaporaron al vacío para dar el producto deseado

Paso C 4-Amino-5 fluor 7 (2 C metil β-D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina

- A una solución previamente enfriada (78 C) del compuesto del Paso B (529 mg, 1 00 mmol) en THF se añadió litio butílico (2M en hexanos) (0 5 ml 1 00 mmol) La solución obtenida se agitó a 78 C durante 30 minutos y luego la reacción se detuvo con *N* fluorobencensulfonimida (315 mg 1 00 mmol) en THF Se permitió
- 5 que la solución obtenida se equilibrara muy lentamente a temperatura ambiente y luego se vertió en una mezcla de cloruro de amonio acuoso saturado y diclorometano, bajo agitación La fase orgánica se evaporó al vacío y se trató con hidróxido de amonio a 55 C en un recipiente cerrado, durante la noche La mezcla cruda obtenida se purificó sobre gel de sílice usando diclorometano/metanol como eluyente. Las
- 10 fracciones que contenían el producto deseado se reunieron y se evaporaron al vacío para dar el producto deseado

PRUEBAS BIOLÓGICAS

- 15 Las pruebas empleadas para medir la inhibición de la polimerasa NS5B del VHC y la replicación del VHC se describen más abajo

La eficacia de los compuestos del presente invento como inhibidores de la polimerasa de ARN dependiente del ARN de NS5B del VHC (pAdA) se midió en la prueba siguiente

- 20 A Prueba para la inhibición de la polimerasa NS5B del VHC

Esta prueba se usó para medir la capacidad de los derivados nucleósidos purínicos del presente invento para inhibir la actividad enzimática de la polimerasa de ARN dependiente del ARN (NS5B) del virus de la hepatitis C (VHC) en una plantilla heterómera de ARN

25

Procedimiento

Condiciones del tampón de la prueba (50 µl total/reacción)

- Tris 20 mM, pH 7,5
- EDTA 50 µM
- 30 DTT 5 mM
- MgCl₂ 2 mM
- KCl 80 mM
- RNAsin 0 4 U/µl (Promega, material madre es de 40 unidades/µl)

0.75 µg de t500 (un ARN de 500-nt preparado usando excedente T7 de transcripción con una secuencia de la región NS2/3 del genoma de hepatitis C)
1.6 µg de NS5B de hepatitis C purificada (forma con 21 aminoácidos truncada en terminal C)

- 5 A C U GTP (mezcla de trifosfatos nucleósidos) 1 µM
[alfa ³²P]-GTP o [alfa ³³P]-GTP

Los compuestos se sometieron a prueba a varias concentraciones hasta la concentración final de 100 µM

- Se preparó un volumen apropiado de tampón de reacción que incluía enzima y plantilla t500. Los derivados nucleósidos del presente invento se transfirieron con pipeta a los pocillos de una placa de 96 pocillos. Se preparó una mezcla de trifosfatos nucleósidos (NTP) que incluía GTP radiomarcado y se transfirió con pipeta a los pocillos de una placa de 96 pocillos. La reacción se inició añadiendo la solución de reacción de enzima plantilla y se permitió que procediera a temperatura ambiente durante 1 a 2 horas.
- 10
15

La reacción se detuvo añadiendo 20 µl de EDTA 0.5M, pH 8.0. Se incluyeron reacciones de blanco en las cuales se añadió la solución de detención al NTP antes de añadir el tampón de reacción.

- Se efectuaron manchas de 50 µl de la reacción detenida en discos de filtro DE81 (Whatman) y se permitió que se secaran durante 30 minutos. Los filtros se lavaron con formiato de amonio 0.3 M, pH 8 (150 ml/lavado hasta que los cpm en 1 ml de lavado fuesen menos de 100, normalmente 6 lavados). Los filtros se contaron en 5 ml de líquido de escintilación en un contador de escintilación.
- 20

- El porcentaje de inhibición se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación: % de inhibición = $[1 - (\text{cpm en la reacción de prueba} / \text{cpm en el blanco}) / (\text{cpm en la reacción de control} / \text{cpm en el blanco})] \times 100$
- 25

Los compuestos representativos examinados en la prueba de la polimerasa NS5B del VHC exhibieron valores de IC_{50} menores que 100 micromolar.

30 B. Prueba para la inhibición de la replicación del ARN del VHC

- Los compuestos del presente invento también fueron evaluados en cuanto a su capacidad para afectar la replicación del ARN del virus de hepatitis C en cultivos de células de hepatoma (HuH 7) que contenían un replicón de VHC subgenómico. Los detalles de la prueba se describen a continuación. Esta prueba de replicón es una modificación de la descrita en V. Lohmann, F. Korner, J.-O. Koch, U.
- 35

Herian L Theilmann y R. Bartenschlager Replication of a Sub-genomic Hepatitis C Virus RNAs in a Hepatoma Cell Line, [Replicación de un ARNs de virus de hepatitis C subgenómico en una línea de células de hepatoma] Science 285 110 (1999)

5 Protocolo

La prueba fue un ensayo de placa de protección de ribonucleasa *in situ* basado en proximidad a escintilación (SPA) Se colocaron de 10 000 a 40 000 células en placas, en 100 a 200 µl de medio que contenía 0.8 mg/ml de G418 en placas citostar de 96 pocillos (Amersham) Los compuestos fueron añadidos a las células a diversas concentraciones hasta 100 µM en DMSO al 1% a las horas 0 a 18 y luego se cultivaron durante 24 a 96 horas Las células se fijaron (20 minutos formalina al 10%) se permeabilizaron (20 minutos Tritón X 100 al 0.25%/PBS) y se hibridaron (durante la noche, a 50°C) con una sonda de ARN P³³ monocatenario complementaria a NS5B de cadena (+) (u otros genes) contenida en el genoma viral de ARN Las células se lavaron se trataron con ARNs se lavaron calentaron a 65 °C y se contaron en un Top-Count La inhibición de la replicación se leyó como una disminución en los conteos por minuto (cpm)

Las células HuH 7 de hepatoma humano, que se seleccionaron para contener un replicón subgenómico, tienen un ARN citoplásmico que consta de una región 5' VHC no traducida (NTR) un marcador seleccionable de neomicina, un EMCV IRES (sitio de entrada de ribosoma interno) y proteínas no estructurales del VHC NS3 a NS5B seguidas del 3' NTR

Los compuestos representativos examinados en la prueba de replicación exhibieron valores de CE₅₀ menores que 100 micromolares

25

Los derivados nucleósidos purínicos del presente invento también se evaluaron por toxicidad celular y especificidad antiviral en las pruebas de selección que se describen a continuación

30 C PRUEBAS DE SELECCIÓN

La capacidad para inhibir las polimerasas de ADN humanas de los derivados nucleósidos purínicos del presente invento, se midió en las pruebas siguientes

35 a. Inhibición de las polimerasas de ADN humanas alfa y beta

Condiciones de la reacción

volumen de la reacción 50 μ l

5 Componentes del tampón de la reacción

Tris-HCl 20 mM pH 7.5

200 μ g/ml de albúmina sérica bovina

KCl 100 mM

β mercaptoetanol 2 mM

10 $MgCl_2$ 10mM

dA dG dC dTTP 1.6 μ M

α - ^{33}P dATP

Enzima y plantilla

15 plantilla de ADN de semen de pescado con brecha 0.05 mg/ml

0.01 U/ μ l de polimerasa de ADN α o β

Preparación de la plantilla de ADN de semen de pescado con brecha20 Anadir 5 μ l de $MgCl_2$ 1M a 500 μ l de ADN de semen de pescado activado (USB 70076)

Calentar a 37°C y añadir 30 μ l de exonucleasa III de 65 U/ μ l (GibcoBRL 18013-011)

Incubar durante 5 minutos a 37°C

Detener la reacción calentando a 65°C durante 10 minutos

25 Cargar alícuotas de 50 a 100 μ l en columnas cromatográficas Bio-spin 6 (Bio Rad 732-6002) equilibradas con Tris HCl 20 mM pH 7.5

Eluir por centrifugación a 1 000 X g durante 4 minutos

Recoger el eluido y medir la absorbancia a 260 nm para determinar la concentración

30 La plantilla de ADN se diluyó en un volumen apropiado de Tris HCl 20 mM pH 7.5 y la enzima se diluyó en un volumen apropiado de Tris-HCl 20 mM que contenía β -mercaptoetanol 2 mM y KCl 100 mM. La plantilla y la enzima se transfirieron con pipeta a tubos de microcentrifuga o a una placa de 96 pocillos. También se prepararon reacciones de blanco excluyendo la enzima y reacciones de control excluyendo el compuesto de prueba usando tampón de dilución de la enzima y disolvente del compuesto de prueba respectivamente. La reacción se inició con

tampón de reacción con los componentes mencionados antes y se incubó durante 1 hora a 37°C. A continuación la reacción se detuvo añadiendo 20 µl de EDTA 0.5M. Se efectuaron manchas de 50 µl de la reacción detenida en discos de filtro DE 81 Whatman y se secaron al aire. Los discos de filtro se lavaron repetidamente con 150 ml de formato de amonio 0.3 M pH 8 hasta que 1 ml de lavado diese < 100 cpm. Los discos se lavaron dos veces con 150 ml de etanol absoluto y una vez con 150 ml de éter anhidro, se secaron y se contaron en 5 ml de líquido de escintilación.

El porcentaje de inhibición se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación: % de inhibición = $[1 - (\text{cpm en la reacción de prueba} / \text{cpm en el blanco})] \times 100$

b. Inhibición de la polimerasa de ADN humana gamma

El potencial para inhibición de la polimerasa de ADN humana gamma se midió en reacciones que incluyeron 0.5 ng/µl de enzima, dATP, dGTP, dCTP y TTP 10 µM, 2 µCi/reacción de [α -³³P]-dATP y 0.4 µg/µl de ADN de semen de pescado activado (obtenido de US Biochemical) en un tampón que contenía Tris 20 mM, pH 8, β-mercaptoetanol 2 mM, KCl 50 mM, MgCl₂ 10 mM y 0.1 µg/µl de ASB. Se permitió que las reacciones procedieran durante 1 hora a 37°C y luego se detuvieron añadiendo EDTA 0.5 M hasta una concentración final de 142 mM. La formación de producto se determinó cuantitativamente por conjugación con filtro de intercambio aniónico y conteo por escintilación. Los compuestos se sometieron a prueba hasta a 50 µM.

El porcentaje de inhibición se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación: % inhibición = $[1 - (\text{cpm en la reacción de prueba} / \text{cpm en el blanco})] \times 100$

La capacidad de los derivados de nucleósidos purínicos del presente invento para inhibir la infecciosidad del VIH y la difusión del VIH se midió en las siguientes pruebas:

c. Prueba de infecciosidad del VIH

Las pruebas se realizaron con una variante de las células HeLa Magi que expresaba a CXCR4 y a CCR5 seleccionada por baja expresión de fondo de β-galactosidasa (β-gal). Las células fueron infectadas durante 48 horas y se determinó cuantitativamente la producción de β-gal a partir del promotor LTR del VIH 1.

integrado usando un sustrato quimioluminiscente (Galactolight Plus Tropix Bedford MA) Los inhibidores se titularon (por duplicado) en diluciones en serie al doble comenzando a 100 μ M el porcentaje de inhibición a cada concentración se calculó en relación con la infección de control

5

d Inhibición de la difusión del VIH

La capacidad de los compuestos del presente invento para inhibir la difusión del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) se midió usando el método descrito en la Patente de EE.UU N° 5 413 999 (mayo 9 1995) y en J P Vacca y colab Proc. Natl. Acad. Sci. 91 4096-4100 (1994) que se incorporan en este documento por referencia en su totalidad.

Los derivados nucleósidos del presente invento también fueron examinados por citotoxicidad contra cultivos de células de hepatoma (HuH 7) que contenían un replicón de VHC subgenómico en una prueba MTS basada en células como se describe en la prueba siguiente La línea de células HuH 7 es descrita en H Nakabayashi y colab Cancer Res. 42 3858 (1982)

e Prueba de citotoxicidad

Los cultivos celulares se prepararon en medios apropiados a concentraciones de aproximadamente $1,5 \times 10^5$ células/ml para cultivos en suspensión en incubaciones de 3 días y de 50×10^4 células/ml para cultivos adherentes en incubaciones de 3 días Se transfirieron 99 μ l de cultivo celular a los pocillos de una placa de 96 pocillos tratados con cultivo celular y se añadió 1 μ l del compuesto de prueba a una concentración 100 veces la final en DMSO Las placas se incubaron a 37 C y 5% de CO₂ durante un intervalo especificado Después del período de incubación se añadieron 20 μ l de reactivo para prueba de proliferación celular CellTiter 96 Aqueous One Cell Proliferation Assay (MTS) (Promega) a cada pocillo y las placas se incubaron a 37 C y 5% de CO₂ durante otro intervalo más hasta de 3 horas Las placas se agitaron para mezclarse bien y se leyó la absorbancia a 490 nm usando un lector de placas Se preparó una curva estándar de células en cultivo en suspensión con números conocidos de células inmediatamente antes de añadir el reactivo MTS Las células metabólicamente activas reducen el MTS a formazán que se absorbe a 490 nm La absorbancia a 490 nm en presencia del compuesto se comparó con la absorbancia en células sin compuesto añadido

Referencia Cory A H y colab Use of an aqueous soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth assays in culture [Uso de una prueba de tetrazolio soluble acuoso/formazán para pruebas de crecimiento celular en cultivos] Cancer Commun, 3 207 (1991)

5

Se emplearon las siguientes pruebas para medir la actividad de los compuestos del presente invento frente a otros virus de ARN dependientes de ARN

a Determinación de la actividad antiviral in vitro de compuestos contra el rinovirus (Prueba de inhibición del efecto citopático)

10

Las condiciones de la prueba se describen en el artículo de Sidwell y Huffman Use of disposable microtissue culture plates for antiviral and interferon induction studies [Uso de placas desechables de cultivo microtisular para estudios antivirales y de inducción de interferón] Appl. Microbiol, 22 797-801 (1971)

15

Virus

Se usó rinovirus tipo 2 (RV 2) cepa HGP con las células KB y medio de cultivo (0.1% de NaHCO₃ sin antibióticos) como se indica en la referencia de Sidwell y Huffman El virus obtenido de ATCC provenía de un hisopeado de garganta de un hombre adulto con un caso leve de enfermedad respiratoria superior febril aguda.

20

También se obtuvieron rinovirus tipo 9 (RV 9) cepa 211 y rinovirus tipo 14 (RV 14), cepa Tow de la Colección de Cultivos Tipo Americano (ATCC) en Rockville, MD El RV 9 provenía de lavados de garganta humana y el RV 14 provenía de un hisopeado de garganta de un adulto joven con enfermedad respiratoria superior

25 Ambos virus se usaron con células HeLa Ohio-1 (Dr Fred Hayden Universidad de VA) que eran células de carcinoma epiteloide cervical humano Como medio de cultivo se utilizó MEM (medio esencial mínimo de Eagle) con 5% de suero bovino fetal (SBF) y 0.1% de NaHCO₃

El medio de prueba antiviral para los tres tipos de virus fue MEM con 5% de SBF 0.1% de NHCO₃, 50 µg de gentamicina/ml y MgCl₂ 10 mM

30

La mayor concentración utilizada para la prueba de los compuestos del presente invento fue de 2000 µg/ml El virus se añadió a la placa de prueba aproximadamente 5 minutos después de añadirse el compuesto También se incluyeron los controles apropiados Las placas de prueba se incubaron con aire humidificado y 5% de CO₂ a

35 37 C La citotoxicidad fue vigilada en las células de control microscópicamente,

buscando cambios morfológicos. El análisis de regresión de los datos del efecto citopático del virus y los datos de control de la toxicidad dieron los valores de DE50 (dosis eficaz en un 50%) y la CC50 (concentración citotóxica en un 50%). El índice de selectividad (IS) se calculó usando la fórmula $IS = CC50 + DE50$

5

b Determinación de la actividad antiviral *in vitro* de compuestos contra dengue, Banzú y fiebre amarilla (prueba de inhibición del efecto citopático)

Los detalles de la prueba son proporcionados en la referencia citada de Sidwell y Huffman

10

Virus

El virus del dengue tipo 2 cepa de Nueva Guinea, se obtuvo del Centro para el Control de Enfermedades. Para el cultivo del virus y para llevar a cabo la prueba antiviral (MA 104) se usaron dos líneas de células de riñón de mono verde africano (Vero). Tanto el virus de la fiebre amarilla, cepa 17D, preparado a partir de cerebro de ratón infectado, como el virus Banzú cepa H 336 aislado del suero de un niño febril en Sur África, se obtuvieron de ATCC. Las células Vero se usaron con ambos de estos virus y para la prueba

15

Células y medios de cultivo

20

Las células MA 104 (BioWhittaker Inc Walkersville, MD) y las Vero (ATCC) se usaron en medio de cultivo 199 con 5% de SBF y 0.1% de NaHCO_3 y sin antibióticos.

El medio de prueba para los virus de dengue, fiebre amarilla y Banzú fue MEM 2% de SBF 0.18% de NaHCO_3 y 50 μg de gentamicina/ml.

25

Las pruebas antivirales de los compuestos del presente invento se llevaron a cabo de acuerdo con lo indicado en la referencia citada de Sidwell y Huffman y fueron similares a las pruebas antivirales para rinovirus mencionadas antes. Se lograron lecturas adecuadas del efecto citopático (CPE) después de 5 a 6 días para cada uno de estos virus.

30

c Determinación de la actividad antiviral *in vitro* de los compuestos contra el virus del Nilo occidental (Prueba de inhibición del efecto citopático)

Los detalles de la prueba son proporcionados en la referencia citada de Sidwell y Huffman mencionada antes. El virus del Nilo occidental, un cultivo obtenido en

35

Nueva York, derivado de cerebro de cuervo, se obtuvo del Centro para el Control de Enfermedades Las células Vero se cultivaron y usaron como se describió antes El medio de prueba fue MEM 1% de SBF 0,1% de NaHCO₃ y 50 µg de gentamicina/ml

5

La prueba antiviral de los compuestos del presente invento se llevó a cabo siguiendo los métodos de Sidwell y Huffman que son similares a los usados para examinar la actividad del rinovirus Se obtuvieron lecturas adecuadas del efecto citopático (CPE) al cabo de 5 a 6 días

10

d Determinación de la actividad antiviral *in vitro* de compuestos contra los rinovirus, los virus de la fiebre amarilla, del dengue, Banzú y del Nilo occidental (prueba de captación roja neutra)

Después de realizar las pruebas de inhibición del efecto citopático mencionadas antes se usó un método adicional del efecto citopático, que se describe en Microtiter Assay for Interferon Microspectrophotometric Quantitation of Cytopathic Effect [Prueba de microtítulo para interferón Determinación cuantitativa microespectrofotométrica del efecto citopático] Appl. Environ. Microbiol., 31 35 38 (1976) Para la lectura de la placa de prueba se usó un lector de microplaca A Modelo EL309 (Bio-Tek Instruments Inc) Los valores de DE50 y DC50 se calcularon como antes

EJEMPLO DE UNA FORMULACIÓN FARMACÉUTICA

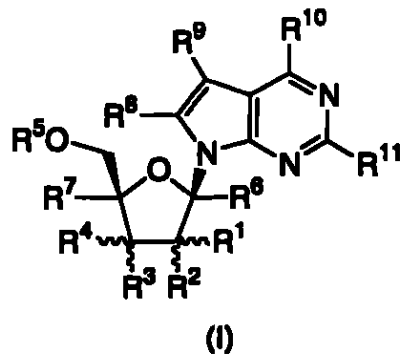
Como una realización específica de una composición oral de un compuesto del presente invento, se formulan 50 mg del compuesto del Ejemplo 1 con suficiente lactosa dividida finamente para proporcionar una cantidad total de 580 a 590 mg de modo de llenar una cápsula de gelatina dura de tamaño O

Aunque el invento ha sido descrito e ilustrado haciendo referencia a sus realizaciones específicas las personas versadas en el arte apreciarán que se pueden efectuar varios cambios modificaciones y sustituciones a las mismas sin apartarse del espíritu y alcance del invento Por ejemplo, pueden aplicarse posologías eficaces diferentes a las dosis preferidas indicadas antes en este documento, como consecuencia de variaciones en la respuesta del ser humano tratado debido a la severidad de la infección por el VHC Del mismo modo la respuesta farmacológica

- observada puede variar de acuerdo y dependiendo del compuesto activo particularmente seleccionado o de si están presentes agentes portadores farmacéuticos así como del tipo de fórmula y modalidad de administración empleados y tales variaciones o diferencias previstas en los resultados están contempladas dentro de los
- 5 objetivos y las prácticas del presente invento Por consiguiente se intenta que el invento esté limitado solamente por el alcance de las reivindicaciones siguientes y que tales reivindicaciones sean interpretadas tan ampliamente como sea razonable

LO QUE SE REIVINDICA ES

1 Un compuesto de la fórmula estructural I

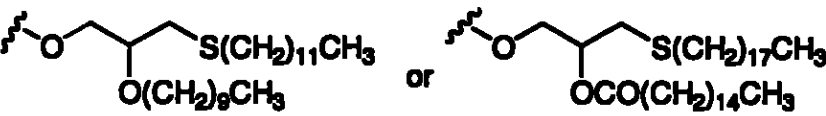


(I)

- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo
donde R¹ es C₂₋₄ alquenilo, C₂₋₄ alquínilo o C₁₋₄ alquilo, donde el alquilo es
insustituido o sustituido con hidroxí amino, C₁₋₄ alcoxi C₁₋₄ alquiltío o uno a tres
átomos de flúor
R² es hidrógeno, flúor hidroxí mercapto, C₁₋₄ alcoxi o C₁₋₄ alquilo o R¹ y R²
10 conjuntamente con el átomo de carbono al que se conjugan forman un sistema de
anillo monocíclico saturado de 3 a 6 miembros que optativamente contiene un
heteroátomo seleccionado a partir de O S y NC₀₋₄ alquilo
R³ y R⁴ se seleccionan independientemente a partir del grupo que comprende
hidrógeno, ciano azido halógeno, hidroxí, mercapto, amino C₁₋₄ alcoxi C₂₋₄
15 alquenilo C₂₋₄ alquínilo y C₁₋₄ alquilo, donde alquilo es insustituido o sustituido
con hidroxí amino C₁₋₄ alcoxi C₁₋₄ alquiltío o uno a tres átomos de flúor
R⁵ es hidrógeno, C₁₋₁₀ alquilcarbonilo, P₃O₉H₄, P₂O₆H₃ o P(O)R¹³R¹⁴
R⁶ y R⁷ son cada uno independientemente hidrógeno, metilo hidroximetilo o
fluorometilo
20 R⁸ es hidrógeno C₁₋₄ alquilo, C₂₋₄ alquínilo, halógeno, ciano, carboxí C₁₋₄
alquiloalcoxi, azido, amino, C₁₋₄ alquilamino, di(C₁₋₄ alquil)amino, hidroxí
C₁₋₆ alcoxi C₁₋₆ alquiltío, C₁₋₆ alquilsulfonilo (C₁₋₄ alquilo)₀₋₂ aminometilo o
C₄₋₆ cicloheteroalquilo, insustituido o sustituido con uno a dos grupos seleccionados
independientemente a partir de halógeno hidroxí amino, C₁₋₄ alquilo y C₁₋₄ alcoxi
25 R⁹ es hidrógeno, ciano, nitro, C₁₋₃ alquilo, NHCONH₂, CONR¹²R¹² CSNR¹²R¹²
COOR¹² C(=NH)NH₂ hidroxí C₁₋₃ alcoxi amino C₁₋₄ alquilamino, di(C₁₋₄

65

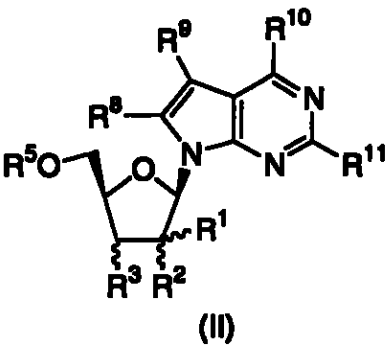
- alquil)amino, halógeno (1,3-oxazol-2-ilo) (1,3-tiazol-2-ilo) o (imidazol-2-ilo) donde el alquilo es insustituido o sustituido con uno a tres grupos seleccionados independientemente a partir de halógeno, amino, hidroxilo, carboxilo y C₁₋₃ alcoxilo. R¹⁰ y R¹¹ son cada uno, independientemente, hidrógeno, hidroxilo, halógeno, C₁₋₄ alcoxilo, amino, C₁₋₄ alquilamino, di(C₁₋₄ alquil)amino, C₃₋₆ cicloalquilamino, di(C₃₋₆ cicloalquil)amino o C₄₋₆ cicloheteroalquilo, insustituido o sustituido con uno a dos grupos seleccionados independientemente a partir de halógeno, hidroxilo, amino, C₁₋₄ alquilo y C₁₋₄ alcoxilo. cada R¹² es independientemente hidrógeno o C₁₋₆ alquilo y
- 10 R¹³ y R¹⁴ son cada uno, independientemente hidroxilo, OCH₂CH₂SC(=O)C₁₋₄ alquilo, OCH₂O(C=O)OC₁₋₄ alquilo, NHCHMeCO₂Me, OCH(C₁₋₄ alquil)O(C=O)C₁₋₄ alquilo



- siempre que cuando R¹ es β-metilo y R⁴ es hidrógeno o R⁴ es β-metilo y R¹ es hidrógeno, R² y R³ son α hidroxilo. R¹⁰ es amino y R⁵, R⁶, R⁷, R⁸ y R¹¹ son hidrógeno entonces R⁹ no es ciano ni CONH₂.
- 15

2 El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 de la fórmula estructural II

20



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde

- R^1 es C_{1-3} alquilo, donde alquilo es optativamente sustituido con hidroxilo, amino, C_{1-3} alcoxi, C_{1-3} alquiltio o uno a tres átomos de flúor
 R^2 es hidroxilo, flúor o C_{1-4} alcoxi
 R^3 es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino o C_{1-4} alcoxi
5 R^5 es hidrógeno, $P_3O_9H_4$, $P_2O_6H_3$ o PO_3H_2
 R^8 es hidrógeno, amino o C_{1-4} alquilamino
 R_9 es hidrógeno, ciano, metilo, halógeno o $CONH_2$ y
 R^{10} y R^{11} son cada uno, independientemente, hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, C_{1-4} alquilamino, di(C_{1-4} alquil)amino o C_{3-6} cicloalquilamino
10 siempre que, cuando R^1 es β -metilo, R^2 y R^3 son α -hidroxilo, R^{10} es amino y R^5 , R^8 y R^{11} son hidrógeno, entonces R^9 no es ciano ni $CONH_2$

3 El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, donde

- R^1 es metilo, fluorometilo, hidroximetilo, difluorometilo, trifluorometilo o
15 aminometilo
 R^2 es hidroxilo, flúor o metoxilo
 R^3 es hidrógeno, flúor, hidroxilo, amino o metoxilo
 R^5 es hidrógeno o $P_3O_9H_4$
 R^8 es hidrógeno o amino
20 R^9 es hidrógeno, ciano, metilo, halógeno o $CONH_2$ y
 R^{10} y R^{11} son cada uno, independientemente, hidrógeno, flúor, hidroxilo o amino
siempre que, cuando R^1 es β -metilo, R^2 y R^3 son α -hidroxilo, R^{10} es amino y R^5 , R^8 y R^{11} son hidrógeno, entonces R^9 no es ciano ni $CONH_2$

4 El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado

- a partir del grupo que comprende
4-amino-7-(2-C metil β -D-arabinofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina,
4-amino-7-(2-C metil β -D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina
4-metilamino-7-(2-C metil β -D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina
30 4-dimetilamino-7-(2-C metil β -D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina
4-ciclopropilamino-7-(2-C metil β -D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina,
4-amino-7-(2-C vinil β -D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina,
4-Amino-7-(2-C hidroximetil β -D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina
4-amino-7-(2-C fluorometil β -D-ribofuranosil)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina,

- 4-amino-5 metil 7 (2 C metil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina,
 Acido 4 amino-7 (2 C metil β -D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina 5
 carboxílico
- 4-amino-5 bromo-7-(2 C metil- β -D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina
- 5 4-amino-5-cloro-7-(2-C metil β -D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina
 4-amino-5 flúor 7 (2 C metil β -D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina
 2,4-diamino-7 (2 C metil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina,
 2-amino-7 (2 C metil β -D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina,
 2-amino-4-ciclopropilamino-7 (2 C metil β -D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-
 10 d]pirimidina,
 2-amino-7 (2-C metil β -D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina-4(3H)-ona,
 4-amino-7 (2 C-etil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina
 4-amino-7 (2-C 2-O-dimetil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina
 7 (2 C metil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina-4(3H)-ona,
 15 2-amino-5 metil 7 (2 C 2 O-dimetil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina-
 4(3H)-ona
 4-amino-7 (3-desoxi 2 C metil β -D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina,
 4-amino-7 (3-desoxi 2 C metil β -D-arabinofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina,
 4-amino-2 flúor 7 (2-C metil β -D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina,
 20 2,4-diamino-7 (2-C metil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina,
 4-amino-7 (3 C metil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina
 4-amino-7 (3 C metil β -D-xilofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina,
 4-amino-7 (2,4-di C metil β -D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina y
 4-amino-7 (3-desoxi 3 flúor 2 C metil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-
 25 d]pirimidina
 y los 5 trifosfatos correspondientes
 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 5 El compuesto de acuerdo con la reivindicación 4 seleccionado
- 30 a partir del grupo que comprende
 4-amino-7 (2 C metil β -D-arabinofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina
 4-amino-7-(2-C metil β -D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina
 4-amino-7 (2 C fluorometil β -D-ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-d]pirimidina,
 4-amino-5 metil 7 (2 C metil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-d]pirimidina,

4-amino-5 bromo-7-(2-C metil β D ribofuranosil) 7H pirrol[2,3-*d*]pirimidina,
 4-amino-5-cloro-7-(2-C metil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina
 4-amino-5 flúor 7 (2 C metil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina
 y

- 5 4-amino-7 (2 C,2 O-dimetil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-*d*]pirimidina
 y los 5 trifosfatos correspondientes
 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos

- 6 El compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 que es
 10 4-amino-7-(2-C metil β -D-arabinofuranosil)-7H pirrol[2,3-*d*]pirimidina, o una sal
 farmacéuticamente aceptable del mismo

- 7 El compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 que es
 4-amino-7 (2 C metil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina o una sal
 15 farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 8 El compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 que es 4-
 amino-7-(2-C fluorometil β -D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-*d*]pirimidina, o una sal
 farmacéuticamente aceptable del mismo
 20

- 9 El compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 que es 4-
 amino-5-cloro-7 (2-C metil β D-ribofuranosil)-7H pirrol[2,3-*d*]pirimidina o una sal
 farmacéuticamente aceptable del mismo

- 10 El compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 que es 4-
 amino-5 bromo-7-(2 C metil β -D-ribofuranosil) 7H pirrol[2 3-*d*]pirimidina o una sal
 farmacéuticamente aceptable del mismo
 25

- 11 Una composición farmacéutica que comprende un compuesto
 30 de acuerdo con la reivindicación 1 y un agente portador farmacéuticamente aceptable

- 12 La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación
 11 que es útil para inhibir la polimerasa de ARN viral dependiente del ARN inhibir la

replicación de ARN dependiente del ARN y/o tratar la infección viral de ARN dependiente del ARN

5 13 La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 12 donde dicha polimerasa de ARN viral dependiente del ARN es polimerasa NS5B del VHC dicha replicación del ARN viral dependiente del ARN es replicación del VHC y dicha infección viral de ARN dependiente del ARN es infección por el VHC

10 14 Un método para inhibir la polimerasa de ARN viral dependiente del ARN y/o inhibir la replicación del ARN viral dependiente del ARN que comprende administrar a un mamífero que necesita tal inhibición, una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1

15 15 El método de acuerdo con la reivindicación 14 donde dicha polimerasa de ARN viral dependiente del ARN es polimerasa NS5B del VHC y dicha replicación del ARN viral dependiente del ARN es replicación viral del VHC

20 16 Un método para tratar la infección viral por ARN dependiente del ARN que comprende administrar a un mamífero que necesita dicho tratamiento, una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1

 17 El método de acuerdo con la reivindicación 16 donde dicha infección viral por ARN dependiente del ARN es infección por el VHC

25 18 El método de acuerdo con la reivindicación 17 en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de otro agente con actividad contra el VHC

30 19 El método de acuerdo con la reivindicación 18 donde dicho agente con actividad contra el VHC es ribavirina levovirina timosín alfa 1 un inhibidor de la proteasa serínica NS3 un inhibidor de la deshidrogenasa de monofosfato inosínico interferón- α o interferón- α pegilado, por sí solo o en combinación con ribavirina o levovirina

20 El método de acuerdo con la reivindicación 19 donde dicho agente con actividad contra el VHC es interferón- α o interferón- α pegilado por sí solo o en combinación con ribavirina

5 21 El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 para la inhibición de la polimerasa de ARN viral dependiente del ARN o la inhibición de la replicación del ARN viral dependiente del ARN en un mamífero

10 22 El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 para el tratamiento de la infección viral por ARN dependiente del ARN en un mamífero

15 23 El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 22 donde dicha infección viral por ARN dependiente de ARN es la infección por hepatitis C

20 24 El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en la fabricación de un medicamento para la inhibición de la polimerasa de ARN viral dependiente de ARN o la inhibición de la replicación del ARN viral dependiente del ARN en un mamífero.

25 25 El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la infección viral por ARN dependiente del ARN en un mamífero.

26 26 El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 25 donde dicha infección viral por ARN dependiente del ARN es la infección por hepatitis C

**REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT**

PATENTE DE INVENCION [X]

MODELO DE UTILIDAD []

- ♦ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [X] 1
- ♦ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [X] 1
- ♦ Descripción de la invención [X] 25
- ♦ Dibujos de ser estos pertinentes []
- ♦ Comprobante de pago de las tasas establecidas [X] 2

COMPLETA [X]

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 y 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 se 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 trazado []
- ♦ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Eduval Navarro
Firma Responsable

Fecha 17-06-2003

Carrera 13 No 27-00 Piso 5 7 y 10
Conmutador 3 82 08 40
Fax. 350 52 20
E-mail info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá D C Colombia