O.F. 06-122667

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PCT

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

06-122667

SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCIÓN

TITULO: NUCLEÓSIDOS DE 3-β-D-RIBOFURANOSILTIAZOLO[4,5-*d*]PIRIDIMINA Y USOS DE LOS MISMOS

SOLICITANTE: ANADYS PHARMACEUTICALS, INC.

DIRECCIÓN: 3115 Merryfield Row, San Diego, CA 92121, E.U.A.

CLASIFICACION INTERNACIONAL: A61K31/7052 // A61P37/02

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 5 de diciembre de 2006

P2006/000242

SS

OLARTERAISBECK

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-122667- -00000-0000
Fec: 2006-12-05 17:11:01 Dep: 2020 NUEVAS CREACIONES
Tra: 11 PATENTES II
Cla: 378 FASE NACIONAL
Act 411 PRESENTACION Folios: 364

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

(1) [X] Patente de Invención. [ ] Patente de Modelo de Utilidad.

[X] Capítulo I. [ ] Capítulo II.

(2) **SOLICITANTE (71)**	**Nombre:** ANADYS PHARMACEUTICALS, INC. **Dirección:** 3115 Merryfield Row, San Diego, CA 92121, E.U.A. **Nacionalidad o Domicilio:** Estadounidense **Lugar de Constitución:** Estados Unidos de América **Teléfono:** _____ **Fax:** _____ **E-mail:** _____	**IDENTIFICACIÓN** C.C. [ ] NIT [ ] C.E. [ ] Otro [ ] Cual _____ Número _____
REPRESENTANTE O APODERADO	**Nombre:** CARLOS R. OLARTE **Dirección:** World Trade Center Torre A, Calle 100 No. 8A-37 Piso 10 **Teléfono:** 601-7700 **Fax:** 601-7799 **E-mail:** office@olarteraisbeck.com	**IDENTIFICACIÓN** C.C. [X] NIT [ ] C.E. [ ] Otro [ ] Cual _____ Número 79.782.747Bta TP 74.295
INVENTOR (ES) (72)	**Nombre:** VER PAGINA ADJUNTA **Dirección:** VER PAGINA ADJUNTA **Nacionalidad o Domicilio:** VER PAGINA ADJUNTA	

(3) **PCT (86)**

Solicitud Internacional No. PCT/US2004/018011 Fecha Junio 7, 2004

Publicación Internacional No. WO 2005/121162 Fecha Diciembre 22, 2005

(5) **Título (54)** NUCLEÓSIDOS DE 3-β-D-RIBOFURANOSILTIAZOLO[4,5-*d*]PIRIDIMINA Y USOS DE LOS MISMOS

Clasificación Internacional (51) C07H 19/24, A61K 31/7052, A61P 37/02.

Prioridad SI [X] N [ ]

(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
US	Junio 7, 2004	PCT/US2004/018011

(9) **Comprobante de pago No.** 06 – 91.053 **Fecha** Noviembre 28, 2006

(10) **ANEX S**

- [x] Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- [ ] Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- [ ] Poderes, si fuere el caso.
- [ ] Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- [ ] Declaraciones.
- [x] Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- [x] Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- [ ] 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.
- [ ] De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- [ ] Arte final 12 x 12.
- [ ] De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- [ ] De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- [x] Otros. Búsqueda Internacional

(11) **FIGURA CARACTERÍSTICA:**

(12) Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE FIRMA:

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

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

LISTA DE INVENTORES PCT /US2004/018011

1. DEVRON R. AVERETT
2529 Newport Avenue,
Cardiff By the Sea, CA 92007
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

2. STEPHEN E. WEBBER
3531 Millikin Avenue,
San Diego, CA 92122
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

3. JOSEPH R. LENNOX
2212 Crol View Drive, Apt. 315,
Cardiff By the Sea, CA 92007
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

4. ERIK J. RUEDEN
9249 Carlton Oaks Drive,
Santee, CA 92071
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

5. DAVID LOUIS CLARK
11742 Carmel Creek Road, Apt. No 304
San Diego, CA 91230
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

6. ALAN X. XIANG
556 Sauterne Place,
Chula Vista, CA 91913
Estados Unidos de América
Nacionalidad: China

4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-122667- -00000-0000
Fec: 2006-12-05 17:11:01 Dep: 2020 NUEVE RACIONES
Tra: 11 PATENTEIYR
Eye: 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios: 364

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 91,053
FECHA : NOVIEMBRE 28 DE 2006

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
OLARTE RAISBEGR	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	56710009	27/11/2006	3,704,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	463,000.00
		TOTAL : $	463,000.00

SON: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
22 December 2005 (22.12.2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/121162 A1

(51) International Patent Classification[7]: C07H 19/24, A61K 31/7052, A61P 37/02

(21) International Application Number: PCT/US2004/018011

(22) International Filing Date: 7 June 2004 (07.06.2004)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: ANADYS PHARMACEUTICALS, INC. [US/US]; 3115 Merryfield Row, San Diego, CA 92121 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: AVERETT, Devron, R. [US/US]; 2529 Newport Avenue, Cardiff By The Sea, CA 92007 (US). WEBBER, Stephen, E. [US/US]; 3531 Millikin Avenue, San Diego, CA 92122 (US). LENNOX, Joseph, R. [US/US]; 2212 Crol View Drive, Apt.315, Cardiff By The Sea, CA 92007 (US). RUEDEN, Erik, J. [US/US]; 9249 Carlton Oaks Drive, Santee, CA 92071 (US). CLARK, David, Louis [US/US]; 11742 Carmel Creek Road, Apt. No. 304, San Diego, CA 91230 (US). XIANG, Alan, X. [CN/US]; 556 Santerne Place, Chula Vista, CA 91913 (US).

(74) Agents: PINO, Mark, J. et al.; Connolly Bove Lodge & Hutz LLP, 1990 M Street, N.W., Suite 800, Washington, DC 20036-3425 (US).

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

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *with international search report*

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

WO 2005/121162 A1

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

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

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

This application is being filed as a PCT international patent application in the names of Devron R. Averett, Stephen E. Webber, Joseph R. Lennox, Erik J. Rueden, and David L. Clark, all citizens and residents of the U.S., on 7 June 2004.

FIELD OF THE INVENTION

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

BACKGROUND OF THE INVENTION

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

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

antiviral activity against certain DNA and RNA viruses. Revankar et al., *J. Med. Chem.*, 27, 1489-96 (1984). Certain 7- and 9-deazaguanine C-nucleosides exhibit the ability to protect against a lethal challenge of Semliki Forest virus. Girgis et al., *J. Med. Chem.*, 33, 2750-55 (1990). Selected 6-sulfenamide and 6-sulfinamide purine nucleosides are disclosed in U.S. Patent No. 4,328,336 to Robins et al. as having demonstrated significant antitumor activity.

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

One possible target of immunomodulation involves stimulation or suppression of Th1 and Th2 lymphokines. Type 1 (Th1) cells produce interleukin 2 (IL-2), tumor necrosis factor (TNFα) and interferon gamma (IFNγ) and they are responsible primarily for cell-mediated immunity such as delayed type hypersensitivity and antiviral immunity. Type 2 (Th2) cells produce interleukins, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, and IL-13 and are primarily involved in assisting humoral immune responses such as those seen in response to allergens. *See, e.g.*, Mosmann, *Annu. Rev. Immunol*, 7, 145-73 (1989). D-guanosine analogs have been shown to elicit various effects on lymphokines IL-1, IL-6, INFα and TNFα (indirectly) *in vitro* (Goodman, *Int. J. Immunopharmacol*, 10, 579-88 (1988); U.S. Patent No. 4,746,651 to Goodman) and *in vivo* (Smee et al., *Antiviral Res.*, 15, 229 (1991); Smee et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33, 1487-92 (1989)). However, the ability of the D-guanosine analogs such as 7- thio-8-oxoguanosine to modulate

Type 1 or Type 2 cytokines directly in T cells was ineffective or had not been described.

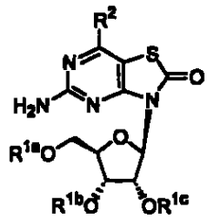
Moreover, it is known that the oral administration of many purine nucleoside analogs are subject to difficulties arising from poor absorption, poor solubility, or degradation in the digestive tract as a result of acidic or alkaline conditions or the action of enzymes, and/or combinations of these phenomena.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

SUMMARY OF THE INVENTION

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

In another embodiment, the present invention encompasses a method of treating or preventing a hepatitis C virus infection in a patient in need thereof comprising administering to the patient a therapeutically or prophylactically effective amount of a 3-ß-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyridimine nucleoside.

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



I

wherein:

R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} are independently H, $-C(O)R^3$, a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CH_2NHR^4$, $-C(O)CH(C_{1-6}$ alkyl$)NHR^4$, or R^{1b} and R^{1c} are collectively –C(O)-, which together with the oxygen atoms forms a five-membered carbonate ring;

R^2 is H, OR^5, or $N(R^6)_2$;

R^3 is a C_{1-18} alkyl;

R^4 is H, $-C(O)CH(C_{1-6}$ alkyl$)NH_2$, or $-C(O)CH(CH_2$-aryl$)NH_2$;

R^5 is independently H, C_{1-6} alkyl, C_{3-7} alkenyl, C_{3-7} alkynyl, $-(CR^7R^8)_t(C_6-C_{10}$ aryl), $-(CR^7R^8)_t(C_3-C_{10}$ cycloalkyl), $-(CR^7R^8)_t(C_4-C_{10}$ heterocyclic), $-(CR^7R^8)_{t>1}OH$, $-(CR^7R^8)_{t>0}CO_2C_{1-18}$ alkyl, and $-(CR^7R^8)_{t>0}N(R^9)CO_2C_{1-18}$ alkyl, and SO_2(aryl), wherein t is an integer from 0 to 6 unless otherwise indicated, and wherein the alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, cycloalkyl, and heterocyclic moieties of the foregoing groups are optionally substituted with substituents independently selected from halo, cyano, nitro, trifluoromethyl, trifluoromethoxy, C_1-C_6 alkyl, C_2-C_6 alkenyl, C_2-C_6 alkynyl, hydroxy, C_1-C_6 alkoxy, $-NH_2$, -NH-alkyl, $-N(alkyl)_2$, -NH-aryl, -N(alkyl)(aryl), $-N(aryl)_2$, -NHCHO, -NHC(O)alkyl, -NHC(O)aryl, -N(alkyl)C(O)H, -N(alkyl)C(O)alkyl, -N(aryl)C(O)H, -N(aryl)C(O)alkyl, $-NHCO_2$alkyl, $-N(alkyl)CO_2$alkyl, $-NHC(O)NH_2$, $-N(alkyl)C(O)NH_2$, -NHC(O)NH-alkyl, -NHC(O) $N(alkyl)_2$, -N(alkyl)C(O)NH-alkyl, N(alkyl)C(O) $N(alkyl)_2$, $-NHSO_2$-alkyl, $-N(alkyl)SO_2$-alkyl, -C(O)alkyl, -C(O)aryl, -OC(O)alkyl, -OC(O)aryl, $-CO_2$-alkyl, $-CO_2$-aryl, $-CO_2H$, $-C(O)NH_2$, -C(O)NH-alkyl, $-C(O)N(alkyl)_2$, -C(O)NH-aryl, $-C(O)N(aryl)_2$, -C(O)N(alkyl)(aryl), -S(O)alkyl, -S(O)aryl, $-SO_2$alkyl, $-SO_2$aryl, $-SO_2NH_2$, $-SO_2$NH-alkyl, and $-SO_2N(alkyl)_2$;

R^6 is independently H, C_{1-6} alkyl, C_3-C_{10} cycloalkyl, or together with nitrogen forms a 5- or 6-membered heterocyclic ring;

R^7 and R^8 are independently H, C_{1-6} alkyl, C_{2-6} alkenyl, or C_{2-6} alkynyl; and

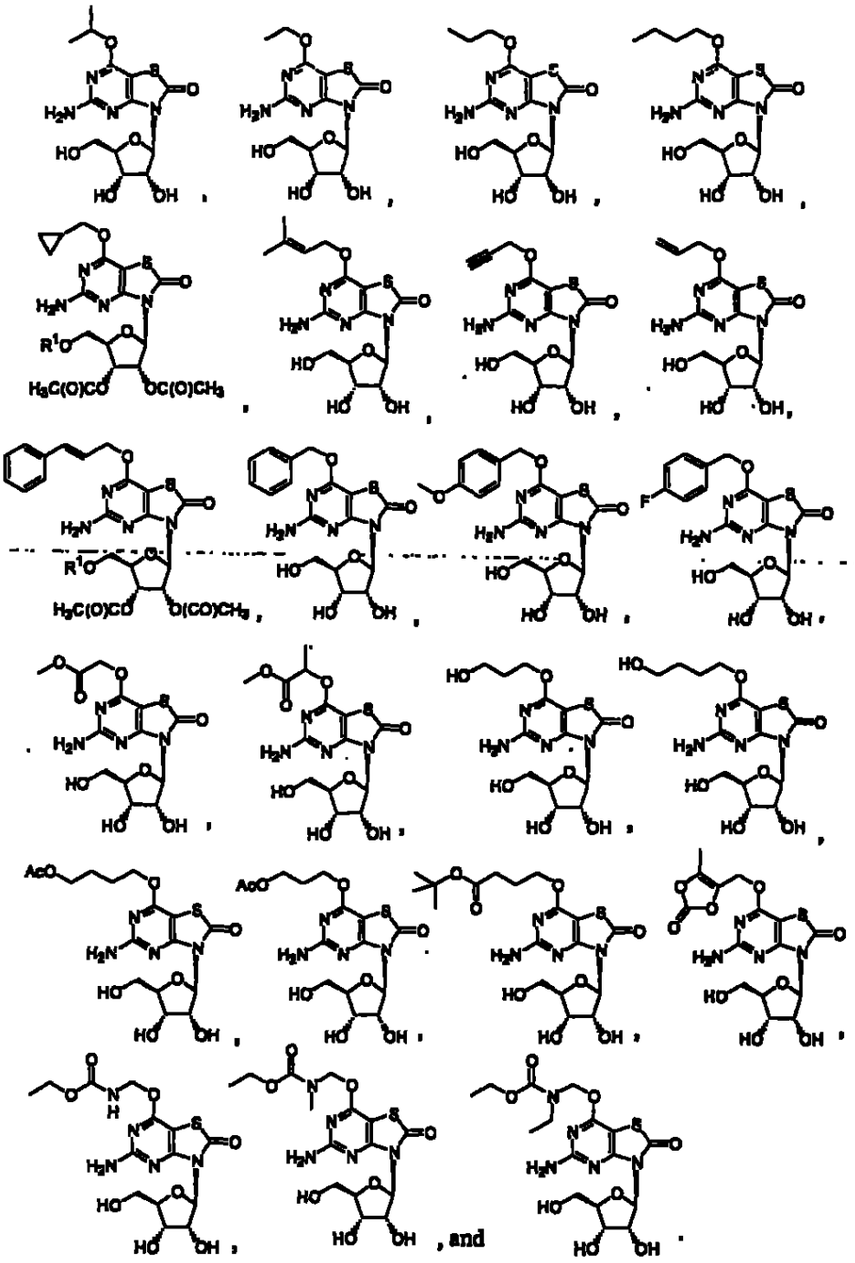
R^9 is H, C_{1-6} alkyl, or $-CH_2$-aryl;

In one embodiment, the invention relates to compounds of the Formula I, wherein R^2 is H or OR^5, provided that R^5 is not $-CH_3$, and further provided that at least one of R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} is not H when R^2 is H.

In another embodiment, the invention relates to compounds of the Formula I wherein R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} are independently H, $-C(O)R^3$, a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CH(C_{1-6}$ alkyl$)NH_2$; R^2 is OR^5; R^3 is a C_{1-18} alkyl; R^5 is independently C_{1-6} alkyl, C_{3-7} alkenyl, C_{3-7} alkynyl, $-(CR^7R^8)_t(C_6-C_{10}$ aryl), $-(CR^7R^8)_t(C_4-C_{10}$ heterocyclic), and $-(CR^7R^8)_{t>0}N(R^9)CO_2C_{1-18}$ alkyl, wherein t is an integer from 0 to 4 unless otherwise indicated, and wherein the alkyl, alkenyl, aryl, and heterocyclic moieties of the foregoing groups are optionally substituted with 1

to 3 substituents independently selected from halo, cyano, nitro, trifluoromethyl, trifluoromethoxy, C_1-C_6 alkyl, C_2-C_6 alkenyl, C_2-C_6 alkynyl, hydroxy, C_1-C_6 alkoxy, -CO_2-alkyl, -CO_2-aryl, -OC(O)alkyl, and -OC(O)aryl; R^7 and R^8 are independently H, C_{1-6} alkyl, or C_{2-6} alkenyl; and R^9 is H, $-CH_3$, or $-CH_2CH_3$.

In another preferred embodiment of the invention, compounds of the invention are selected from:



In another embodiment, the invention relates to compounds of the Formula I, wherein R^2 is H, wherein at least one of R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} is not H.

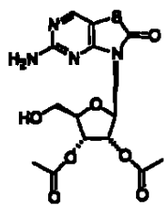
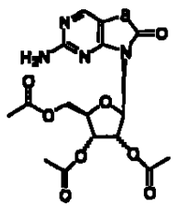
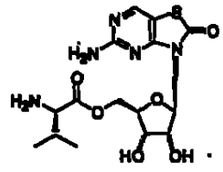
In another embodiment, the invention relates to compounds of the Formula I wherein R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} are independently H, $-C(O)R^3$, a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CH(C_{1-6}\ alkyl)NH_2$; R^2 is H; and R^3 is a C_{1-18} alkyl, wherein at least one of R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} is not H.

In another embodiment, the invention relates to compounds of the Formula I wherein R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} are independently H, $-C(O)R^3$, a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CH(CH(CH_3)_2)NH_2$; R^2 is H; and R^3 is CH_3, wherein at least one of R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} is not H.

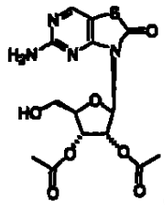
In another embodiment, the invention relates to compounds of the Formula I, wherein R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} are independently H or $-C(O)R^3$, wherein R^2 is H; and R^3 is CH_3, wherein at least one of R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} is not H.

In another embodiment, the invention relates to compounds of the Formula I, wherein R^{1a} is H and R^{1b} and R^{1c} are $-C(O)R^3$; R^2 is H, and R^3 is CH_3.

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



, and


In yet another embodiment, a compound of the invention is



The invention is also directed to pharmaceutically acceptable prodrugs, pharmaceutically active metabolites, pharmaceutically acceptable salts, and pharmaceutically acceptable solvates of the compounds, prodrugs, or metabolites of Formula I. Advantageous methods of making the compounds of Formula I are also described.

13

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

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

In another aspect of the invention, Formula I compounds are utilized to treat bacterial, fungal, and protozoal infections in mammals by administering to the mammal a therapeutically effective amount of the compounds. The full range of pathogenic microorganisms is contemplated to be treatable by the

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

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

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

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

In another aspect, the invention encompasses a method for treating or preventing hepatitis C virus infection in a mammal in need thereof, preferably in a human in need thereof.

In another aspect, the invention encompasses a method for treating or preventing hepatitis C virus infection in a patient in need thereof, comprising administering to the patient a therapeutically or prophylactically effective amount of a compound of Formula I and a pharmaceutically acceptable excipient, carrier, or vehicle.

In a another aspect, the invention encompasses a method for treating or preventing hepatitis C virus infection in a patient in need thereof, comprising administering to the patient a therapeutically or prophylactically effective amount of a compound of Formula I and an additional therapeutic agent, preferably an additional antiviral agent.

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

BRIEF DESCRIPTION OF THE FIGURES

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

Figure 2 is a graphical depiction of viral load changes in HCV infected patients receiving isatoribine (1).

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION AND PREFERRED EMBODIMENTS

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

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

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

The term "purine" refers to nitrogenous bicyclic heterocycles.

The term "pyrimidine" refers to nitrogenous monocyclic heterocycles.

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

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

The term "alkyl", as used herein, unless otherwise indicated, includes saturated monovalent hydrocarbon radicals having straight, branched, or cyclic moieties (including fused and bridged bicyclic and spirocyclic moieties), or a combination of the foregoing moieties. For an alkyl group to have cyclic moieties, the group must have at least three carbon atoms.

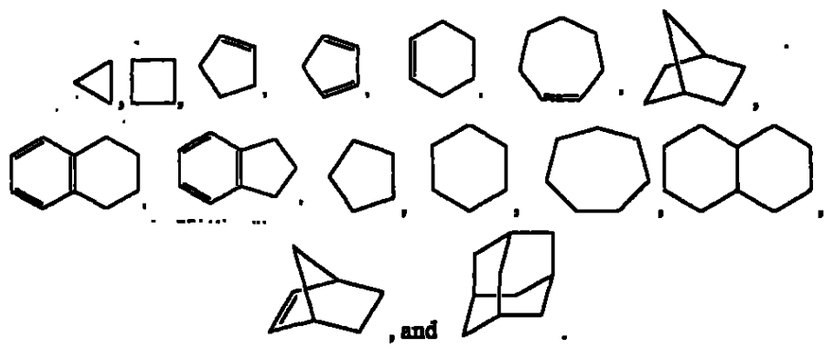
The term "alkenyl", as used herein, unless otherwise indicated, includes alkyl moieties having at least one carbon-carbon double bond wherein alkyl is as defined above and including E and Z isomers of said alkenyl moiety.

The term "alkynyl", as used herein, unless otherwise indicated, includes alkyl moieties having at least one carbon-carbon triple bond wherein alkyl is as defined above.

The term "alkoxy", as used herein, unless otherwise indicated, includes O-alkyl groups wherein alkyl is as defined above.

The term "Me" means methyl, "Et" means ethyl, and "Ac" means acetyl.

The term "cycloalkyl", as used herein, unless otherwise indicated refers to a non-aromatic, saturated or partially saturated, monocyclic or fused, spiro or unfused bicyclic or tricyclic hydrocarbon referred to herein containing a total of from 3 to 10 carbon atoms, preferably 5-8 ring carbon atoms. Exemplary cycloalkyls include monocyclic rings having from 3-7, preferably 3-6, carbon atoms, such as cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl and the like. Illustrative examples of cycloalkyl are derived from, but not limited to, the following:

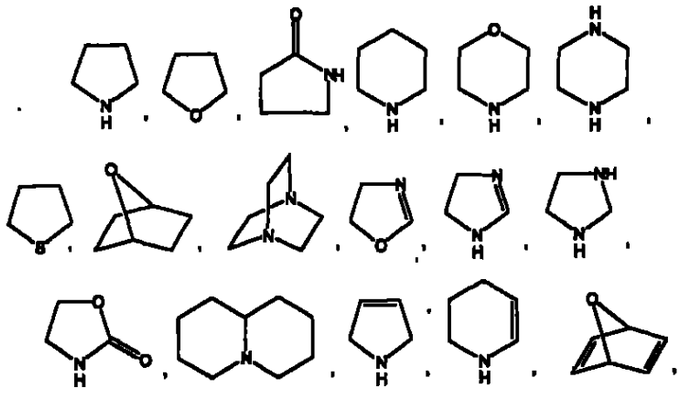


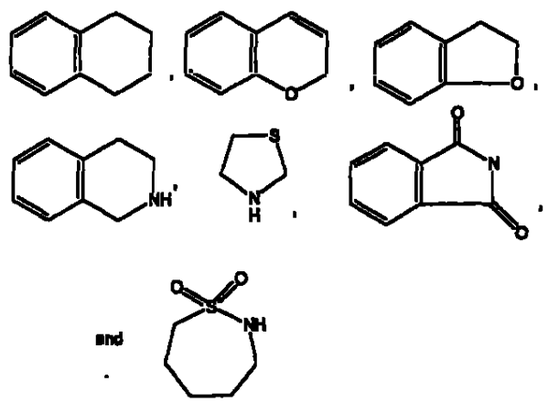
, and

The term "aryl", as used herein, unless otherwise indicated, includes an organic radical derived from an aromatic hydrocarbon by removal of one hydrogen, such as phenyl or naphthyl.

The term "4-10 membered heterocyclic", as used herein, unless otherwise indicated, includes aromatic and non-aromatic heterocyclic groups containing one to four heteroatoms each selected from O, S and N, wherein each heterocyclic group has from 4-10 atoms in its ring system, and with the proviso that the ring of said group does not contain two adjacent O or S atoms. Non-aromatic heterocyclic groups include groups having only 4 atoms in their ring system, but aromatic heterocyclic groups must have at least 5 atoms in their ring system. The heterocyclic groups include benzo-fused ring systems. An example of a 4 membered heterocyclic group is azetidinyl (derived from azetidine). An example of a 5 membered heterocyclic group is thiazolyl and an example of a 10 membered heterocyclic group is quinolinyl. Examples of non-aromatic heterocyclic groups are pyrrolidinyl, tetrahydrofuranyl, dihydrofuranyl, tetrahydrothienyl, tetrahydropyranyl, dihydropyranyl, tetrahydrothiopyranyl, piperidino, morpholino, thiomorpholino, thioxanyl, piperazinyl, azetidinyl, oxetanyl, thietanyl, homopiperidinyl, oxepanyl, thiepanyl,

oxazepinyl, diazepinyl, thiazepinyl, 1,2,3,6-tetrahydropyridinyl, 2-pyrrolinyl, 3-pyrrolinyl, indolinyl, 2H-pyranyl, 4H-pyranyl, dioxanyl, 1,3-dioxolanyl, pyrazolinyl, dithianyl, dithiolanyl, dihydropyranyl, dihydrothienyl, dihydrofuranyl, pyrazolidinyl, imidazolinyl, imidazolidinyl, 3-azabicyclo[3.1.0]hexanyl, 3-azabicyclo[4.1.0]heptanyl, 3H-indolyl and quinolizinyl. Examples of aromatic heterocyclic groups are pyridinyl, imidazolyl, pyrimidinyl, pyrazolyl, triazolyl, pyrazinyl, tetrazolyl, furyl, thienyl, isoxazolyl, thiazolyl, oxazolyl, isothiazolyl, pyrrolyl, quinolinyl, isoquinolinyl, indolyl, benzimidazolyl, benzofuranyl, cinnolinyl, indazolyl, indolizinyl, phthalazinyl, pyridazinyl, triazinyl, isoindolyl, pteridinyl, purinyl, oxadiazolyl, thiadiazolyl, furazanyl, benzofurazanyl, benzothiophenyl, benzothiazolyl, benzoxazolyl, quinazolinyl, quinoxalinyl, naphthyridinyl, and furopyridinyl. The foregoing groups, as derived from the groups listed above, may be C-attached or N-attached where such is possible. For instance, a group derived from pyrrole may be pyrrol-1-yl (N-attached) or pyrrol-3-yl (C-attached). Further, a group derived from imidazole may be imidazol-1-yl (N-attached) or imidazol-3-yl (C-attached). The 4-10 membered heterocyclic may be optionally substituted on any ring carbon, sulfur, or nitrogen atom(s) by one to two oxo, per ring. An example of a heterocyclic group wherein 2 ring carbon atoms are substituted with oxo moieties is 1,1-dioxo-thiomorpholinyl. Other illustrative examples of 4-10 membered heterocyclic are derived from, but not limited to, the following:





In the compounds of Formula I where terms such as $(CR^7R^8)_t$ are used, R^7 and R^8 may vary with each iteration of t above 1. For instance, where t is 2 the term $(CR^7R^8)_t$ may equal $-CH_2CH_2-$, or $-CH(CH_3)C(CH_2CH_3)(CH_2CH_2CH_3)-$, or any number of similar moieties falling within the scope of the definitions of R^7 and R^8.

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

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

The term "patient" or "subject" means an animal (*e.g.*, cow, horse, sheep, pig, chicken, turkey, quail, cat, dog, mouse, rat, rabbit, guinea pig, etc.) or a mammal, including chimeric and transgenic animals and mammals. In the treatment or prevention of HCV infection, the term "patient" or "subject" preferably means a monkey or a human, most preferably a human. In a specific embodiment the patient or subject is infected by or exposed to the hepatitis C virus. In certain embodiments, the patient is a human infant (age 0-2), child (age 2-17), adolescent (age 12-17), adult (age 18 and up) or geriatric (age 70 and up) patient. In addition, the patient includes immunocompromised patients such as HIV positive patients, cancer patients, patients undergoing immunotherapy or chemotherapy. In a particular embodiment, the patient is a healthy individual, i.e., not displaying symptoms of other viral infections.

The term a "therapeutically effective amount" refers to an amount of the compound of the invention sufficient to provide a benefit in the treatment or prevention of viral disease, to delay or minimize symptoms associated with viral infection or viral-induced disease, or to cure or ameliorate the disease or infection or cause thereof. In particular, a therapeutically effective amount means an amount sufficient to provide a therapeutic benefit *in vivo*. Used in connection with an amount of a compound of the invention, the term preferably encompasses a non-toxic amount that improves overall therapy, reduces or avoids symptoms or causes of disease, or enhances the therapeutic efficacy of or synergies with another therapeutic agent.

The term a "prophylactically effective amount" refers to an amount of a compound of the invention or other active ingredient sufficient to result in the prevention of infection, recurrence or spread of viral infection. A prophylactically effective amount may refer to an amount sufficient to prevent initial infection or the recurrence or spread of the infection or a disease associated with the infection. Used in connection with an amount of a compound of the invention, the term preferably encompasses a non-toxic amount that improves overall prophylaxis or enhances the prophylactic efficacy of or synergies with another prophylactic or therapeutic agent.

The term "in combination" refers to the use of more than one prophylactic and/or therapeutic agents simultaneously or sequentially and in a manner that their respective effects are additive or synergistic.

The term "treating" refers to:

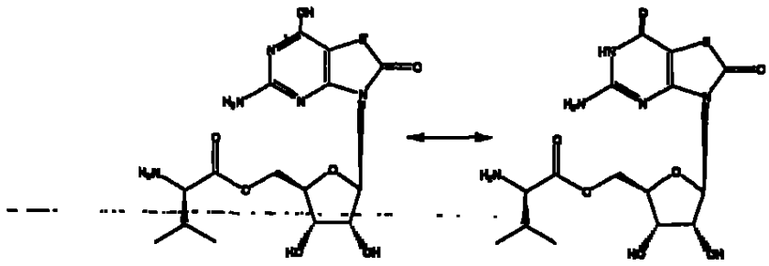
(i) preventing a disease, disorder, or condition from occurring in an animal that may be predisposed to the disease, disorder and/or condition, but has not yet been diagnosed as having it;

(ii) inhibiting the disease, disorder, or condition, i.e., arresting its development; and

(iii) relieving the disease, disorder, or condition, i.e., causing regression of the disease, disorder, and/or condition.

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

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



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

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

Additionally, the Formula I is intended to cover solvated as well as unsolvated forms of the identified structures. For example, Formula I includes compounds of the indicated structure in both hydrated and non-hydrated forms.

Other examples of solvates include the structures in combination with isopropanol, ethanol, methanol, DMSO, ethyl acetate, acetic acid, or ethanolamine.

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

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

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

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

A feature characteristic of many of these transformations is that the metabolic products, or "metabolites," are more polar than the parent drugs, although a polar drug does sometime yield a less polar product. Substances with high lipid/water partition coefficients, which pass easily across membranes, also diffuse back readily from tubular urine through the renal tubular cells into the plasma. Thus, such substances tend to have a low renal clearance and a long persistence in the body. If a drug is metabolized to a more polar compound, one with a lower partition coefficient, its tubular reabsorption will be greatly reduced. Moreover, the specific secretory mechanisms for anions and cations in the proximal renal tubules and in the parenchymal liver cells operate upon highly polar substances.

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

"A pharmaceutically acceptable salt" is intended to mean a salt that retains the biological effectiveness of the free acids and bases of the specified compound and that is not biologically or otherwise undesirable. A compound of the invention may possess a sufficiently acidic, a sufficiently basic, or both functional groups, and accordingly react with any of a number of inorganic or organic bases, and inorganic and organic acids, to form a pharmaceutically acceptable salt. Exemplary pharmaceutically acceptable salts include those salts prepared by reaction of the compounds of the present invention with a mineral or organic acid or an inorganic base, such as salts including sulfates, pyrosulfates, bisulfates, sulfites, bisulfites,

phosphates, monohydrogenphosphates, dihydrogenphosphates, metaphosphates, pyrophosphates, chlorides, bromides, iodides, acetates, propionates, decanoates, caprylates, acrylates, formates, isobutyrates, caproates, heptanoates, propiolates, oxalates, malonates, succinates, suberates, sebacates, fumarates, maleates, butyne-1,4-dioates, hexyne-1,6-dioates, benzoates, chlorobenzoates, methylbenzoates, dinitrobenzoates, hydroxybenzoates, methoxybenzoates, phthalates, sulfonates, xylenesulfonates, phenylacetates, phenylpropionates, phenylbutyrates, citrates, lactates, γ-hydroxybutyrates, glycolates, tartrates, methane-sulfonates, propanesulfonates, naphthalene-1-sulfonates, naphthalene-2-sulfonates, and mandelates.

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

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

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

specified formulas.

METHODS OF TREATMENT AND PREVENTION OF HEPATITIS C VIRAL INFECTIONS

The present invention provides methods for treating or preventing a hepatitis C virus infection in a patient in need thereof.

The present invention further provides methods for introducing a therapeutically effective amount of the Formula I compound or combination of such compounds into the blood stream of a patient in the treatment and/or prevention of hepatitis C viral infections.

The magnitude of a prophylactic or therapeutic dose of a Formula I compound of the invention or a pharmaceutically acceptable salt, solvate, or hydrate, thereof in the acute or chronic treatment or prevention of an infection will vary, however, with the nature and severity of the infection, and the route by which the active ingredient is administered. The dose, and in some cases the dose frequency, will also vary according to the infection to be treated, the age, body weight, and response of the individual patient. Suitable dosing regimens can be readily selected by those skilled in the art with due consideration of such factors.

The methods of the present invention are particularly well suited for human patients. In particular, the methods and doses of the present invention can be useful for immunocompromised patients including, but not limited to cancer patients, HIV infected patients, and patients with an immunodegenerative disease. Furthermore, the methods can be useful for immunocompromised patients currently in a state of remission. The methods and doses of the present invention are also useful for patients undergoing other antiviral treatments. The prevention methods of the present invention are particularly useful for patients at risk of viral infection. These patients include, but are not limited to health care workers, e.g., doctors, nurses, hospice care givers; military personnel; teachers; childcare workers; patients traveling to, or living in, foreign locales, in particular third world locales including social aid workers, missionaries, and foreign diplomats. Finally, the methods and compositions include the treatment of refractory patients or patients resistant to treatment such as resistance to reverse transcriptase inhibitors, protease inhibitors, etc.

Doses

Toxicity and efficacy of the compounds of the invention can be determined by standard pharmaceutical procedures in cell cultures or experimental animals, e.g., for determining the LD_{50} (the dose lethal to 50% of the population) and the ED_{50} (the dose therapeutically effective in 50% of the population). The dose ratio between toxic and therapeutic effects is the therapeutic index and it can be expressed as the ratio LD_{50}/ED_{50}.

The data obtained from the cell culture assays and animal studies can be used in formulating a range of dosage of the compounds for use in humans. The dosage of such compounds lie preferably within a range of circulating concentrations that include the ED_{50} with little or no toxicity. The dosage may vary within this range depending upon the dosage form employed and the route of administration utilized. For any compound used in the method of the invention, the therapeutically effective dose can be estimated initially from cell culture assays. A dose may be formulated in animal models to achieve a circulating plasma concentration range that includes the IC_{50} (*i.e.*, the concentration of the test compound that achieves a half-maximal inhibition of symptoms) as determined in cell culture; alternatively, the dose of the Formula I compound may be formulated in animal models to achieve a circulating plasma concentration range of the compound that corresponds to the concentration required to achieve a fixed magnitude of response. Such information can be used to more accurately determine useful doses in humans. Levels in plasma may be measured, for example, by high performance liquid chromatography.

The protocols and compositions of the invention are preferably tested *in vitro*, and then *in vivo*, for the desired therapeutic or prophylactic activity, prior to use in humans. For example, *in vitro* assays which can be used to determine whether administration of a specific therapeutic protocol is indicated, include *in vitro* cell culture assays in which cells that are responsive to the effects of the Formula I compounds are exposed to the ligand and the magnitude of response is measured by an appropriate technique. The assessment of the Formula I compound is then evaluated with respect to the Formula I compound potency, and the degree of conversion of the Formula I compound prodrug. Compounds for use in methods of the invention can be tested in suitable animal model systems prior to testing in humans, including but not limited to in rats, mice, chicken, cows, monkeys, rabbits, hamsters, etc. The compounds can then be used in the appropriate clinical trials.

The magnitude of a prophylactic or therapeutic dose of a prodrug of a Formula I compound of the invention or a pharmaceutically acceptable salt, solvate, or hydrate thereof in the acute or chronic treatment or prevention of an infection or condition will vary with the nature and severity of the infection, and the route by which the active ingredient is administered. The dose, and perhaps the dose frequency, will also vary according to the infection to be treated, the age, body weight, and response of the individual patient. Suitable dosing regimens can be readily selected by those skilled in the art with due consideration of such factors. In one embodiment, the dose administered depends upon the specific compound to be used, and the weight and condition of the patient. Also, the dose may differ for various particular Formula I compounds; suitable doses can be predicted on the basis of the aforementioned *in vitro* measurements, in particular by use of such measurements of isatoribine (1) to which the Formula I compound is related, and on the basis of animal studies, such that smaller doses will be suitable for those Formula I compounds that show effectiveness at lower concentrations than other Formula I compounds when measured in the systems described or referenced herein. In general, the dose per day is in the range of from about 0.001 to 100 mg/kg, preferably about 1 to 25 mg/kg, more preferably about 5 to 15 mg/kg. For treatment of humans infected by hepatitis C viruses, about 0.1 mg to about 15 g per day is administered in about one to four divisions a day, preferably 100 mg to 12 g per day, more preferably from 100 mg to 8000 mg per day.

In a preferred embodiment for compounds such as prodrugs of 3-β-D-ribofuranosythiazolo[4,5-d]pyrimidines from 200 mg to 8000 mg per day is administered in about one to four divisions a day. Additionally, the recommended daily dose ran can be administered in cycles as single agents or in combination with other therapeutic agents. In one embodiment, the daily dose is administered in a single dose or in equally divided doses. In a related embodiment, the recommended daily dose can be administered once time per week, two times per week, three times per week, four times per week or five times per week.

In a preferred embodiment, the compounds of the invention are administered to provide systemic distribution of the compound within the patient. In a related embodiment, the compounds of the invention are administered to produce a systemic effect in the body.

In a another embodiment the compounds of the invention are administered via oral, mucosal (including sublingual, buccal, rectal, nasal, or vaginal), parenteral (including subcutaneous, intramuscular, bolus injection, intraarterial, or intravenous), transdermal, or topical administration. In a specific embodiment the compounds of the invention are administered via mucosal (including sublingual, buccal, rectal, nasal, or vaginal), parenteral (including subcutaneous, intramuscular, bolus injection, intraarterial, or intravenous), transdermal, or topical administration. In a further specific embodiment, the compounds of the invention are administered via oral administration. In a further specific embodiment, the compounds of the invention are not administered via oral administration.

Different therapeutically effective amounts may be applicable for different infections, as will be readily known by those of ordinary skill in the art. Similarly, amounts sufficient to treat or prevent such infections, but insufficient to cause, or sufficient to reduce, adverse effects associated with conventional therapies are also encompassed by the above described dosage amounts and dose frequency schedules.

Combination Therapy

Specific methods of the invention further comprise the administration of an additional therapeutic agent (*i.e.*, a therapeutic agent other than a compound of the invention). In certain embodiments of the present invention, the compounds of the invention can be used in combination with at least one other therapeutic agent. Therapeutic agents include, but are not limited to antibiotics, antiemetic agents, antidepressants, and antifungal agents, anti-inflammatory agents, antiviral agents, anticancer agents, immunomodulatory agents, β-interferons, alkylating agents, hormones or cytokines. In a preferred embodiment the invention encompasses the administration of an additional therapeutic agent that is HCV specific or demonstrates anti-HCV activity.

The Formula I compounds of the invention can be administered or formulated in combination with antibiotics. For example, they can be formulated with a macrolide (*e.g.*, tobramycin (Tobi®)), a cephalosporin (*e.g.*, cephalexin (Keflex®), cephradine (Velosef®), cefuroxime (Ceftin®), cefprozil (Cefzil®), cefaclor (Ceclor®), cefixime (Suprax®) or cefadroxil (Duricef®)), a clarithromycin (*e.g.*, clarithromycin (Biaxin®)), an erythromycin (*e.g.*, erythromycin (EMycin®)), a penicillin (*e.g.*, penicillin V (V-Cillin K® or Pen Vee K®)) or a quinolone (*e.g.*, ofloxacin (Floxin®), ciprofloxacin (Cipro®) or norfloxacin

30
29

(Noroxin®)),aminoglycoside antibiotics (*e.g.*, apramycin, arbekacin, bambermycins, butirosin, dibekacin, neomycin, neomycin, undecylenate, netilmicin, paromomycin, ribostamycin, sisomicin, and spectinomycin), amphenicol antibiotics (*e.g.*, azidamfenicol, chloramphenicol, florfenicol, and thiamphenicol), ansamycin antibiotics (*e.g.*, rifamide and rifampin), carbacephems (*e.g.*, loracarbef), carbapenems (*e.g.*, biapenem and imipenem), cephalosporins (*e.g.*, cefaclor, cefadroxil, cefamandole, cefatrizine, cefazedone, cefozopran, cefpimizole, cefpiramide, and cefpirome), cephamycins (*e.g.*, cefbuperazone, cefmetazole, and cefminox), monobactams (*e.g.*, aztreonam, carumonam, and tigemonam), oxacephems (*e.g.*, flomoxef, and moxalactam), penicillins (*e.g.*, amdinocillin, amdinocillin pivoxil, amoxicillin, bacampicillin, benzylpenicillinic acid, benzylpenicillin sodium, epicillin, fenbenicillin, floxacillin, penamccillin, penethamate hydriodide, penicillin o-benethamine, penicillin 0, penicillin V, penicillin V benzathine, penicillin V hydrabamine, penimepicycline, and phencihicillin potassium), lincosamides (*e.g.*, clindamycin, and lincomycin), amphomycin, bacitracin, capreomycin, colistin, enduracidin, enviomycin, tetracyclines (*e.g.*, apicycline, chlortetracycline, clomocycline, and demeclocycline), 2,4-diaminopyrimidines (*e.g.*, brodimoprim), nitrofurans (*e.g.*, furaltadone, and furazolium chloride), quinolones and analogs thereof (*e.g.*, cinoxacin,, clinafloxacin, flumequine, and grepagloxacin), sulfonamides (*e.g.*, acetyl sulfamethoxypyrazine, benzylsulfamide, noprylsulfamide, phthalylsulfacetamide, sulfachrysoidine, and sulfacytine), sulfones (*e.g.*, diathymosulfone, glucosulfone sodium, and solasulfone), cycloserine, mupirocin and tuberin.

The Formula I compounds of the invention can also be administered or formulated in combination with an antiemetic agent. Suitable antiemetic agents include, but are not limited to, metoclopromide, domperidone, prochlorperazine, promethazine, chlorpromazine, trimethobenzamide, ondansetron, granisetron, hydroxyzine, acethylleucine monoethanolamine, alizapride, azasetron, benzquinamide, bietanautine, bromopride, buclizine, clebopride, cyclizine, dimenhydrinate, diphenidol, dolasetron, meclizine, methallatal, metopimazine, nabilone, oxypemdyl, piparnazine, scopolamine, sulpiride, tetrahydrocannabinols, thiethylperazine, thioproperazine, tropisetron, and mixtures thereof.

The Formula I compounds of the invention can be administered or formulated in combination with an antidepressant. Suitable antidepressants include,

but are not limited to, binedaline, caroxazone, citalopram, dimethazan, fencamine, indalpine, indeloxazine hydrocholoride, nefopam, nomifensine, oxitriptan, oxypertine, paroxetine, sertraline, thiazesim, trazodone, benmoxine, iproclozide, iproniazid, isocarboxazid, nialamide, octamoxin, phenelzine, cotinine, rolicyprine, rolipram, maprotiline, metralindole, mianserin, mirtazepine, adinazolam, amitriptyline, amitriptylinoxide, amoxapine, butriptyline, clomipramine, demexiptiline, desipramine, dibenzepin, dimetacrine, dothiepin, doxepin, fluacizine, imipramine, imipramine N-oxide, iprindole, lofepramine, melitracen, metapramine, nortriptyline, noxiptilin, opipramol, pizotyline, propizepine, protriptyline, quinupramine, tianeptine, trimipramine, adrafinil, benactyzine, bupropion, butacetin, dioxadrol, duloxetine, etoperidone, febarbamate, femoxetine, fenpentadiol, fluoxetine, fluvoxamine, hematoporphyrin, hypericin, levophacetoperane, medifoxamine, milnacipran, minaprine, moclobemide, nefazodone, oxaflozane, piberaline, prolintane, pyrisuccideanol, ritanserin, roxindole, rubidium chloride, sulpiride, tandospirone, thozalinone, tofenacin, toloxatone, tranylcypromine, L-tryptophan, venlafaxine, viloxazine, and zimeldine.

The Formula I compound s of the invention can be administered or formulated in combination with an antifungal agent. Suitable antifungal agents include but are not limited to amphotericin B, itraconazole, ketoconazole, fluconazole, intrathecal, flucytosine, miconazole, butoconazole, clotrimazole, nystatin, terconazole, tioconazole, ciclopirox, econazole, haloprogrin, naftifine, terbinafine, undecylenate, and griseofuldin.

The Formula I compounds of the invention can be administered or formulated in combination with an anti-inflammatory agent. Useful anti-inflammatory agents include, but are not limited to, non-steroidal anti-inflammatory drugs such as salicylic acid, acetylsalicylic acid, methyl salicylate, diflunisal, salsalate, olsalazine, sulfasalazine, acetaminophen, indomethacin, sulindac, etodolac, mefenamic acid, meclofenamate sodium, tolmetin, ketorolac, dichlofenac, ibuprofen, naproxen, naproxen sodium, fenoprofen, ketoprofen, flurbinprofen, oxaprozin, piroxicam, meloxicam, ampiroxicam, droxicam, pivoxicam, tenoxicam, nabumetome, phenylbutazone, oxyphenbutazone, antipyrine, aminopyrine, spazone and nimesulide; leukotriene antagonists including, but not limited to, zileuton, aurothioglucose, gold sodium thiomalate and auranofin; steroids including, but not limited to, alclometasone diproprionate, amcinonide, beclomethasone dipropionate,

betametasone, betamethasone benzoate, betamethasone diproprionate, betamethasone sodium phosphate, betamethasone valerate, clobetasol proprionate, clocortolone pivalate, hydrocortisone, hydrocortisone derivatives, desonide, desoximatasone, dexamethasone, flunisolide, flucoxinolide, flurandrenolide, halcinocide, medrysone, methylprednisolone, methprednisolone acetate, methylprednisolone sodium succinate, mometasone furoate, paramethasone acetate, prednisolone, prednisolone acetate, prednisolone sodium phosphate, prednisolone tebuatate, prednisone, triamcinolone, triamcinolone acetonide, triamcinolone diacetate, and triamcinolone hexacetonide; and other anti-inflammatory agents including, but not limited to, methotrexate, colchicine, allopurinol, probenecid, sulfinpyrazone and benzbromarone.

The Formula I compounds of the invention can be administered or formulated in combination with another antiviral agent. Useful antiviral agents include, but are not limited to, protease inhibitors, nucleoside reverse transcriptase inhibitors, non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors and nucleoside analogs. The antiviral agents include but are not limited to zidovudine, acyclovir, gangcyclovir, vidarabine, idoxuridine, trifluridine, levovirin, viramidine and ribavirin, as well as foscarnet, amantadine, rimantadine, saquinavir, indinavir, amprenavir, lopinavir, ritonavir, the alpha-interferons; beta-interferons; adefovir, clevadine, entecavir, pleconaril.

The Formula I compound of the invention can be administered or formulated in combination with an immunomodulatory agent. Immunomodulatory agents include, but are not limited to, methothrexate, leflunomide, cyclophosphamide, cyclosporine A, mycophenolate mofetil, rapamycin (sirolimus), mizoribine, deoxyspergualin, brequinar, malononitriloamindes (*e.g.*, leflunamide), T cell receptor modulators, and cytokine receptor modulators, peptide mimetics, and antibodies (*e.g.*, human, humanized, chimeric, monoclonal, polyclonal, Fvs, ScFvs, Fab or F(ab)2 fragments or epitope binding fragments), nucleic acid molecules (*e.g.*, antisense nucleic acid molecules and triple helices), small molecules, organic compounds, and inorganic compounds. Examples of T cell receptor modulators include, but are not limited to, anti-T cell receptor antibodies (*e.g.*, anti-CD4 antibodies (*e.g.*, cM-T412 (Boeringer), IDEC-CE9.1® (IDEC and SKB), mAB 4162W94, Orthoclone and OKTcdr4a (Janssen-Cilag)), anti-CD3 antibodies (*e.g.*, Nuvion (Product Design Labs), OKT3 (Johnson & Johnson), or Rituxan (IDEC)),

anti-CD5 antibodies (*e.g.*, an anti-CD5 ricin-linked immunoconjugate), anti-CD7 antibodies (*e.g.*, CHH-380 (Novartis)), anti-CD8 antibodies, anti-CD40 ligand monoclonal antibodies (*e.g.*, IDEC-131 (IDEC)), anti-CD52 antibodies (*e.g.*, CAMPATH 1H (Ilex)), anti-CD2 antibodies, anti-CD11a antibodies (*e.g.*, Xanelim (Genentech)), and anti-B7 antibodies (*e.g.*, IDEC-114 (IDEC)) and CTLA4-immunoglobulin. Examples of cytokine receptor modulators include, but are not limited to, soluble cytokine receptors (*e.g.*, the extracellular domain of a TNF-α receptor or a fragment thereof, the extracellular domain of an IL-1β receptor or a fragment thereof, and the extracellular domain of an IL-6 receptor or a fragment thereof), cytokines or fragments thereof (*e.g.*, interleukin (IL)-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-15, TNF-α, interferon (IFN)-α, IFN-β, IFN-γ, and GM-CSF), anti-cytokine receptor antibodies (*e.g.*, anti-IFN receptor antibodies, anti-IL-2 receptor antibodies (*e.g.*, Zenapax (Protein Design Labs)), anti-IL-4 receptor antibodies, anti-IL-6 receptor antibodies, anti-IL-10 receptor antibodies, and anti-IL-12 receptor antibodies), anti-cytokine antibodies (*e.g.*, anti-IFN antibodies, anti-TNF-α antibodies, anti-IL-1β antibodies, anti-IL-6 antibodies, anti-IL-8 antibodies (*e.g.*, ABX-IL-8 (Abgenix)), and anti-IL-12 antibodies).

The Formula I compounds of the invention can be administered or formulated in combination with an agent which inhibits viral enzymes, including but not limited to inhibitors of HCV protease, such as BILN 2061 and inhibitors of NS5b polymerase such as NM107 and its prodrug NM283 (Idenix Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA).

The Formula I compounds of the invention can be administered or formulated in combination with an agent which inhibits HCV polymerase such as those described in Wu, *Curr Drug Targets Infect Disord.* 2003;3(3):207-19 or in combination with compounds that inhibit the helicase function of the virus such as those described in Bretner M, *et al Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2003;22(5-8):1531, or with inhibitors of other HCV specific targets such as those described in Zhang X. *IDrugs.* 2002;5(2):154-8.

The Formula I compounds of the invention can be administered or formulated in combination with an agent which inhibits viral replication.

The Formula I compounds of the invention can be administered or formulated in combination with cytokines. Examples of cytokines include, but are not limited to, interleukin-2 (IL-2), interleukin-3 (IL-3), interleukin-4 (IL-4),

interleukin-5 (IL-5), interleukin-6 (IL-6), interleukin-7 (IL-7), interleukin-9 (IL-9), interleukin-10 (IL-10), interleukin-12 (IL-12), interleukin 15 (IL-15), interleukin 18 (IL-18), platelet derived growth factor (PDGF), erythropoietin (Epo), epidermal growth factor (EGF), fibroblast growth factor (FGF), granulocyte macrophage stimulating factor (GM-CSF), granulocyte colony stimulating factor (G-CSF), macrophage colony stimulating factor (M-CSF), prolactin, and interferon (IFN), *e.g.*, IFN-alpha, and IFN-gamma).

The Formula I compounds of the invention can be administered or formulated in combination with hormones. Examples of hormones include, but are not limited to, luteinizing hormone releasing hormone (LHRH), growth hormone (GH), growth hormone releasing hormone, ACTH, somatostatin, somatotropin, somatomedin, parathyroid hormone, hypothalamic releasing factors, insulin, glucagon, enkephalins, vasopressin, calcitonin, heparin, low molecular weight heparins, heparinoids, synthetic and natural opioids, insulin thyroid stimulating hormones, and endorphins.

The Formula I compounds of the invention can be administered or formulated in combination with β-interferons which include, but are not limited to, interferon beta-1a, interferon beta-1b.

The Formula I compounds of the invention can be administered or formulated in combination with α-interferons which include, but are not limited to, interferon alpha-1, interferon alpha-2a (roferon), interferon alpha-2b, intron, Peg-Intron, Pegasys, consensus interferon (infergen) and albuferon.

The Formula I compounds of the invention can be administered or formulated in combination with an absorption enhancer, particularly those which target the lymphatic system, including, but not limited to sodium glycocholate; sodium caprate; N-lauryl-β-D-maltopyranoside; EDTA; mixed micelle; and those reported in Muranishi *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, 7-1-33, which is hereby incorporated by reference in its entirety. Other known absorption enhancers can also be used. Thus, the invention also encompasses a pharmaceutical composition comprising one or more Formula I compounds of the invention and one or more absorption enhancers.

The Formula I compounds of the invention can be administered or formulated in combination with an alkylating agent. Examples of alkylating agents include, but are not limited to nitrogen mustards, ethylenimines, methylmelamines,

alkyl sulfonates, nitrosoureas, triazenes, mechlorethamine, cyclophosphamide, ifosfamide, melphalan, chlorambucil, hexamethylmelaine, thiotepa, busulfan, carmustine, streptozocin, dacarbazine and temozolomide.

The compounds of the invention and the other therapeutics agent can act additively or, more preferably, synergistically. In a preferred embodiment, a composition comprising a compound of the invention is administered concurrently with the administration of another therapeutic agent, which can be part of the same composition or in a different composition from that comprising the compounds of the invention. In another embodiment, a compound of the invention is administered prior to or subsequent to administration of another therapeutic agent. In a separate embodiment, a compound of the invention is administered to a patient who has not previously undergone or is not currently undergoing treatment with another therapeutic agent, particularly an antiviral agent.

In one embodiment, the methods of the invention comprise the administration of one or more Formula I compounds of the invention without an additional therapeutic agent.

PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS AND DOSAGE FORMS

Pharmaceutical compositions and single unit dosage forms comprising a Formula I compound of the invention, or a pharmaceutically acceptable salt, or hydrate thereof, are also encompassed by the invention. Individual dosage forms of the invention may be suitable for oral, mucosal (including sublingual, buccal, rectal, nasal, or vaginal), parenteral (including subcutaneous, intramuscular, bolus injection, intraarterial, or intravenous), transdermal, or topical administration. Pharmaceutical compositions and dosage forms of the invention typically also comprise one or more pharmaceutically acceptable excipients. Sterile dosage forms are also contemplated.

In an alternative embodiment, pharmaceutical composition encompassed by this embodiment includes a Formula I compound of the invention, or a pharmaceutically acceptable salt, or hydrate thereof, and at least one additional therapeutic agent. Examples of additional therapeutic agents include, but are not limited to, those listed above in section 5.2.2.

The composition, shape, and type of dosage forms of the invention will typically vary depending on their use. For example, a dosage form used in the acute treatment of a disease or a related disease may contain larger amounts of one or

more of the active ingredients it comprises than a dosage form used in the chronic treatment of the same disease. Similarly, a parenteral dosage form may contain smaller amounts of one or more of the active ingredients it comprises than an oral dosage form used to treat the same disease or disorder. These and other ways in which specific dosage forms encompassed by this invention will vary from one another will be readily apparent to those skilled in the art. *See, e.g., Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA (1990). Examples of dosage forms include, but are not limited to: tablets; caplets; capsules, such as soft elastic gelatin capsules; cachets; troches; lozenges; dispersions; suppositories; ointments; cataplasms (poultices); pastes; powders; dressings; creams; plasters; solutions; patches; aerosols (*e.g.*, nasal sprays or inhalers); gels; liquid dosage forms suitable for oral or mucosal administration to a patient, including suspensions (*e.g.*, aqueous or non-aqueous liquid suspensions, oil-in-water emulsions, or a water-in-oil liquid emulsions), solutions, and elixirs; liquid dosage forms suitable for parenteral administration to a patient; and sterile solids (*e.g.*, crystalline or amorphous solids) that can be reconstituted to provide liquid dosage forms suitable for parenteral administration to a patient.

Typical pharmaceutical compositions and dosage forms comprise one or more carriers, excipients or diluents. Suitable excipients are well known to those skilled in the art of pharmacy, and non-limiting examples of suitable excipients are provided herein. Whether a particular excipient is suitable for incorporation into a pharmaceutical composition or dosage form depends on a variety of factors well known in the art including, but not limited to, the way in which the dosage form will be administered to a patient. For example, oral dosage forms such as tablets may contain excipients not suited for use in parenteral dosage forms. The suitability of a particular excipient may also depend on the specific active ingredients in the dosage form.

This invention further encompasses anhydrous pharmaceutical compositions and dosage forms comprising active ingredients, since water can facilitate the degradation of some compounds. For example, the addition of water (*e.g.*, 5%) is widely accepted in the pharmaceutical arts as a means of simulating long-term storage in order to determine characteristics such as shelf-life or the stability of formulations over time. *See, e.g.*, Jens T. Carstensen, *Drug Stability: Principles & Practice*, 2d. Ed., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, pp. 379-80. In effect, water and

heat accelerate the decomposition of some compounds. Thus, the effect of water on a formulation can be of great significance since moisture and/or humidity are commonly encountered during manufacture, handling, packaging, storage, shipment, and use of formulations.

Anhydrous pharmaceutical compositions and dosage forms of the invention can be prepared using anhydrous or low moisture containing ingredients and low moisture or low humidity conditions.

An anhydrous pharmaceutical composition should be prepared and stored such that its anhydrous nature is maintained. Accordingly, anhydrous compositions are preferably packaged using materials known to prevent exposure to water such that they can be included in suitable formulary kits. Examples of suitable packaging include, but are not limited to, hermetically sealed foils, plastics, unit dose containers (*e.g.*, vials), blister packs, and strip packs.

The invention further encompasses pharmaceutical compositions and dosage forms that comprise one or more compounds that reduce the rate by which an active ingredient will decompose. Such compounds, which are referred to herein as "stabilizers," include, but are not limited to, antioxidants such as ascorbic acid, pH buffers, or salt buffers.

Like the amounts and types of excipients, the amounts and specific types of active ingredients in a dosage form may differ depending on factors such as, but not limited to, the route by which it is to be administered to patients. However, typical dosage forms of the invention comprise Formula I compounds of the invention, or a pharmaceutically acceptable salt or hydrate thereof comprise 0.1 mg to 1500 mg per unit to provide doses of about 0.01 to 200 mg/kg per day.

Oral Dosage Forms

Pharmaceutical compositions of the invention that are suitable for oral administration can be presented as discrete dosage forms, such as, but are not limited to, tablets (*e.g.*, chewable tablets), caplets, capsules, and liquids (*e.g.*, flavored syrups). Such dosage forms contain predetermined amounts of active ingredients, and may be prepared by methods of pharmacy well known to those skilled in the art. See generally, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA (1990).

Typical oral dosage forms of the invention are prepared by combining the active ingredient(s) in an intimate admixture with at least one excipient according to

conventional pharmaceutical compounding techniques. Excipients can take a wide variety of forms depending on the form of preparation desired for administration. For example, excipients suitable for use in oral liquid or aerosol dosage forms include, but are not limited to, water, glycols, oils, alcohols, flavoring agents, preservatives, and coloring agents. Examples of excipients suitable for use in solid oral dosage forms (*e.g.*, powders, tablets, capsules, and caplets) include, but are not limited to, starches, sugars, micro-crystalline cellulose, diluents, granulating agents, lubricants, binders, and disintegrating agents.

Because of their ease of administration, tablets and capsules represent the most advantageous oral dosage unit forms, in which case solid excipients are employed. If desired, tablets can be coated by standard aqueous or nonaqueous techniques. Such dosage forms can be prepared by any of the methods of pharmacy. In general, pharmaceutical compositions and dosage forms are prepared by uniformly and intimately admixing the active ingredients with liquid carriers, finely divided solid carriers, or both, and then shaping the product into the desired presentation if necessary.

For example, a tablet can be prepared by compression or molding. Compressed tablets can be prepared by compressing in a suitable machine the active ingredients in a free-flowing form such as powder or granules, optionally mixed with an excipient. Molded tablets can be made by molding in a suitable machine a mixture of the powdered compound moistened with an inert liquid diluent. Examples of excipients that can be used in oral dosage forms of the invention include, but are not limited to, *binders*, *fillers*, *disintegrants*, and *lubricants*. Binders suitable for use in pharmaceutical compositions and dosage forms include, but are not limited to, corn starch, potato starch, or other starches, gelatin, natural and synthetic gums such as acacia, sodium alginate, alginic acid, other alginates, powdered tragacanth, guar gum, cellulose and its derivatives (*e.g.*, ethyl cellulose, cellulose acetate, carboxymethyl cellulose calcium, sodium carboxymethyl cellulose), polyvinyl pyrrolidone, methyl cellulose, pre-gelatinized starch, hydroxypropyl methyl cellulose, (*e.g.*, Nos. 2208, 2906, 2910), microcrystalline cellulose, and mixtures thereof.

Examples of fillers suitable for use in the pharmaceutical compositions and dosage forms disclosed herein include, but are not limited to, talc, calcium carbonate (*e.g.*, granules or powder), microcrystalline cellulose, powdered cellulose, dextrates,

kaolin, mannitol, silicic acid, sorbitol, starch, pre-gelatinized starch, and mixtures thereof. The binder or filler in pharmaceutical compositions of the invention is typically present in from about 50 to about 99 weight percent of the pharmaceutical composition or dosage form.

Suitable forms of microcrystalline cellulose include, but are not limited to, the materials sold as AVICEL-PH-101, AVICEL-PH-103 AVICEL RC-581, AVICEL-PH-105 (available from FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, PA), and mixtures thereof. An specific binder is a mixture of microcrystalline cellulose and sodium carboxymethyl cellulose sold as AVICEL RC-581. Suitable anhydrous or low moisture excipients or additives include AVICEL-PH-103™ and Starch 1500 LM.

Disintegrants are used in the compositions of the invention to provide tablets that disintegrate when exposed to an aqueous environment. Tablets that contain too much disintegrant may disintegrate in storage, while those that contain too little may not disintegrate at a desired rate or under the desired conditions. Thus, a sufficient amount of disintegrant that is neither too much nor too little to detrimentally alter the release of the active ingredients should be used to form solid oral dosage forms of the invention. The amount of disintegrant used varies based upon the type of formulation, and is readily discernible to those of ordinary skill in the art. Typical pharmaceutical compositions comprise from about 0.5 to about 15 weight percent of disintegrant, specifically from about 1 to about 5 weight percent of disintegrant.

Disintegrants that can be used in pharmaceutical compositions and dosage forms of the invention include, but are not limited to, agar-agar, alginic acid, calcium carbonate, microcrystalline cellulose, croscarmellose sodium, crospovidone, polacrilin potassium, sodium starch glycolate, potato or tapioca starch, pre-gelatinized starch, other starches, clays, other algins, other celluloses, gums, and mixtures thereof.

Lubricants that can be used in pharmaceutical compositions and dosage forms of the invention include, but are not limited to, calcium stearate, magnesium stearate, mineral oil, light mineral oil, glycerin, sorbitol, mannitol, polyethylene glycol, other glycols, stearic acid, sodium lauryl sulfate, talc, hydrogenated vegetable oil (*e.g.*, peanut oil, cottonseed oil, sunflower oil, sesame oil, olive oil, corn oil, and soybean oil), zinc stearate, ethyl oleate, ethyl laureate, agar, and mixtures thereof. Additional lubricants include, for example, a syloid silica gel

(AEROSIL 200, manufactured by W.R. Grace Co. of Baltimore, MD), a coagulated aerosol of synthetic silica (marketed by Degussa Co. of Plano, TX), CAB-O-SIL (a pyrogenic silicon dioxide product sold by Cabot Co. of Boston, MA), and mixtures thereof. If used at all, lubricants are typically used in an amount of less than about 1 weight percent of the pharmaceutical compositions or dosage forms into which they are incorporated.

Delayed Release Dosage Forms

Active ingredients of the invention can be administered by controlled release means or by delivery devices that are well known to those of ordinary skill in the art. Examples include, but are not limited to, those described in U.S. Patent Nos.: 3,845,770; 3,916,899; 3,536,809; 3,598,123; and 4,008,719, 5,674,533, 5,059,595, 5,591,767, 5,120,548, 5,073,543, 5,639,476, 5,354,556, and 5,733,566, each of which is incorporated herein by reference. Such dosage forms can be used to provide slow or controlled-release of one or more active ingredients using, for example, hydropropylmethyl cellulose, other polymer matrices, gels, permeable membranes, osmotic systems, multilayer coatings, microparticles, liposomes, microspheres, or a combination thereof to provide the desired release profile in varying proportions. Suitable controlled-release formulations known to those of ordinary skill in the art, including those described herein, can be readily selected for use with the active ingredients of the invention. The invention thus encompasses single unit dosage forms suitable for oral administration such as, but not limited to, tablets, capsules, gelcaps, and caplets that are adapted for controlled-release.

All controlled-release pharmaceutical products have a common goal of improving drug therapy over that achieved by their non-controlled counterparts. Ideally, the use of an optimally designed controlled-release preparation in medical treatment is characterized by a minimum of drug substance being employed to cure or control the condition in a minimum amount of time. Advantages of controlled-release formulations include extended activity of the drug, reduced dosage frequency, and increased patient compliance. In addition, controlled-release formulations can be used to affect the time of onset of action or other characteristics, such as blood levels of the drug, and can thus affect the occurrence of side (*e.g.*, adverse) effects.

Most controlled-release formulations are designed to initially release an amount of drug (active ingredient) that promptly produces the desired therapeutic

effect, and gradually and continually release of other amounts of drug to maintain this level of therapeutic or prophylactic effect over an extended period of time. In order to maintain this constant level of drug in the body, the drug must be released from the dosage form at a rate that will replace the amount of drug being metabolized and excreted from the body. Controlled-release of an active ingredient can be stimulated by various conditions including, but not limited to, pH, temperature, enzymes, water, or other physiological conditions or compounds.

Parenteral Dosage Forms

Parenteral dosage forms can be administered to patients by various routes including, but not limited to, subcutaneous, intravenous (including bolus injection), intramuscular, and intraarterial. Because their administration typically bypasses patients' natural defenses against contaminants, parenteral dosage forms are preferably sterile or capable of being sterilized prior to administration to a patient. Examples of parenteral dosage forms include, but are not limited to, solutions ready for injection, dry and/or lyophylized products ready to be dissolved or suspended in a pharmaceutically acceptable vehicle for injection (reconstitutable powders), suspensions ready for injection, and emulsions.

Suitable vehicles that can be used to provide parenteral dosage forms of the invention are well known to those skilled in the art. Examples include, but are not limited to: Water for Injection USP; aqueous vehicles such as, but not limited to, Sodium Chloride Injection, Ringer's Injection, Dextrose Injection, Dextrose and Sodium Chloride Injection, and Lactated Ringer's Injection; water-miscible vehicles such as, but not limited to, ethyl alcohol, polyethylene glycol, and polypropylene glycol; and non-aqueous vehicles such as, but not limited to, corn oil, cottonseed oil, peanut oil, sesame oil, ethyl oleate, isopropyl myristate, and benzyl benzoate. Compounds that increase the solubility of one or more of the active ingredients disclosed herein can also be incorporated into the parenteral dosage forms of the invention.

Transdermal Dosage Forms

Transdermal dosage forms include "reservoir type" or "matrix type" patches, which can be applied to the skin and worn for a specific period of time to permit the penetration of a desired amount of active ingredients.

Suitable excipients (*e.g.*, carriers and diluents) and other materials that can be used to provide transdermal and topical dosage forms encompassed by this

invention are well known to those skilled in the pharmaceutical arts, and depend on the particular tissue to which a given pharmaceutical composition or dosage form will be applied. With that fact in mind, typical excipients include, but are not limited to, water, acetone, ethanol, ethylene glycol, propylene glycol, butane-1,3-diol, isopropyl myristate, isopropyl palmitate, mineral oil, and mixtures thereof. Depending on the specific tissue to be treated, additional components may be used prior to, in conjunction with, or subsequent to treatment with active ingredients of the invention. For example, penetration enhancers can be used to assist in delivering the active ingredients to the tissue. Suitable penetration enhancers include, but are not limited to: acetone; various alcohols such as ethanol, oleyl, and tetrahydrofuryl; alkyl sulfoxides such as dimethyl sulfoxide; dimethyl acetamide; dimethyl formamide; polyethylene glycol; pyrrolidones such as polyvinylpyrrolidone; Kollidon grades (Povidone, Polyvidone); urea; and various water-soluble or insoluble sugar esters such as Tween 80 (polysorbate 80) and Span 60 (sorbitan monostearate).

The pH of a pharmaceutical composition or dosage form, or of the tissue to which the pharmaceutical composition or dosage form is applied, may also be adjusted to improve delivery of one or more active ingredients. Similarly, the polarity of a solvent carrier, its ionic strength, or tonicity can be adjusted to improve delivery. Compounds such as stearates can also be added to pharmaceutical compositions or dosage forms to advantageously alter the hydrophilicity or lipophilicity of one or more active ingredients so as to improve delivery. In this regard, stearates can serve as a lipid vehicle for the formulation, as an emulsifying agent or surfactant, and as a delivery-enhancing or penetration-enhancing agent. Different salts, hydrates or solvates of the active ingredients can be used to further adjust the properties of the resulting composition.

Topical Dosage Forms

Topical dosage forms of the invention include, but are not limited to, creams, lotions, ointments, gels, solutions, emulsions, suspensions, or other forms known to one of skill in the art. *See, e.g., Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th eds., Mack Publishing, Easton PA (1990); and *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*, 4th ed., Lea & Febiger, Philadelphia (1985).

Suitable excipients (*e.g.*, carriers and diluents) and other materials that can be used to provide transdermal and topical dosage forms encompassed by this

invention are well known to those skilled in the pharmaceutical arts, and depend on the particular tissue to which a given pharmaceutical composition or dosage form will be applied. With that fact in mind, typical excipients include, but are not limited to, water, acetone, ethanol, ethylene glycol, propylene glycol, butane-1,3-diol, isopropyl myristate, isopropyl palmitate, mineral oil, and mixtures thereof.

Depending on the specific tissue to be treated, additional components may be used prior to, in conjunction with, or subsequent to treatment with active ingredients of the invention. For example, penetration enhancers can be used to assist in delivering the active ingredients to the tissue. Suitable penetration enhancers include, but are not limited to: acetone; various alcohols such as ethanol, oleyl, and tetrahydrofuryl; alkyl sulfoxides such as dimethyl sulfoxide; dimethyl acetamide; dimethyl formamide; polyethylene glycol; pyrrolidones such as polyvinylpyrrolidone; Kollidon grades (Povidone, Polyvidone); urea; and various water-soluble or insoluble sugar esters such as Tween 80 (polysorbate 80) and Span 60 (sorbitan monostearate).

Mucosal Dosage Forms

Mucosal dosage forms of the invention include, but are not limited to, ophthalmic solutions, sprays and aerosols, or other forms known to one of skill in the art. See, *e.g.*, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th eds., Mack Publishing, Easton PA (1990); and *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*, 4th ed., Lea & Febiger, Philadelphia (1985). Dosage forms suitable for treating mucosal tissues within the oral cavity can be formulated as mouthwashes or as oral gels. In one embodiment, the aerosol comprises a carrier. In another embodiment, the aerosol is carrier free.

The Formula I compounds of the invention may also be administered directly to the lung by inhalation. For administration by inhalation, a Formula I compound can be conveniently delivered to the lung by a number of different devices. For example, a Metered Dose Inhaler ("MDI") which utilizes canisters that contain a suitable low boiling propellant, *e.g.*, dichlorodifluoromethane, trichlorofluoromethane, dichlorotetrafluoroethane, carbon dioxide or other suitable gas can be used to deliver a Formula I compound directly to the lung. MDI devices are available from a number of suppliers such as 3M Corporation, Aventis, Boehringer Ingleheim, Forest Laboratories, Glaxo-Wellcome, Schering Plough and Vectura.

Alternatively, a Dry Powder Inhaler (DPI) device can be used to administer a Formula I compound to the lung (*see, e.g.*, Raleigh *et al.*, *Proc. Amer. Assoc. Cancer Research Annual Meeting*, 1999, 40, 397, which is herein incorporated by reference). DPI devices typically use a mechanism such as a burst of gas to create a cloud of dry powder inside a container, which can then be inhaled by the patient. DPI devices are also well known in the art and can be purchased from a number of vendors which include, for example, Fisons, Glaxo-Wellcome, Inhale Therapeutic Systems, ML Laboratories, Qdose and Vectura. A popular variation is the multiple dose DPI ("MDDPI") system, which allows for the delivery of more than one therapeutic dose. MDDPI devices are available from companies such as AstraZeneca, GlaxoWellcome, IVAX, Schering Plough, SkyePharma and Vectura. For example, capsules and cartridges of gelatin for use in an inhaler or insufflator can be formulated containing a powder mix of the compound and a suitable powder base such as lactose or starch for these systems.

Another type of device that can be used to deliver a Formula I compound to the lung is a liquid spray device supplied, for example, by Aradigm Corporation. Liquid spray systems use extremely small nozzle holes to aerosolize liquid drug formulations that can then be directly inhaled into the lung.

In a preferred embodiment, a nebulizer device is used to deliver a Formula I compound to the lung. Nebulizers create aerosols from liquid drug formulations by using, for example, ultrasonic energy to form fine particles that can be readily inhaled (See *e.g.*, Verschoyle *et al.*, *British J. Cancer*, 1999, 80, Suppl 2, 96, which is herein incorporated by reference). Examples of nebulizers include devices supplied by Sheffield/Systemic Pulmonary Delivery Ltd. (See, Armer *et al.*, U.S. Pat. No. 5,954,047; van der Linden *et al.*, U.S. Pat. No. 5,950,619; van der Linden *et al.*, U.S. Pat. No. 5,970,974, which are herein incorporated by reference), Aventis and Batelle Pulmonary Therapeutics.

In a particularly preferred embodiment, an electrohydrodynamic ("EHD") aerosol device is used to deliver Formula I compounds to the lung. EHD aerosol devices use electrical energy to aerosolize liquid drug solutions or suspensions (*see, e.g.*, Noakes *et al.*, U.S. Pat. No. 4,765,539; Coffee, U.S. Pat. No., 4,962,885; Coffee, PCT Application, WO 94/12285; Coffee, PCT Application, WO 94/14543; Coffee, PCT Application, WO 95/26234, Coffee, PCT Application, WO 95/26235, Coffee, PCT Application, WO 95/32807, which are herein incorporated by

reference). The electrochemical properties of the Formula I compounds formulation may be important parameters to optimize when delivering this drug to the lung with an EHD aerosol device and such optimization is routinely performed by one of skill in the art. EHD aerosol devices may more efficiently delivery drugs to the lung than existing pulmonary delivery technologies. Other methods of intra-pulmonary delivery of Formula I compounds will be known to the skilled artisan and are within the scope of the invention.

Liquid drug formulations suitable for use with nebulizers and liquid spray devices and EHD aerosol devices will typically include a Formula I compound with a pharmaceutically acceptable carrier. Preferably, the pharmaceutically acceptable carrier is a liquid such as alcohol, water, polyethylene glycol or a perfluorocarbon. Optionally, another material may be added to alter the aerosol properties of the solution or suspension of the Formula I compound. Preferably, this material is liquid such as an alcohol, glycol, polyglycol or a fatty acid. Other methods of formulating liquid drug solutions or suspension suitable for use in aerosol devices are known to those of skill in the art (*see, e.g.*, Biesalski, U.S. Pat. Nos. 5,112,598; Biesalski, 5,556,611, which are herein incorporated by reference) A Formula I compound can also be formulated in rectal or vaginal compositions such as suppositories or retention enemas, *e.g.*, containing conventional suppository bases such as cocoa butter or other glycerides.

In addition to the formulations described previously, a Formula I compound can also be formulated as a depot preparation. Such long acting formulations can be administered by implantation (for example subcutaneously or intramuscularly) or by intramuscular injection. Thus, for example, the compounds can be formulated with suitable polymeric or hydrophobic materials (for example, as an emulsion in an acceptable oil) or ion exchange resins, or as sparingly soluble derivatives, for example, as a sparingly soluble salt.

Alternatively, other pharmaceutical delivery systems can be employed. Liposomes and emulsions are well known examples of delivery vehicles that can be used to deliver Formula I compounds. Certain organic solvents such as dimethylsulfoxide can also be employed, although usually at the cost of greater toxicity. A Formula I compound can also be delivered in a controlled release system. In one embodiment, a pump can be used (Sefton, *CRC Crit. Ref Biomed Eng.*, 1987, 14, 201; Buchwald *et al.*, *Surgery*, 1980, 88, 507; Saudek *et al.*, *N. Engl.*

55
45

J. Med., 1989, 321, 574). In another embodiment, polymeric materials can be used (see *Medical Applications of Controlled Release*, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance*, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.*, 1983, 23, 61; see also Levy *et al.*, *Science*, 1985, 228, 190; During *et al.*, *Ann. Neurol.*, 1989,25,351; Howard *et al.*, 1989, *J. Neurosurg.* 71, 105). In yet another embodiment, a controlled-release system can be placed in proximity of the target of the compounds of the invention, *e.g.*, the lung, thus requiring only a fraction of the systemic dose (see, *e.g.*, Goodson, in *Medical Applications of Controlled Release*, *supra*, vol. 2, pp. 115 (1984)). Other controlled-release system can be used (*see*, *e.g.* Langer, *Science*, 1990, 249, 1527).

Suitable excipients (*e.g.*, carriers and diluents) and other materials that can be used to provide mucosal dosage forms encompassed by this invention are well known to those skilled in the pharmaceutical arts, and depend on the particular site or method which a given pharmaceutical composition or dosage form will be administered. With that fact in mind, typical excipients include, but are not limited to, water, ethanol, ethylene glycol, propylene glycol, butane-1,3-diol, isopropyl myristate, isopropyl palmitate, mineral oil, and mixtures thereof, which are non-toxic and pharmaceutically acceptable. Examples of such additional ingredients are well known in the art. See, *e.g.*, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th eds., Mack Publishing, Easton PA (1990).

The pH of a pharmaceutical composition or dosage form, or of the tissue to which the pharmaceutical composition or dosage form is applied, can also be adjusted to improve delivery of one or more active ingredients. Similarly, the polarity of a solvent carrier, its ionic strength, or tonicity can be adjusted to improve delivery. Compounds such as stearates can also be added to pharmaceutical compositions or dosage forms to advantageously alter the hydrophilicity or lipophilicity of one or more active ingredients so as to improve delivery. In this regard, stearates can serve as a lipid vehicle for the formulation, as an emulsifying agent or surfactant, and as a delivery-enhancing or penetration-enhancing agent. Different salts, hydrates or solvates of the active ingredients can be used to further adjust the properties of the resulting composition.

KITS

AF
46

The invention provides a pharmaceutical pack or kit comprising one or more containers comprising a Formula I compound useful for the treatment or prevention of a Hepatitis C virus infection. In other embodiments, the invention provides a pharmaceutical pack or kit comprising one or more containers comprising a Formula I compound useful for the treatment or prevention of a Hepatitis C virus infection and one or more containers comprising an additional therapeutic agent, including but not limited to those listed in section 5.2.2 above, in particular an antiviral agent, an interferon, an agent which inhibits viral enzymes, or an agent which inhibits viral replication, preferably the additional therapeutic agent is HCV specific or demonstrates anti-HCV activity.

The invention also provides a pharmaceutical pack or kit comprising one or more containers comprising one or more of the ingredients of the pharmaceutical compositions of the invention. Optionally associated with such container(s) can be a notice in the form prescribed by a governmental agency regulating the manufacture, use or sale of pharmaceuticals or biological products, which notice reflects approval by the agency of manufacture, use or sale for human administration.

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

Preparation of Compounds

In the synthetic schemes described below, unless otherwise indicated all temperatures are set forth in degrees Celsius and all parts and percentages are by weight. Reagents were purchased from commercial suppliers such as Aldrich Chemical Company or Lancaster Synthesis Ltd. and were used without further purification unless otherwise indicated. Tetrahydrofuran (THF) and N, N-dimethylforamide (DMF) were purchased from Aldrich in Sure Seal bottles and used as received. Unless otherwise indicated, the following solvents and reagents were

distilled under a blanket of dry nitrogen. THF, and Et_2O were distilled from Na-benzophenone ketyl; CH_2Cl_2, diisopropylamine, pyridine and Et_3N were distilled from CaH_2; MeCN was distilled first from P_2O_5, then from CaH_2; MeOH was distilled from Mg; PhMe, EtOAc and *i*-PrOAc were distilled from CaH_2; TFAA was purified via simple atmospheric distillation under dry argon.

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

Work-ups were typically done by doubling the reaction volume with the reaction solvent or extraction solvent and then washing with the indicated aqueous solutions using 25% by volume of the extraction volume unless otherwise indicated. Product solutions were dried over anhydrous Na_2SO_4 and/or Mg_2SO_4 prior to filtration and evaporation of the solvents under reduced pressure on a rotary evaporator and noted as solvents removed *in vacuo*. Column chromatography was completed under positive pressure using 230-400 mesh silica gel or 50-200 mesh neutral alumina. Hydrogenolysis was done at the pressure indicated in the examples or at ambient pressure.

^{1}H-NMR spectra were recorded on a Varian Mercury-VX400 instrument operating at 400 MHz and ^{13}C-NMR spectra were recorded operating at 75 MHz. NMR spectra were obtained as $CDCl_3$ solutions (reported in ppm), using chloroform as the reference standard (7.27 ppm and 77.00 ppm), CD_3OD (3.4 and 4.8 ppm and 49.3 ppm), DMSO-d_6, or internally tetramethylsilane (0.00 ppm) when appropriate. Other NMR solvents were used as needed. When peak multiplicities are reported, the following abbreviations are used: s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet),

48

m (multiplet), br (broadened), dd (doublet of doublets), dt (doublet of triplets). Coupling constants, when given, are reported in Hertz (Hz).

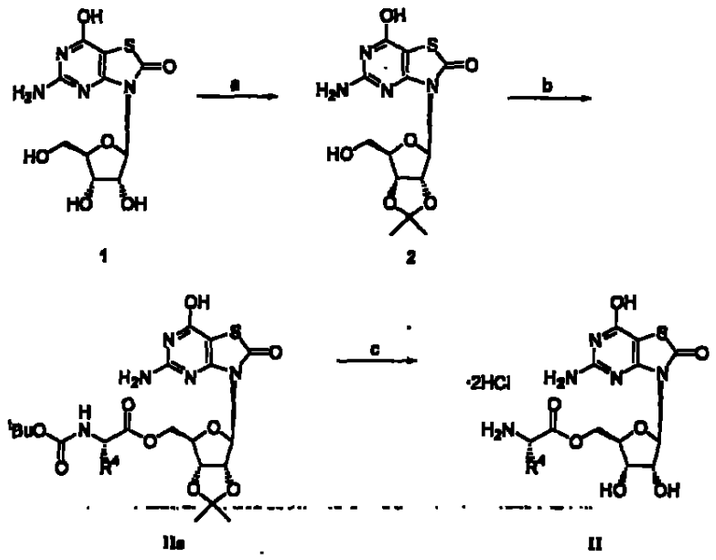
Infrared (IR) spectra were recorded on a FT-IR Spectrometer as neat oils, as KBr pellets, or as $CDCl_3$ solutions, and when given are reported in wave numbers (cm^{-1}). Mass spectra reported are (+)-ES LC/MS conducted by the Analytical Chemistry Department of Anadys Pharmaceuticals, Inc. Elemental analyses were conducted by the Atlantic Microlab, Inc. in Norcross, GA. Melting points (mp) were determined on an open capillary apparatus, and are uncorrected.

The described synthetic pathways and experimental procedures utilize many common chemical abbreviations, THF (tetrahydrofuran), DMF (N,N-dimethylformamide), EtOAc (ethyl acetate), DMSO (di-methyl sulfoxide), DMAP (4-dimethylaminopyridine), DBU (1,8-diazacyclo[5.4.0]undec-7-ene), DCM (4-(dicyanomethylene)-2-methyl-6-(4-dimethylamino-styryl)-4 *H*–pyran), MCPBA (3-chloroperoxybenzoic acid), EDC (1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride), HATU (O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate), HOBT (1-hydroxybenzotriazole hydrate), TFAA (trifluoroacetic anhydride), pyBOP (benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate), DIEA (diisopropylethylamine), BOC (tert-butoxycarbonyl), 2,2-DMP (2,2-dimethoxypropane), IPA (isopropyl alcohol), TEA (triethylamine), DCE (1,2-dichloroethane), PPTS (pyridinium p-toluenesulfonate), DEAD (diethylazodicarboxylate), PS (polymer supported), HF (hydrogen fluoride), MeCN (acetonitrile), MeOH (methanol), Val (valine), Phe (phenyl alanine), HPLC (high pressure liquid chromatography), TLC (thin layer chromatography), and the like.

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

50
49

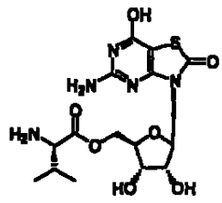
Scheme 1



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

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

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



Step 1: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-O-isopropylidene-β-D-ribofuranosyl)

thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione

To a heterogeneous mixture of 1 (5.37 g, 17.0 mmol, prepared according to the procedure given in U.S. Patent No. 5,041,426 (Example 2), which is incorporated by reference in its entirety) in acetone (40 mL) contained in a 250 mL Morton flask was added successively 2,2-DMP (6.26 mL, 50.9 mmol), DMSO (6.6 mL), and $MeSO_3H$ (220 μL, 3.39 mmol) at room temperature. The reaction mixture was stirred vigorously, becoming homogeneous and golden yellow as the diol was consumed. TLC analysis (SiO_2, 10% MeOH-$CHCl_3$) indicated reaction completion after 6 h. Undissolved solids were removed via gravity filtration using fluted Whatman type 1 filter paper. This was followed by pouring of the filtrate into 10 volumes of ice water (~400 mL), resulting in immediate precipitation of a white solid. After a brief period of stirring, $NaHCO_3$ (285 mg, 3.39 mmol) dissolved in water (10 mL) was added to neutralize the $MeSO_3H$. Vigorous stirring in the Morton reactor was continued for 15 min, whereupon the mixture was filtered through a coarse scintered glass funnel. The solid material was washed with ice water (100 mL), air dried, then dried further under high vacuum at 65 °C, affording 5.36 g (88%) of the acetonide 2 as a white solid: mp 280-81 °C; ^1H (DMSO-d_6) δ 1.28 (s, 3H), 1.47 (s, 3H), 3.43-3.55 (m, 2H), 3.95-3.99 (m, 1H), 4.77-4.80 (m, 1H), 4.88-4.91 (m, 1H), 5.24-5.26 (m, 1H), 5.99 (s, 1H), 6.97 (br s, 2H), 11.25 (s, 1H).

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

To a solution of *N*-butoxycarbonyl-(L)-valine (671 mg, 2.81 mmol) in THF (9 mL) at 0 °C was added EDC (588 mg, 3.07 mmol). The resultant homogeneous mixture was stirred 45 min at 0 °C, at which point it had become heterogeneous, and solid acetonide 2 from Step 1 above (1.00 g, 2.81 mmol) was added as one portion. Subsequently added was solid DMAP (522 mg, 4.27 mmol). The reaction mixture was permitted to reach room temperature, and stirred an additional 5 h, whereupon it was concentrated at 25 °C via rotary evaporation to a yellow syrup. The residue was dissolved in EtOAc (50 mL), partitioned with 1 N HCl (10 mL) followed by neutralization of acid with saturated aqueous $NaHCO_3$ (10 mL). The acidic aqueous phase was further extracted with EtOAc (2 x 50 mL), and then partitioned with the basic aqueous phase. The combined organic phases were dried over Na_2SO_4,

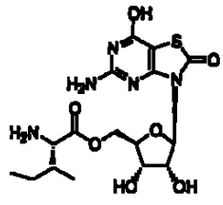
filtered through a short pad of SiO_2, and concentrated, affording 1.480 g (96%) of Boc-protected amino acid ester 4 as a foam: mp 158 °C (dec); ^1H ($CDCl_3$) δ 0.86 (d, J = 7.0, 3H), 0.95 (d, J = 7.0, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.44 (s, 9H), 1.56 (s, 3H), 1.75 (br s, 1H), 2.08-2.19 (m, 1H), 4.20-4.24 (m, 2H),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

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

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

Elemental analysis for $C_{15}H_{21}N_5O_7S \cdot 2HCl$: calc'd: C, 36.89; H, 4.75; Cl, 14.52; N, 14.34; S, 6.57; found: C, 37.03: H, 4.74; Cl, 14.26; N, 14.24; S, 6.42.

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



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

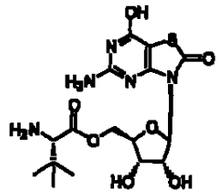
butoxycarbonyl-L-isoleucyl)-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione (6)

In a manner similar to step 2 of Example 1, 5-Amino-3-(2',3'-*O*-isopropylidene-5'-*N*-tert-butoxycarbonyl-L-isoleucyl)-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidine-2,7-dione 6 was prepared in a yield of 93% from 5-Amino-3-(2',3'-*O*-isopropylidene-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidine-2,7-dione 2 and *N-tert*-butoxy-L-isoleucine 7 as an off-white foam: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.29 (s, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.0, 1H), 7.02 (br s, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.28 (d, J = 6.2, 1H), 5.06 (br s; 1H), 4.16-4.22 (m, 2H), 3.85 (dd, *J* = 8.0, 6.6, 1H), 1.68 (br s, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.34 (s, 9H), 1.29 (s, 3H), 0.71-0.89 (m, 5H).

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

In a manner similar to Step 3 of Example 2 was prepared the title compound as a white solid from the above intermediate in an 80% yield: mp 173-174 °C (dec); ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.41 (br s, 1H), 8.41 (br s, 3H), 7.15 (br s, 2H), 5.82 (d, *J* = 4.8, 1H), 4.50-5.00 (m, 2H), 4.40 (dd, *J* = 11.7, 3.3, 1H), 4.21-4.30 (m, 2H), 3.91-4.0 (m, 2H), 1.84-1.91 (m, 1H), 1.37-1.44 (m, 1H), 1.19-1.27 (m, 1H), 0.80-0.87 (m, 6H). Elemental analysis for $C_{16}H_{23}N_5O_7S \cdot 3/2HCl$: calc'd:. C, 39.69; H, 5.10; N, 14.47; Cl, 10.98; S, 6.62; found: C, 39.05; H, 5.13; N, 13.73; Cl, 11.08; S, 6.02.

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



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

In a manner similar to Step 2 of Example 1, 5-Amino-3-(2',3'-*O*-isopropylidene-5'-*N-tert*-butoxycarbonyl-[α-L-*tert*-butylglycinyl]-β-D-

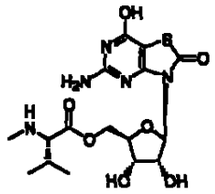
54
53

ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidine-2,7-dione 10 was prepared in a yield of 66% from 5-Amino-3-(2,3-*O*-isopropylidene-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidinone-2,7-dione 2 and *N*-α-L-*tert*-butoxyglycine as an off-white foam: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.28 (br s, 1H), 6.70-7.40 (m, 3H), 6.02 (s, 1H), 5.30 (d, *J* = 6.2, 1H), 5.05 (br s, 1H), 4.17-4.24 (m, 3 H), 3.77 (d, *J* = 8.4, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.33 (s, 9H), 1.29 (s, 3H), 0.85 (s, 9H).

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

In a manner similar to Step 3 of Example 1 was prepared the title compound 8 as a white solid from the above intermediate in an 80% yield: mp 202-203 °C (dec); ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.35 (br s, 1H), 8.31 (br s, 3H), 7.08 (br s, 2H), 5.83 (d, *J* = 4.0, 1H), 5.45 (br s, 1H), 5.21 (br s, 1H), 4.77-4.82 (m, 1H), 4.42 (dd, *J* = 11.4, 2.6, 1H), 4.23-4.28 (m, 1H), 3.96-4.04 (m, 1H), 3.74 (s, 1H), 0.97 (s, 9H). Elemental analysis for $C_{16}H_{23}N_5O_7S \cdot HCl$: calc'd: C, 41.25; H, 5.19; N, 15.03; Cl, 7.61; S, 6.88; found: C, 40.41; H, 5.41; N, 14.16; Cl, 7.01; S, 6.23.

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



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

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

55
54

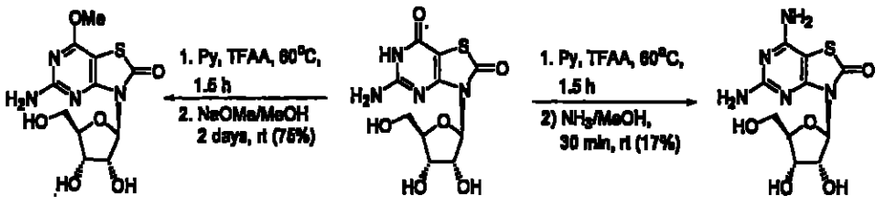
3.91 (d, J = 9.5, 1H), 2.79 (br s, 3H), 2.09 (br s, 1H), 1.46 (s, 3H), 1.36 (s, 4.5H), 1.32 (s, 4.5H), 1.28 (s, 3H), 0.78-0.89 (m, 6H).

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

In a manner similar to Step 3 of Example 1 was prepared the title compound 11 as a slightly impure white solid from the above intermediate in an 60% yield: mp >180 °C (dec); ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.31 (br s, 1H), 9.05 (br s, 2H), 7.05 (br s, 2H), 5.83 (d, J = 4.4, 1H), 5.46 (br s, 1H), 5.21 (br s, 1H), 4.76-4.82 (m, 1H), 4.42-4.48 (m, 1H), 4.28-4.38 (m, 1H), 4.22-4.28 (m, 1H), 3.94-4.04 (m, 2H), 2.54 (br s, 3H), 2.23 (br s, 1H), 0.98 (d, J = 7.0, 3H), 0.88 (d, J = 7.0, 3H).
Elemental analysis for $C_{16}H_{23}N_5O_7S \cdot HCl$: calc'd: C, 41.25; H, 5.02; N, 15.03; S, 6.88; Cl, 7.61; found: C, 40.57; H, 5.37; N, 13.57; S, 6.16; Cl, 7.29.

Scheme 2

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



14 1 15

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

Anhydrous 1 (2.0 g, 6.3 mmol) was dissolved in dry pyridine under an argon atmosphere. The solution was cooled to 0 °C, whereupon TFAA (13.3 g, 63 mmol) was added dropwise to the mixture. After five minutes, the reaction was placed in a 60 °C oil bath for 1.5 h, and was monitored by TLC (SiO_2, 20% MeOH-$CHCl_3$) for the formation of the pyridinium cation. The 0.2 R_f starting material was converted to a baseline spot that underwent blue fluorescence upon exposure to 254 nm UV light. Upon conversion to the activated intermediate, freshly made sodium methoxide (1.8 g Na, 78 mmol, 300 ml methanol) solution was added to the reaction at 0 °C. The reaction was allowed to warm to room temperature and progress for

two days. The mixture was then quenched with 1M NH_4Cl (100 mL), and extracted with a 25% IPA-$CHCl_3$ (5 x 100 mL). The crude material was filtered through a silica gel plug, and then concentrated to afford 1.6 g (75%) of the title compound **14**. An analytical sample was obtained by preparative TLC (SiO_2; water, methanol, ethyl acetate, 5:10:85) as a white solid: mp > 160 °C (dec); $[M+H]^+$ 330.9, $[2M+H]^+$ 661.1, $[3M+H]^+$ 991.0; R_f= 0.6 (20% MeOH-$CHCl_3$); mp 200.4°C-200.9°C; ^1H NMR (400MHz, d_6-DMSO) δ 6.92 (s, 2H), 5.86 (d, J = 5.2, 1H), 5.28 (d, J = 5.6, 1H), 4.96 (d, J = 5.2, 1H), 4.78 (dd, J = 10.8, 5.6, 1H), 4.67 (t, J = 6.0, 1H), 4.07-4.10 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.70-3.80 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.40-3.45 (m, 1H). Elemental Analysis for $C_{11}H_{14}N_4O_6S$: calc'd: C, 40.00; H, 4.27; N, 16.96; S, 9.71; found: C, 40.07; H, 4.43; N, 16.71; S, 9.53.

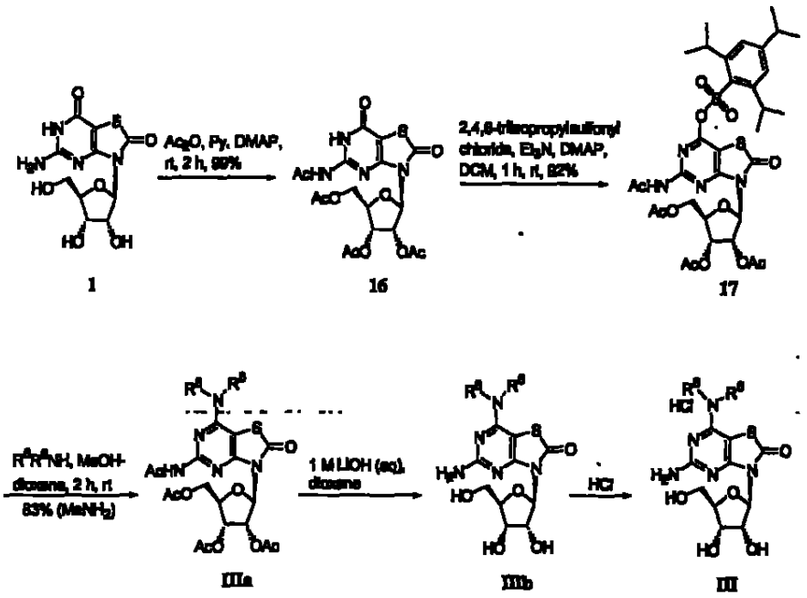
Example 6: 5,7-Diamino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (15)

Anhydrous **1** (0.3 g, 0.9 mmol) was dissolved in dry pyridine under an argon atmosphere. The solution was cooled to 0 °C, then TFAA (1.2 mL, 9.5 mmol) was added dropwise to the mixture. After five minutes, the reaction was placed in a 60 °C oil bath for 1.5 h, and was monitored by TLC (20% MeOH-$CHCl_3$) for the formation of the pyridinium cation. The 0.2 R_f starting material was converted to a baseline spot that underwent blue fluorescence upon exposure to 254 nm UV light. Upon conversion to the activated intermediate, the reaction flask was placed in an ice bath. After allowing the temperature to equilibrate, 30% aqueous NH_3 (25 mL) was added dropwise until cessation of exotherm, and the remainder was added. Within a few minutes, the product formed as indicated by analytical TLC R_f 0.25 (SiO_2, 20% MeOH-$CHCl_3$). The flask was warmed to room temperature over 30 min, then the aqueous solution was degassed under rotary vacuum then extracted with 25% IPA-$CHCl_3$ (5 x 100 mL). The product was submitted to flash chromatography (SiO_2, 10% MeOH-$CHCl_3$), yielding 55 mg (17%) of slightly impure title compound **15**. An analytical sample was obtained by preparative TLC (SiO_2; water-MeOH- EtOAc, 5:10:85) as a white solid: mp > 155 °C (dec); $[M+H]^+$ 316.0; R_f= 0.25 (SiO_2, 20% MeOH-$CHCl_3$); ^1H NMR (400MHz, d_6-DMSO) δ 6.76 (s, 2H), 6.14(s, 2H), 5.85 (d, J = 5.2, 1H), 5.22 (d, J = 4.8, 1H), 4.92 (d, J = 2.8, 1H), 4.70-4.83 (m, 2H), 4.05-4.10 (m, 1H), 3.65-3.80 (m, 1H), 3.52-3.62 (m, 1H) 3.40-

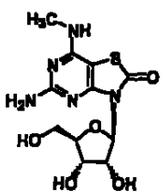
57
56

3.50 (m, 1H).. Elemental Analysis for $C_{10}H_{13}N_5O_5S \cdot \frac{1}{2}H_2O$: calc'd: C, 37.03; H, 4.35; N, 21.59; S, 9.89; found: C, 37.27; H, 4.32; N, 20.43; S, 10.11.

Scheme 3



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



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

Anhydrous 1 (8.0 g, 39.5 mmol) was dissolved in dry pyridine (65 mL). DMAP (3.1g, 25.3 mmol) and acetic anhydride (19.1 mL 202.4 mmol) were added sequentially. The reaction was allowed to progress for 2 h at room temperature, whereupon it was quenched with saturated $NaHCO_3$ (100 mL) and extracted with DCM (3 x 200 mL). The organic phase was concentrated, and then triturated with ether. This provided 12.5 g (103%) of slightly impure 5-acetylamino-3-(2,3,5-tri-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl)thiazolo-[4,5-*d*]pyrimidin-2,7(6H)-dione as a white solid

56
57

16: mp 246.7-248.1 °C; R_f = 0.20 (SiO_2, 50% EtOAc-$CHCl_3$); ^1H NMR (400MHz, d_6-DMSO) δ 12.23 (s, 1H), 11.85 (s, 1H), 5.97 (m, 2H), 5.48 (t, J = 6, 1H), 4.35-4.40 (m, 1H), 4.25-4.31 (m, 1H), 4.08-4.18 (m, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 2.00 (s, 3H).

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

The intermediate from Step 1 above (500 mg, 0.98 mmol) was dissolved in DCM (15 mL) at ambient temperature. DMAP (7.3 mg, 0.06 mmol), and TEA (16 ml, 11 mmol) were added to the solution, followed by 2,4,6-triisopropylbenzenesulfonyl chloride (454 mg, 1.5 mmol). After 1 h the reaction had gone to completion, the crude mixture was concentrated, and then purified by flash chromatography (SiO_2, 10% EtOAc-$CHCl_3$), affording 690 mg (92%) of 5-acetylamino-7-(2,4,6-triisopropyl-benzenesulfonyloxy)-3-(2',3',5'-tri-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one as a foaming white solid 17: 74.5-76.3 °C; R_f = 0.7 (SiO_2, 20% EtOAc-$CHCl_3$); ^1H (400MHz, d_6-DMSO) δ 10.83 (s, 1H), 7.39 (s, 2H), 6.03 (d, J = 4.0, 1H), 5.91-5.96 (m, 1H), 5.69 (t, J = 6.4, 1H), 4.30-4.70 (m, 1H), 4.22-4.26 (m, 1H), 4.16-4.20 (m, 1H), 3.90-4.00 (m, 2H), 2.97-3.01 (m, 1H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.88 (s, 3H), 1.17-1.25 (m, 18H).

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

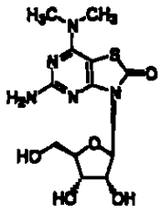
The intermediate from Step 2 above (1.7 g, 2.27 mmol) was dissolved in dioxane (20 mL) at ambient temperature. Added to this was a 2.0 M solution of methylamine (3.4 mL, 6.8 mmol) in methanol. After 2 h the starting material was consumed. The reaction mixture concentrated, and then purified by flash chromatography (SiO_2, gradient elution, 20-80% EtOAc-$CHCl_3$), affording 945 mg (83%) of pure title compound as a yellow oil: $[M+H]^+$ 498.2, $[2M+H]^+$ 995.4; R_f = 0.55 (10% CH_3OH-$CHCl_3$); ^1H NMR (400MHz, d_6-DMSO) δ 10.13 (s, 1H), 7.70 (d, J = 4.41, 1H), 5.95-6.02 (m, 2H), 5.69 (s, 1H), 4.35-4.39 (m, 1H), 4.16-4.23 (m, 2H), 2.90 (d, J = 4.8, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.00 (s, 3H).

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

The intermediate from step 3 above (420 mg, 0.85 mmol) was dissolved in dioxane (4 mL), and 1 M LiOH (8.5 mL, 8.5 mmol) was added to the solution. The

O-acetyl groups were removed within 40 min to give a intermediate at R_f = 0.15 (SiO_2, 5% MeOH-EtOAc). After 2 h the *N*-acetyl was removed as indicated by TLC R_f = 0.20 (SiO_2, 5% MeOH-EtOAc). The reaction mixture was neutralized with stoichiometric acetic acid, extracted with 25% IPA-$CHCl_3$, and then concentrated to afford 195 mg (70%) of 18. An analytical sample of the title compound 18 was obtained by preparative TLC (SiO_2; water-MeOH-EtOAc, 10:20:70) as a white solid: $[M+H]^+$ 330.0; R_f = 0.20 (5% MeOH-EtOAc); mp > 108 °C; ^{1}H NMR (400MHz, d_6-DMSO) δ 7.06 (d, *J* = 3.6, 1H), 6.24 (s, 2H), 5.85 (d, *J* = 5.2, 1H), 5.22 (d, *J* = 4.8, 1H), 4.93 (d, *J* = 5.2, 1H), 4.70-4.80 (m, 2H), 4.07 (d, *J* = 4.8, 1H), 3.75 (d, *J* = 4.4, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.40-3.50 (m, 1H), 2.82 (d, *J* = 4.4, 3H).

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



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

In a manner similar to Example 7, step 2, 5-acetylamino-7-dimethylamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one was generated in an 80% yield as a yellow oil: M^+ 511.14; R_f = 0.70 (SiO_2, 10% MeOH-$CHCl_3$); ^{1}H NMR (400MHz, d_6-DMSO) δ 10.15 (s, 1H), 6.10-6.15 (m, 1H), 5.98-6.09 (m, 1H), 5.5.66-5.70 (m, 1H), 4.35-4.40 (m, 1H), 4.22-4.27 (m, 1H), 4.14-4.08 (m, 1H), 3.18 (s, 6H), 2.19 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.99 (s, 3H).

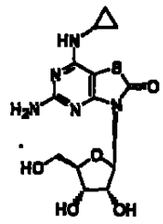
Step 2: Preparation of 5-Amino-7-dimethylamino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (20)

In a manner similar to Example 7, step 3, the title compound 20 was generated in 82% yield. An analytical sample was obtained by preparative TLC (SiO_2; water-MeOH-EtOAc, 10:20:70) as a white solid: $[M+H]^+$ 344.0; $[2M+H]^+$ 687.4; mp > 112 °C; R_f = 0.20 (5% MeOH-EtOAc); ^{1}H NMR (400MHz, d_6-DMSO) δ 6.27 (s, 2H), 5.91 (d, *J* = 4.8, 1H), 5.22 (d, *J* = 6.0, 1H), 4.93 (d, *J* = 5.2, 1H),

60
59

4.71-4.76 (m, 2H), 4.07-4.09 (m, 1H), 3.7-3.8 (m, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.09 (s, 6H). Elemental analysis for $C_{12}H_{17}N_3O_5S$: calc'd: C, 41.98; H, 4.99; N, 20.40; found: C, 41.32; H, 5.14; N, 18.59.

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



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

In a manner similar to Example 3, step 2, 5-acetylamino-7-cyclopropylamino-3-(2',3',5'-tri-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one was generated in 80% yield as a yellow oil: R_f= 0.45 (SiO_2, 75% EtOAc-$CHCl_3$); ^{1}H NMR (400MHz, D_6-DMSO) δ 10.11 (s, 1H), 7.87 (d, *J* = 2.8, 1H), 5.98-6.01 (m, 1H), 5.70-5.76 (s, 1H), 4.32-4.39 (m, 1H), 4.16-4.30 (m, 2H), 3.85 (s, 1H), 2.87 (s, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 0.73-0.76 (m, 2H), 0.57-0.60 (m, 2H).

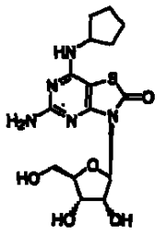
Step 2: Preparation of 5-Amino-7-cyclopropylamino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one

In a manner similar to Example 7, step 3, 5-amino-7-cyclopropylamino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one was generated in 79% yield. An analytical sample was obtained by preparative TLC (SiO_2; water-MeOH-EtOAc, 10:20:70) as a white solid: R_f= 0.20 (5% MeOH-EtOAc); mp > 100 °C; $[M+H]^+$ 356.0; ^{1}H (400MHz, d_6-DMSO) δ 7.24 (s, 1H), 6.28 (s, 2H), 5.86 (d, *J* = 5.6, 1H), 5.22 (d, *J* = 6, 1H), 4.92 (d, *J* = 5.2, 1H), 4.70-4.80 (m, 2H), 4.05-4.10 (m, 1H), 3.7-3.8 (m, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.45-3.50 (m, 1H), 2.8 (s, 1H), 0.68-0.70 (m, 2H), 0.54-0.57 (m, 2H).

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

The title compound was prepared by addition of the solid material prepared in step 2 above to vigorously stirring 4 M HCl in dioxane, affording the title compound as a white solid: mp > 99 °C; ^{1}H NMR (400MHz, d_6-DMSO) δ 7.25 (d, 1H, J = 2.8, 1H), 6.23 (s, 2H), 5.87 (d, J = 5.2, 1H), 5.21 (bs, 1H), 4.98 (bs, 1H), 4.73-4.79 (m, 2H), 4.09 (t, J = 5.6, 1H), 3.72-3.79 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.45-3.37 (m, 1H), 2.75-2.82 (m, 1H), 0.72-0.79 (m, 2H), 0.55-0.63 (m, 2H). Elemental analysis for $C_{13}H_{17}N_5O_5S$•HCl: calc'd: C, 39.85; H, 4.63; N, 17.87; Cl, 9.05; found: C, 39.66; H, 4.85; N, 16.57; Cl, 8.13.

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



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

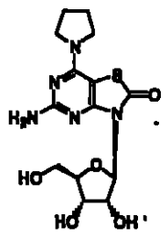
In a manner similar to Example 7, step 2, 5-acetylamino-7-pyrrolidino-3-(2',3',5'-tri-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one was generated in 70% yield. An analytical sample was obtained via preparative TLC (SiO_2; water-MeOH-EtOAc, 10:20:70) as a white solid: mp > 108 °C (dec); R_f = 0.80 (10% water and 20% methanol in ethyl acetate); $[M+H]^+$ 384.0; ^{1}H NMR (400MHz, d_6-DMSO) δ 7.00 (d, J = 7.2, 1H), 6.17 (s, 2H), 5.18 (d, J = 5.2, 1H), 5.21 (d, J = 5.6, 1H), 4.92 (d, J = 5.6, 1H), 4.74-4.80 (m, 2H), 4.30-4.35 (m, 1H), 4.05-4.10 (m, 1H), 3.70-3.80 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.30-3.45 (m, 1H), 1.40-2.0 (m, 8H).

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

In a manner similar to Example 7, step 3, the title compound 22 was generated in 70% yield. An analytical sample was obtained via preparative TLC (SiO_2; water-MeOH-EtOAc, 10:20:70) as a white solid: mp > 108 °C (dec); R_f = 0.80 (10% water and 20% methanol in ethyl acetate); $[M+H]^+$ 384.0; ^{1}H NMR

(400MHz, d_6-DMSO) δ 7.00 (d, J = 7.2, 1H), 6.17 (s, 2H), 5.18 (d, J = 5.2, 1H), 5.21 (d, J = 5.6, 1H), 4.92 (d, J = 5.6, 1H), 4.74-4.80 (m, 2H), 4.30-4.35 (m, 1H), 4.05-4.10 (m, 1H), 3.70-3.80 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.30-3.45 (m, 1H), 1.40-2.0 (m, 8H).

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



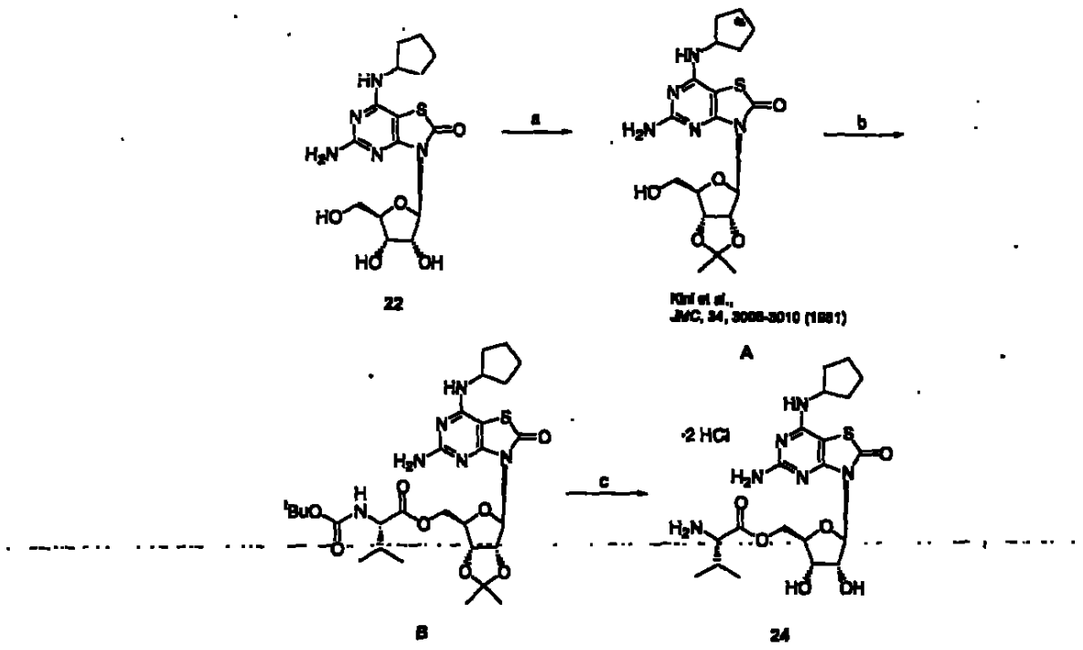
Step 1): Preparation of 5-Acetylamino-7-pyrrolidino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one

In a manner similar to Example 7, step 2, 5-acetylamino-7-pyrrolidino-3-(2,3,5-tri-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one was generated in 79% yield as a yellow oil: $[M+H]^+$ 538.1; R_f = 0.80 (SiO_2, water-MeOH-EtOAc, 10:20:70); ^1H (400MHz, D_6-DMSO) δ 10.04 (s, 1H), 5.97-6.02 (m, 2H), 5.68 (s, 1H), 4.38 (dd, J = 11.6, 3.6, 1H), 4.15-4.23 (m, 2H), 3.58 (s, 4H), 2.23 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.89 (s, 4H).

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

In a manner similar to Example 7, step 3, the title compound 23 was generated in 81% yield. An analytical sample was obtained via preparative TLC (SiO_2; water-MeOH-EtOAc, 10:20:70) as a white solid: mp > 112.4 °C (dec); $[M+H]^+$ 370.3; ^1H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.22 (s, 2H), 5.90 (d, J = 4.8, 1H), 5.23 (d, J = 5.2, 1H), 4.94 (d, J = 4.4, 1H), 4.68-4.75 (m, 2H), 4.08 (d, J = 4.8, 1H), 3.71-3.76 (m, 1H), 3.55 (bs, 5H), 3.38-3.54 (m, 1H), 1.87 (s, 4H).

Scheme 4



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

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

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

The intermediates are prepared as follows:

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

Compound A is prepared according to the procedure of Kini et al., by stirring a mixture of 5-amino-7-cyclopentylamino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyrimidine-2-one 22 with acetone, DMSO, methanesulfonic acid and an excess of dimethoxypropane at 0 °C until starting material is consumed. The reaction mixture

is added to ice water and neutralized to pH 7 with saturated $NaHCO_3$ and extracted with EtOAc. The organic layer is concentrated and subjected to column chromatography on silica providing the 2',3'-protected diol product.

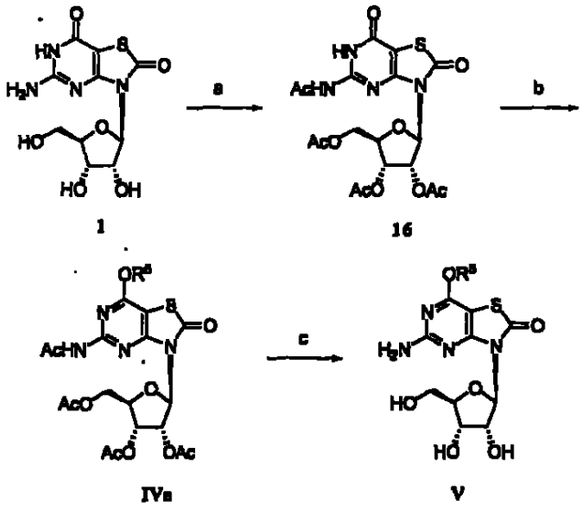
5-Amino-7-cyclopentylamino-3-(5'-O-(N-(tert-butoxycarbonyl)-L-valinyl)-2',3'-O-isoproylidene-β-D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2-one (B)

To a solution of 1.0 equivalents of *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-valine in THF at 0 °C is added 1.1 equivalents of EDC. After stirring for 30 min. 1.0 equivalent of 5-amino-7-cyclopentyl-3-(2',3'-*O*-isoproylidene-β-D-ribofuranosyl)thiazolo[4,5-*d*]pyrimidine-2-one, A, and 1.5 equivalents DMAP are added. The reaction mixture is warmed to room temperature and allowed to stir for 5 h, and concentrated. The residue is dissolved in EtOAc, partitioned with 1 N HCl, and neutralized with saturated aqueous $NaHCO_3$ (10 mL). The aqueous phase is further extracted with EtOAc. The combined organic phases are dried over Na_2SO_4, filtered, and evaporated under vacuum to give intermediate B that is purified by column chromatography on silica.

Schemes 5a-5c

Schemes 5a-c show general procedures for preparing 5-Amino-7-alkoxy-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-ones.

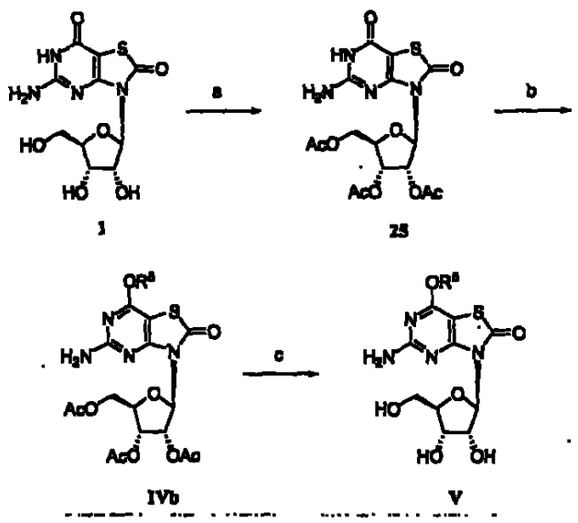
Scheme 5a



a) Ac_2O, Et_3N, MeCN
b) polymer-supported PPh_3, R^5OH, diethyl azodicarboxylate, THF, 0 °C - rt
c) K_2CO_3, MeOH

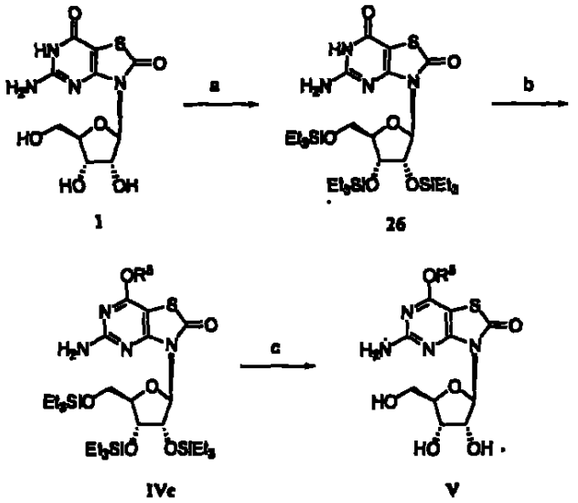
64

Scheme 5b



a) Ac_2O, Et_3N, MeCN
b) polymer-supported PPh_3, R^5OH, diethyl azodicarboxylate, THF, 0 °C - rt
c) K_2CO_3, MeOH

Scheme 5c



a) Et_3SiCl, Imidazole, DMAP, DMF
b) polymer-supported PPh_3, R^5OH, diethyl azodicarboxylate, THF, 0 °C - rt
c) HF, MeCN or HF-pyr, THF

5

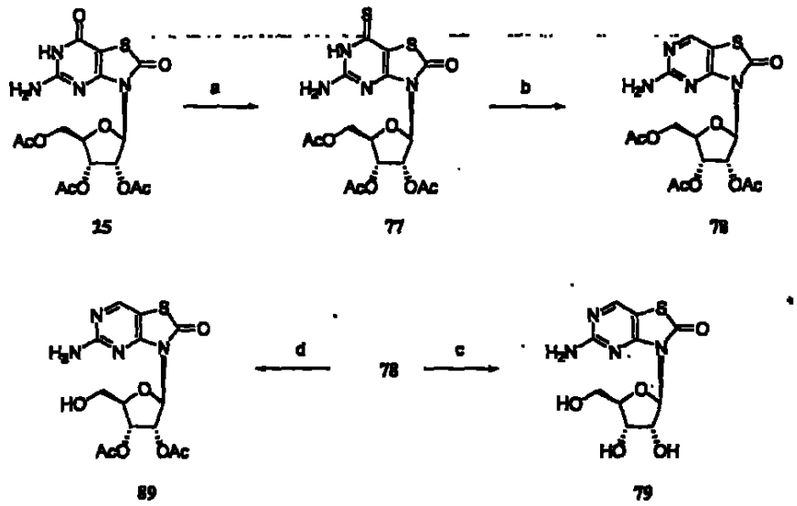
66
65

In a typical synthetic route, the 2',3',5'-hydroxyl groups of the β-D-ribose moiety and/or the 5-amino group of 5-amino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyrimidine-2,7-dione are first protected, preferably with silyl or acyl groups as shown for 16, 25 and 26. The carbonyl at the 7-position can then be subjected to a variety of alkylation methods with various alcohols to form IVa, IVb, and IVc. The 2',3',5'-hydroxyls of the ribose unit and/or he nitrogen of the 5-amino group are then subjected to appropriate deprotection conditions, to produce V. V can further be appropriately modified if so desired.

Schemes 6a-6e

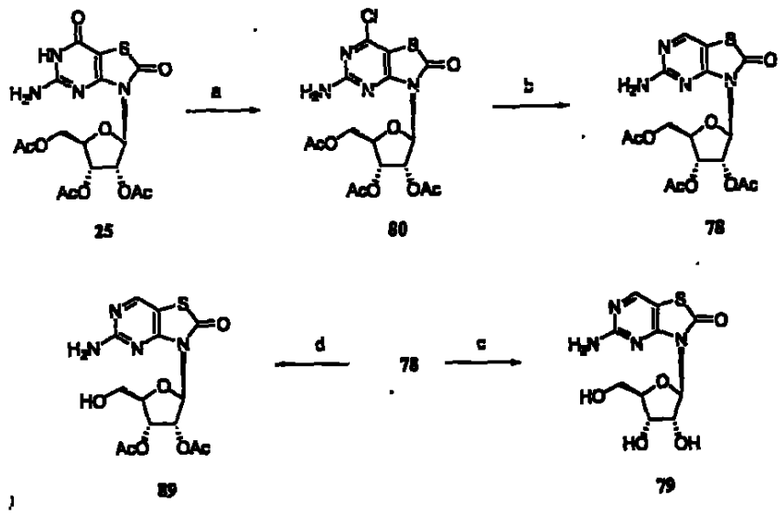
Schemes 6a-6e show general procedures for preparing 5-Amino-3-β-D-ribofuranosyl-3*H*-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one.

Scheme 6a



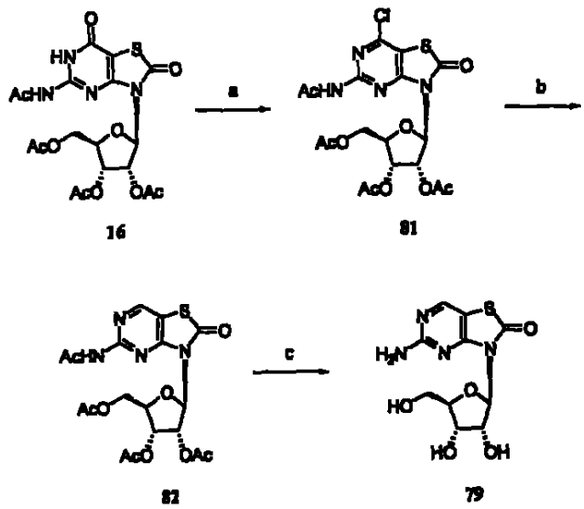
a) P_2S_5, pyr.
b) NI, acetone, reflux
c) K_2CO_3, MeOH
d) *candida antarctica* lipase, pH7, acetone

Scheme 6b



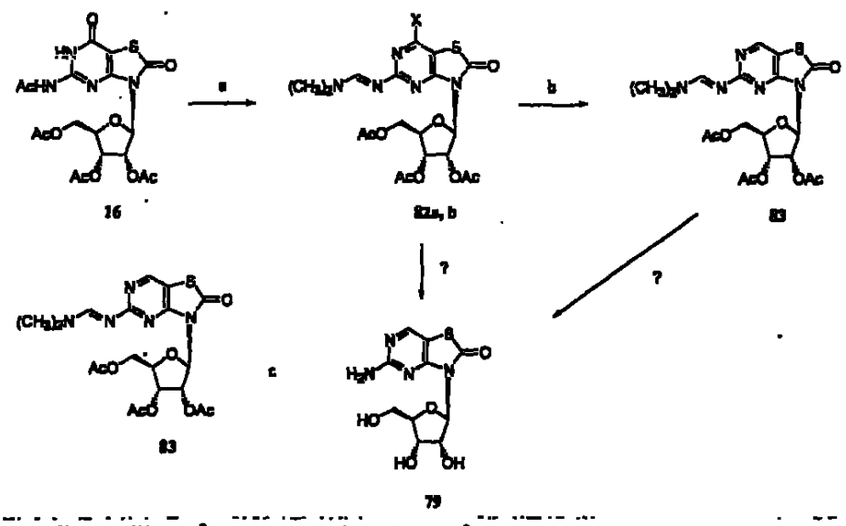
a) $POCl_3$, NEt_3, $CHCl_3$, reflux
b) Zn-Cu, AcOH, 80 °C
c) K_2CO_3, MeOH
d) *candida antarctica* lipase, pH7, acetone

Scheme 6c



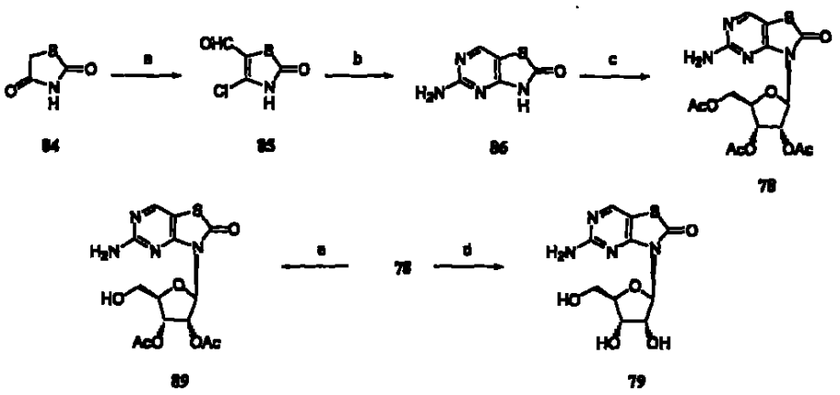
a) $POCl_3$, NEt_3, $CHCl_3$, 60 °C
b) 10% Pd/C, H_2, 250 psi, NaOAc, EtOH
c) K_2CO_3, MeOH

Scheme 6d



a) $SOCl_2$, DMF, $CHCl_3$, 60 °C or $SOBr_2$, DMF, $CHCl_3$, toluene 110 °C
b) Zn, AcOH
c) K_2CO_3, MeOH

Scheme 6e



a) $POCl_3$, DMF, 100 °C
b) guanidine-HCl, K_2CO_3, $NaHCO_3$, DMF, 110 °C
c) 1,2,3,5-tetra-O-acetyl-β-D-ribofuranose, cat. bis-(4-nitrophenyl) phosphate, 160 °C
d) K_2CO_3, MeOH
e) *candida antarctica* lipase, pH7, acetone

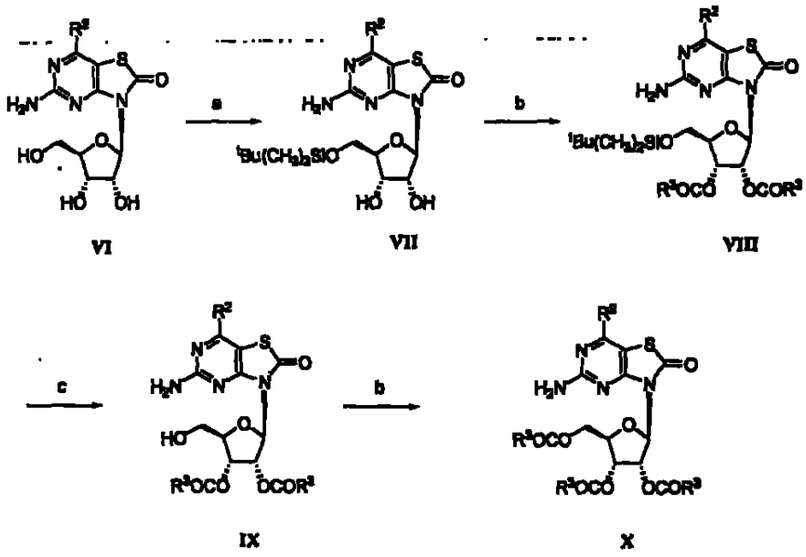
In other typical synthetic routes, 5-amino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyrimidine-2,7-dione 1, protected at the 2',3',5'-hydroxyl groups of the β-D-ribose and/or the 5-amino group, preferably with an acyl groups as shown for 16 or 25, can be subjected to a variety of conditions to convert the C-7 carbonyl at the 7-position

to various groups, including but not limited to mercapto and halogen, that are susceptible to reduction. Following reduction under hetero- or homogeneous reaction conditions, the 2',3',5'-hydroxyls of the ribose unit and/or he nitrogen of the 5-amino group are then subjected to appropriate deprotection conditions, to produce 79. Compound 79 can further be appropriately modified if so desired.

In an alternate method 5-amino-3*H*-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one was synthesized and further subjected to an appropriate β-D-ribose derivative under various glycosylation conditions.

Scheme 7 shows a general procedure for preparing esters of 5-Amino-7 substituted and 7-unsubstituted-3-β-D-ribofuranosyl-3*H*-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one.

Scheme 7



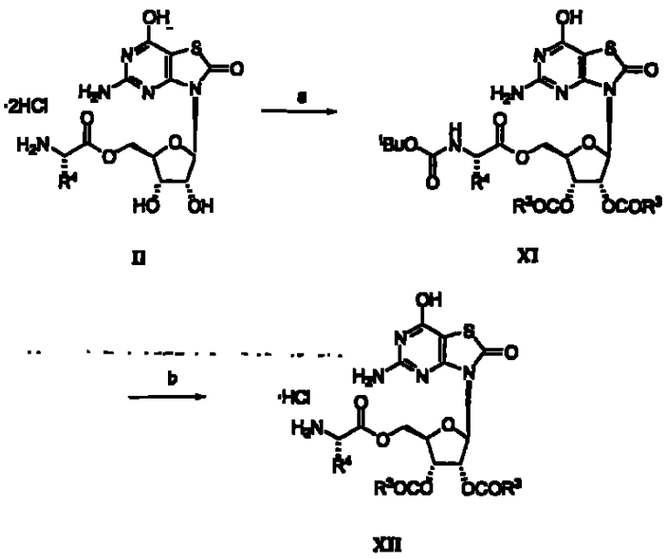
a) $^tBuMe_2SiCl$, imidazole, DMF
b) acid anhydride, Et_3N, CH_3CN
c) HF-pyr or nBu_4NF

In a typical synthetic route, the 5'-hydroxyl group of the β-D-ribose moiety 5-amino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyrimidine is first selectively protected, preferably with an appropriate silyl group as shown for VII. The 2'- and 3'-hydroxyl groups can then be subjected to a variety of esterification methods to form VIII.

The 5'-hydroxyl of the ribose unit is then subjected to appropriate deprotection conditions, to produce IX. IX can further be appropriately modified if so desired.

Scheme 8 shows a general procedure for esterification of 5-Amino-3-(5'-*O*-amino acid esters)-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2,7-diones.

Scheme 8

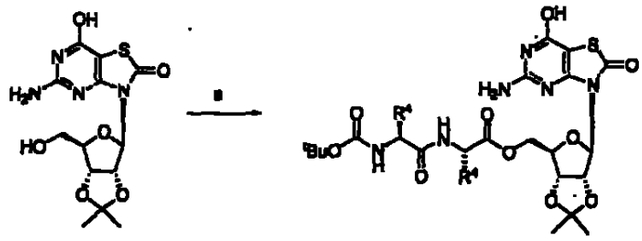


a) di-^{t}butyldicarbonate, Et_3N, CH_3CN, acid anhydride
b) HCl, dioxane

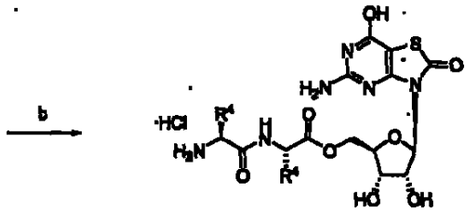
In a typical synthetic route, the N-terminal amine of the 5'-amino acid ester of II is first selectively protected, preferably with an appropriate alkoxy-carbonyl group, followed by esterification of the 2' and 3' hydroxyl groups as shown for XI. The N-terminal amine is then subjected to appropriate deprotection conditions, to produce XII.

Scheme 9 shows a general procedure for esterification of 5-Amino-3-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2,7-diones at the 5' hydroxyl with N-terminal protected peptides.

Scheme 9



2 XIII



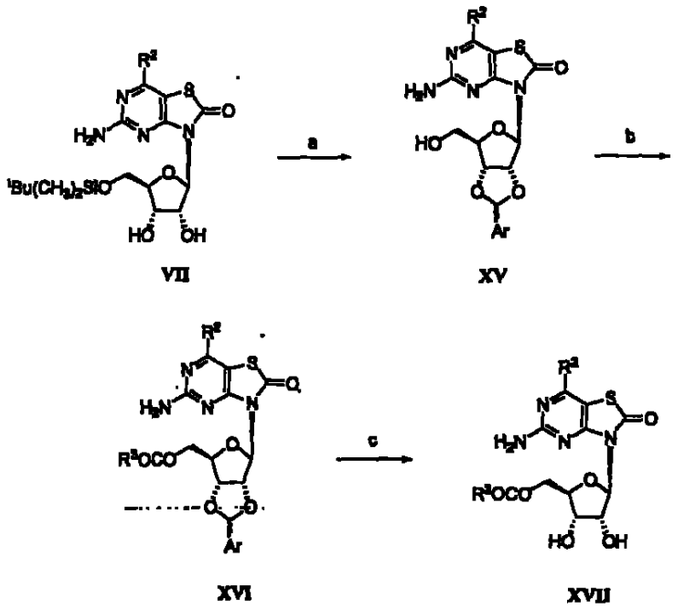
XIV

a) BOCNHCH(R^4)C(O)NHCH(R^4)CO_2H, EDC, DMAP, pyr. DCE, 0 °C - rt
b) HCl, *i*PrOAc

In a typical synthetic route, the 5'-hydroxyl group a 2',3'-hydroxy protected β-D-ribose moiety of 5-amino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyrimidine such as **2** is esterified with a N-protected terminal amine (preferably an appropriate alkoxy-carbonyl group) peptide to form the 5'-amino acid ester **XIII**. Both the N-terminal amine and 2',3'-hydroxy groups are then simultaneously subjected to appropriate deprotection conditions, to produce **XIV**.

Scheme 10 shows a general procedure for preparing 5' esters of 5-Amino-7 substituted and 7-unsubstituted-3-β-D-ribofuranosyl-3*H*-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one.

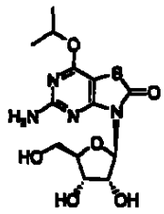
Scheme 10



a) ArCHO, H_2SO_4, THF
b) acid anhydride, Et_3N, CH_3CN
c) PPTS, CH_3OH

In a typical synthetic route, the 2'- and 3'-hydroxyl groups of 5' hydroxyl protected 5-amino-3-β-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-*d*]pyrimidine such as in VII are protected. Ideally the free 5'-hydroxyl group is deprotected under conditions to protect the 2'- and 3'-hydroxyl groups as shown in XV. The 5'-hydroxyl of the ribose unit is then subjected to variety of esterification conditions with an appropriate carboxylic acid, or derivative thereof, to produce XVI. The 2',3'-hydroxyl groups of the ribose unit are then subjected to appropriate deprotection conditions, to produce XVII. XVII can further be appropriately modified if so desired.

Example 13: 5-Amino-7-isopropoxy-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (28)



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

Anhydrous 1 (8.17 g, 25.7 mmol) and DMAP (3.13 g, 25.7 mmol) were suspended in dry acetonitrile (125 ml). Acetic anhydride (24.5 ml, 257 mmol) was added slowly to the suspension. The reaction flask was equipped with a water-cooled reflux condenser and refluxed for 4.5 h. The reaction mixture was then poured into 600 ml of water. Solid was allowed to precipitate out for 1 h. The solid was collected, dried and triturated in ethyl ether (80 ml) for 18 h. This yielded 10.3g (82.5%) of compound 16 as a tan solid: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 12.19 (s, 1H), 11.81 (s, 1H), 5.95 (m, 2H), 5.49 (m, 1H), 4.38 (m, 1H), 4.25 (m, 1H), 4.07 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.00 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 485. R_f = 0.45 (75% Ethyl acetate-$CHCl_3$). Elemental Analysis for $C_{18}H_{20}N_4O_{10}S$: calc'd: C, 44.63; H, 4.16; N, 11.57; S, 6.62. Found: C, 44.40; H, 4.18; N, 11.58; S, 6.56.

Step 2: Preparation of 5-Acetylamino-7-isopropoxy-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (27)

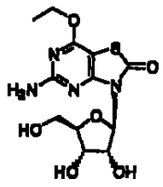
Compound 16 (650 mg, 1.34 mmol) and Argonaut PS-triphenylphosphine resin (4.02 mmol, 1.86 g) were placed under a dry nitrogen atmosphere in a flame-dried flask, and then dry THF (20 ml) was added. The flask was then cooled to 0 °C in an ice bath. Isopropanol (IPA) (0.20 ml, 2.68 mmol) was added followed by the dropwise addition of diethyl azodicarboxylate (DEAD) (0.366 ml, 2.0 mmol). The flask was removed from the ice bath and allowed to warm to ambient temperature. The reaction mixture was monitored for the disappearance of compound 16 by TLC. Upon consumption of 16, the solid supported material was filtered off. The crude reaction mixture was purified by flash chromatography using a 15 to 60% gradient of ethyl acetate in chloroform. Removal of the solvent afforded 460 mg (64.9%) of

27 as a white foam: MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 527. R_f= 0.7 (75% Ethyl acetate-$CHCl_3$).

Step 3: Preparation of 5-Amino-7-isopropoxy-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin -2-one (28)

Compound 27 (600 mg, 1.14 mmol) was dissolved in methanol (15 ml) under a dry nitrogen atmosphere. K_2CO_3 (31.5 mg, 0.2 mmol) was added and the mixture was stirred for 18 h periodically being monitored by TLC (1:1 THF:Chloroform). The reaction mixture was concentrated under vacuum and purified by flash column chromatography (3% methanol in chloroform). The isolated solid was triturated with ethyl ether yielding 210mg (51%) of pure 28 as a white solid: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.83 (s, 2H), 5.86 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 5.34 (m, 1H), 5.26 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 4.95 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.77 (m, 1H), 4.67 (m, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.58 (m,1H), 3.43 (m,1H), 1.29 (d, *J* = 6.4 Hz, 6H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 359, $[2M+H]^+$ *m/z* 717.3. R_f= 0.2 (50% THF-$CHCl_3$). Elemental analysis for $C_{13}H_{18}N_4O_6S$: calc'd: C, 43.57; H, 5.06; N, 15.63; S, 8.95. Found: C, 43.39; H, 5.07; N, 15.45; S, 8.82.

Example 14: 5-Amino-7-ethoxy-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (30)



Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-ethoxy-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (29)

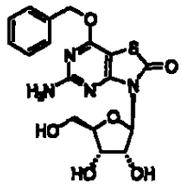
In a manner similar to Example 13, step 2, 29 was prepared from 16 and ethanol in 72% yield as a white foam: MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 513. R_f= 0.45 (75% Ethyl acetate-$CHCl_3$).

Step 2: Preparation of 5-Amino-7-ethoxy-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2-one (30)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 29 in 65% yield as a white solid: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.87 (s, 2H), 5.85 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 5.27 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.96 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.78 (m, 1H), 4.66 (m, 1H), 4.36 (m, 2H), 4.09 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 3.58 (m,1H), 3.40

(m, 1H), 1.29 (m, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 445, $[2M+H]^+$ *m/z* 689. R_f= 0.2 (50% THF-$CHCl_3$). Elemental Analysis for $C_{12}H_{16}N_4O_6S \cdot 0.25\ H_2O$: calc'd: C, 41.31; H, 4.77; N, 16.06; S, 9.19. Found: C, 41.24; H, 4.71; N, 15.89; S, 9.06.

Example 15: 5-Amino-7-benzyloxy-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (32)



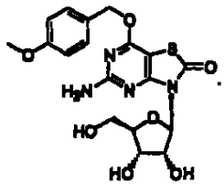
Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-benzyloxy-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (31)

In a manner similar to Example 13, step 2, 31 was prepared from 16 and benzyl alcohol in 77% yield as a white foam: MS (+)-ES $[M+H]^+$ 575. R_f= 0.55 (75% Ethyl acetate-$CHCl_3$).

Step 2: Preparation of 5-Amino-7-benzyloxy-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (32)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 31 in 62% yield as a white solid: ^1H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.39 (bm, 5H), 6.95 (s, 2H), 5.86 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.28 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.96 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.80 (m, 1H), 4.66 (m,1H), 4.09 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.42 (m, 1H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 407, [2M+H] 813. R_f= 0.15 (50% THF-$CHCl_3$). Elemental Analysis for $C_{17}H_{18}N_4O_{16}S$: calc'd: C, 50.24; H, 4.46; N, 13.79; S, 7.89. Found: C, 49.97; H, 4.55; N, 13.44; S, 7.70.

Example 16: 5-Amino-7-(4-methoxy-benzyloxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (34)



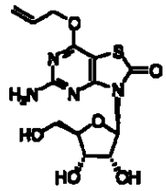
Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-(4-methoxy-benzyloxy)-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one

In a manner similar to Example 13, step 2, 33 was obtained from 16 and 4-methoxyl-benzyl alcohol in 72% yield as a white foam: $[M+H]^+$ 605. R_f= 0.5 (75% Ethyl acetate-$CHCl_3$).

Step 2: Preparation of 5-Amino-7-(4-methoxy-benzylaxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (34)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 33 in 68% yield as a white solid: ^1H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.38 (dd, J = 8,4, 2.0 Hz, 2H), 6.93 (s, 2H), 6.91 (dd, J = 6.8, 2.0 Hz, 2H), 5.85 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.35 (s, 2H), 5.27 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 5.2, 1H), 4.78 (m, 2H), 4.65 (m, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.74 (m, 3H), 3.55 (m, 1H), 3.41 (m, 1H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 437, $[2M+H]^+$ 873. R_f= 0.3 (50% THF-$CHCl_3$). Elemental analysis for $C_{18}H_{20}N_4O_7S \cdot 1.0\ H_2O$: calc'd: C, 47.57; H, 4.88; N, 12.33; S, 7.06. Found: C, 47.28; H, 4.91; N, 12.36; S, 7.10.

Example 17: 7-Allyloxy-5-Amino-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (36)



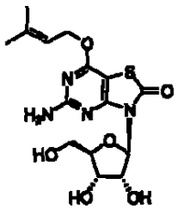
Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-allylaxy-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (35)

In a manner similar to Example 13, step 2, 35 was prepared from 16 and allyl alcohol in 73% yield as a white foam: $[M+H]^+$ 525. R_f= 0.6 (75% Ethyl acetate/$CHCl_3$).

Step 2: Preparation of 7-Allylaxy-5-amino-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (36)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 35 in 69% yield as a white foam. ^1H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.90 (s, 2H), 6.04 (m, 1H), 5.86 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.26 (m, 2H), 4.96 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.86 (m, 1H), 4.79 (m, 2H), 4.66 (m, 1H), 4.08 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.45 (m, 1H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 357, $[2M+H]^+$ 713. R_f= 0.3 (50% THF-$CHCl_3$). Elemental Analysis for $C_{13}H_{16}N_4O_6S$: calc'd: C, 43.82; H, 4.53; N, 15.72; S, 9.00. Found: C, 43.65; H, 4.65; N, 15.64; S, 8.96.

Example 18: 5-Amino-7-(3-methyl-but-2-enyloxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (38)



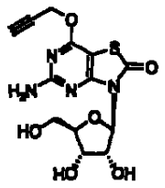
Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-(3-methyl-but-2-enyloxy)-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (37)

In a manner similar to Example 13, step 2, 37 was prepared from 16 and 3-methyl-but-2-en-1-ol in 76% yield as a white foam: MS (+)-ES $[M+H]^+$ 553. R_f= 0.8 (75% Ethyl acetate-$CHCl_3$).

Step 2: Preparation of 5-Amino-7-(3-methyl-but-2-enyloxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (38)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 37 in 68% yield as a white solid: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.86 (s, 1H), 5.85 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.41 (m, 1H), 5.27 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.86 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 4:78 (m, 1H), 4.66 (m, 1H), 4.08 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.56 (m, 1H), 3.41 (m, 2H), 1.73 (s, 3H), 1.70 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 385. R_f= 0.35 (50% THF-$CHCl_3$). Elemental Analysis for $C_{15}H_{20}N_4O_6S$: calc'd: C, 46.87; H, 5.24; N, 14.57; S, 8.34. Found: C, 46.86; H, 5.24; N, 14.62; S, 8.34.

Example 19: 5-Amino-7-(prop-2-ynyl oxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (40)



Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-(prop-2-ynyl oxy)-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-3-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (39)

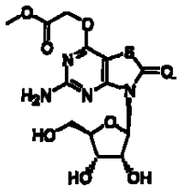
In a manner similar to Example 13, step 2, 39 was prepared from 16 and propargyl alcohol in 62% yield as a white foam: MS (+)-ES $[M+H]^+$ 523. R_f= 0.7 (75% Ethyl acetate-$CHCl_3$).

78
77

Step 2: Preparation of 5-Amino-7-(prop-2-ynyl oxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (40)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 39 in 68% yield as a white solid: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.99 (s, 2H), 5.86 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.29 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.04 (s, 2H), 4.97 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.78 (m, 1H), 4.65 (m, 2H), 4.08 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.28 (m, 1H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 355. R_f = 0.25 (50% THF-$CHCl_3$). Elemental Analysis for $C_{13}H_{14}N_4O_6S \cdot 0.5\ H_2O$: calc'd: C, 42.97; H, 4.16; N, 15.42; S, 9.82; found: C, 43.22; H, 4.27; N, 14.80; S, 8.47.

Example 20: (5-Amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-7-yloxy)-acetic acid methyl ester (42)



Step 1: Preparation of [5-Acetylamino-2-oxo-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-3-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-7-yloxy]-acetic acid methyl ester (41)

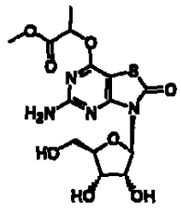
In a manner similar to Example 13, step 2, 41 was prepared from 16 and hydroxyl-acetic acid methyl ester in 58% yield as a white foam: MS (+)-ES $[M+H]^+$ 556. R_f = 0.45 (75% Ethyl acetate-$CHCl_3$).

Step 2: Preparation of (5-Amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-7-yloxy)-acetic acid methyl ester (42)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 41 in 57% yield as a white solid: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.93 (s, 3H), 5.86 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.28 (m, 1H), 4.99 (s, 2H), 4.95 (s, 1H), 4.80 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.55 (m, 1H), 3.42 (m, 1H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 389, $[2M+H]^+$ 777.3. R_f = 0.15 (75% THF-$CHCl_3$). Elemental Analysis for $C_{13}H_{16}N_4O_8S$: calc'd: C, 40.21; H, 4.15; N, 14.43; S, 8.26. Found: C, 40.07; H, 4.25; N, 14.20; S, 8.11.

77
78

Example 21: 2-(5-Amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-7-yloxy)-propionic acid methyl ester (44)



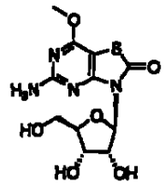
Step 1: 2-[5-Acetylamino-2-oxo-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-3-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-7-yloxy]-propionic acid methyl ester (43)

In a manner similar to Example 13, step 2, 43 was prepared from 16 and (±) 2-hydroxy-propionic acid methyl ester in 55% yield as a white solid: MS (+)-ES $[M+H]^+$ 571. R_f= 0.4 (75% Ethyl acetate-$CHCl_3$).

Step 2: 2-(5-Amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-7-yloxy)-propionic acid methyl ester (44)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 43 in 63% yield as a white solid: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.88 (s, 2H), 5.84 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.39 (m, 1H), 5.29 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.97 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.80 (m, 1H), 4.66 (m, 1H), 4.10 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.56 (m, 1H), 3.43(m, 1H), 1.51 (d, J = 6.8 Hz, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 403, $[2M+H]^+$ 805. R_f= 0.15 (50% THF-$CHCl_3$). Elemental Analysis for $C_{14}H_{18}N_4O_8S$: calc'd: C, 41.79; H, 4.51; N, 13.92; S, 7.97. Found: C, 41.77; H, 4.50; N, 13.88; S, 7.94.

Example 22: 5-Amino-7-methoxy-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (14)



Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-methoxy-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (45)

In a manner similar to Example 13, step 2, 45 was prepared from 16 and methanol in 65% yield as a white foam: MS (+)-ES $[M+H]^+$ 499. R_f= 0.5 (75% Ethyl acetate-$CHCl_3$).

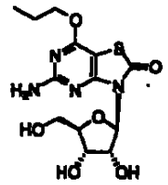
80

79

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

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 45 in 78% yield as a white solid: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.91 (s, 2H), 5.86 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.28 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.77 (m, 1H), 4.66 (m, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.75 (m, 1H), 3.56 (m, 1H), 3.43 (m, 1H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 331. R_f = 0.2 (50% THF-$CHCl_3$). Elemental Analysis for $C_{11}H_{14}N_4O_6S \cdot 0.25\ H_2O$: calc'd: C, 39.46; H, 4.37; N, 16.73; S, 9.58. Found: C, 39.59; H, 4.17; N, 16.55; S, 9.52.

Example 23: 5-Amino-7-propoxy-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (47)



Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-propoxy-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (46)

In a manner similar to Example 13, step 2, 46 was prepared from 16 and *n*-propanol in 65% yield as a white foam: MS (+)-ES $[M+H]^+$ 527. R_f = 0.55 (75% Ethyl acetate-$CHCl_3$).

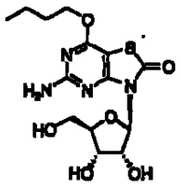
Step 2: Preparation of 5-Amino-7-propoxy-3-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (47)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 47 in 70% yield as a white solid: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.87 (s, 2H), 5.85 (J = 5.2 Hz, 1H), 5.28 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 4.80 (m, 1H), 4.66 (m, 1H), 4.29 (m, 2H), 4.08 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.56 (m, 1H), 3.42 (m, 1H), 1.71 (m, 2H), 0.92 (m, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 359. R_f = 0.3 (50% THF-$CHCl_3$). Elemental Analysis for $C_{13}H_{18}N_4O_6S$: calc'd: C, 43.57; H, 5.06; N, 15.63; S, 8.95. Found: C, 43.77; H, 5.29; N, 15.39; S, 8.81.

87

80

Example 24: 5-Amino-7-butoxy-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (49)



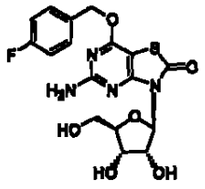
Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-butoxy-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one(48)

In a manner similar to Example 13, step 2, 48 was prepared from 16 and *n*-butanol in 64% yield as a white paste: MS (+)-ES $[M+H]^+$ 541. R_f = 0.65 (75% Ethyl acetate-$CHCl_3$).

Step 2: Preparation of 5-Amino-7-butoxy-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (49)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 48 in 72% yield as a white solid: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.87 (s, 2H), 5.85 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.28 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.95 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.77 (m, 1H), 4.34 (m, 1H), 4.07 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.41 (m, 1H), 1.63 (m, 2H), 1.31 (m, 2H), 0.92 (m, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 373. R_f = 0.25 (50% THF-$CHCl_3$). Elemental Analysis for $C_{14}H_{20}N_4O_6S$: calc'd: C, 45.15; H, 5.41; N, 15.04; S, 8.61. Found: C, 44.79; H, 5.34; N, 15.02; S, 8.60.

Example 25: 5-Amino-7-(4-fluorobenzyloxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo-[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (51)



Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-(4-fluorobenzyloxy)-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)thiazolo-[4,5-d]pyrimidin-2-one (50)

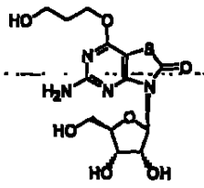
In a manner similar to Example 13, step 2, 50 was prepared was prepared from 16 and 4-fluorobenzyl alcohol. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.20 (m, 1H), 7.44 (m, 1H), 7.06 (m, 1H), 6.10 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.02 (dd, J = 3.0, 6.0 Hz, 1H),

5.92 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 5.48 (s, 2H), 4.51 (dd, J = 4.0, 6.0 Hz, 1H), 4.34 (m, 1), 4.23 (dd, J = 4.0, 8.0 Hz, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.04 (s, 3H).

Step 2: Preparation of 5-Amino-7-(4-fluorobenzyloxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo-[4,5-d]pyrimidin-2-one (51)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 50. ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.50 (m, 2H), 7.19 (m, 2H), 6.96 (s, 2H), 5.86 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.28 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.78 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 4.66 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.09 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.75 (q, J = 4.8 Hz, 1H), 3.57 (m, 1H), 3.42 (m, 1H).

Example 26: 5-Amino-7-(3-hydroxy-1-propoxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo-[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (53)



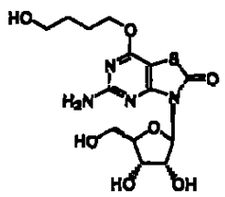
Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-(3-acetoxy-1-propoxy)-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)thiazolo-[4,5-d]pyrimidin-2-one (52)

In a manner similar to Example 13, step 2, 52 was prepared was prepared from 16 and 1,3-propanediol monoacetate (Dittmer, *JACS*, 79, 4431-35) (1957)). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.17 (s, 1H), 6.10 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.02 (dd, J = 2.8, 6.0 Hz, 1H), 5.89 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 4.56-4.89 (m, 3H), 4.34 (m, 1H), 4.26-4.20 (m, 3H), 2.46 (s, 3H), 2.15 (m, 2H), 2.13 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H).

Step 2: Preparation of 5-Amino-7-(3-hydroxy-1-propoxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo-[4,5-d]pyrimidin-2-one (53)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 52. ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.87 (s, 2), 5.86 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.28 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.78 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 4.67 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.53 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 4.40 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 4.09 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.75 (q, J = 4.8 Hz, 1H), 3.57 (m, 1H), 3.50 (q, J = 6.4 Hz, 2H), 3.42 (m, 1H), 1.83 (m, 2H).

Example 27: 5-Amino-7-(4-hydroxy-1-butoxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo-[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (55)



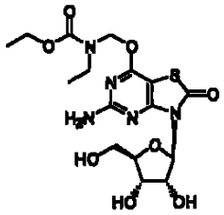
Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-(4-acetoxy-1-butoxy)-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)thiazolo-[4,5-d]pyrimidin-2-one (54)

In a manner similar to Example 13, step 2, 54 was prepared was prepared from 16 and 1,4-butanediol monoacetate (Clarke, *Tet. Lett.*, 43(27), 4761-64 (2002)). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.15 (s, 1H), 6.10 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.02 (dd, J = 3.2, 6.4 Hz, 1H), 5.89 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 4.50 (m, 3H), 4.32 (m, 1H), 4.24 (dd, J = 6.4, 12.0 Hz, 1H), 4.13 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 2.45 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.88 (s, 3H), 1.78 (m, 2H).

Step 2: Preparation of 5-Amino-7-(4-hydroxy-1-butoxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo-[4,5-d]pyrimidin-2-one (55)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 54. ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.87 (s, 2H), 5.85 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.29 (s, 1H), 4.98 (s, 1H), 4.79 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 4.67 (s, 1H), 4.43 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 4.35 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 4.09 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 3.75 (q, J = 4.8 Hz, 1H), 3.57 (m, 1H), 3.42 (m, 3H), 1.72 (m, 2H), 1.50 (m, 2H).

Example 28: (5-Amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosyl-2,3-dihydro-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-7-yloxymethyl)-ethyl-carbamic acid ethyl ester (58)



Step 1: Preparation of N-ethyl-N-(hydroxymethyl)urethane (56)

Under general experimental conditions reported by Kelper, *JOC*, 52, 453-55 (1987), a slurry of $Ba(OH)_2$ (46.0 mg, 266 μmol) in water (480 μL) was added to a mixture of *N*-ethylurethane (2.04 mL, 17.1 mmol) and a 37% aqueous solution of formalin (1.28 mL, 17.1 mmol) in one portion with stirring. The mixture became cool and gradually formed a cloudy solution. The mixture was stirred at room

temperature and the disappearance of *N*-ethylurethane monitored by TLC analysis. After 2 h, the reaction was quenched by adding solid CO_2, stirred for 30 minutes and filtered to remove the precipitated barium carbonate. The solvent was removed under vacuum to provide an oily residue. The trace amounts of water were removed by azeotropic distillation with benzene (3 x 100 mL) to provide 56 as a clear oil (2.50 g, quant.): ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4.88 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.79 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 4.18 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 3.40 (q, J = 6.4 Hz, 2H), 1.30 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 1.19 (t, J = 7.6 Hz, 3H).

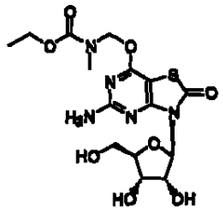
Step 2: Preparation of 5-Acetylamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-2,3-dihydro-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-7-yloxymethyl)-ethyl-carbamic acid ethyl ester (57)

In a manner similar to Example 13, step 2, compound 57 was prepared from 16 and 56 as a white solid in 24% yield: R_f = 0.4 (33% EtOAc-$CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 11.49 (br s, 1H), 6.08 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.75 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 5.53 (s, 2H), 4.49 (dd, J = 13.5, 8.4 Hz, 1H), 4.30 (m, 5H), 3.62 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 1.36 (t, J = 6.8 Hz, 3H), 1.20 (t, J = 6.8 Hz, 3H); $[M+H]^+$ 614.2.

Step 3: Preparation of (5-Amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosyl-2,3-dihydro-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-7-yloxymethyl)-ethyl-carbamic acid ethyl ester (58)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 57 as a white solid in 30% yield: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.89 (br s, 2H), 5.82 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.49 (m, 3H), 5.32 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.01 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.82 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 4.69 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.20 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 4.11 (q, J = 5.6 Hz, 2H), 3.78 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.45 (m, 1H), 1.27 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.09 (t, J = 6.0 Hz, 3H); $[M+H]^+$ 446.3.

Example 29: (5-Amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosyl-2,3-dihydro-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-7-yloxymethyl)-methyl-carbamic acid ethyl ester (61)



Step 1: Preparation of N-methyl-N-(hydroxymethyl)urethane (59)

In a manner similar to Example 28, step 1, compound 59 was prepared from *N*-methylurethane and formalin as a thick oil in quantitative yield: ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5.02 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.79 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 4.18 (q, J = 4.4 Hz, 2H), 3.01 (s, 3H), 1.30 (t, J = 7.6 Hz, 3H).

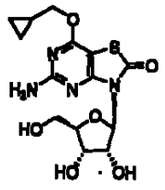
Step 2: Preparation of (5-Amino-2-oxo-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-2,3-dihydro-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-7-yloxymethyl)-methyl-carbamic acid ethyl ester (60)

In a manner similar to Example 13, step 2, compound 60 was prepared from 16 and 59 as a white solid in 24% yield: R_f = 0.4 (33% EtOAc-$CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 11.49 (br s, 1H), 6.08 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.75 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 5.53 (s, 2H), 4.49 (dd, J = 13.5, 8.4 Hz, 1H), 4.30 (m, 5H), 3.62 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 1.36 (t, J = 6.8 Hz, 3H), 1.20 (t, J = 6.8 Hz, 3H); $[M+H]^+$ 614.2.

Step 3: Preparation of (5-Amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosyl-2,3-dihydro-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-7-yloxymethyl)-methyl-carbamic acid ethyl ester (61)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 60 as a white solid in 20% yield: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.86 (br s, 2H), 5.82 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.47 (s, 2H), 5.31 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.00 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.82 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 4.67 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 4.18 (q, J = 6.4 Hz, 2H), 4.12 (m, 1H), 3.78 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 3.30 (s, 3H), 1.27 (t, J = 6.8 Hz, 3H); $[M+H]^+$ 432.3.

Example 30: 5-Amino-7-cyclopropylmethoxy-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (63)



Step 1: Preparation of 5-Amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-3H-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (25)

To a suspension of 1 (5.00 g, 15.8 mmol) in acetonitrile (160 mL) at 0 °C was added successively Et_3N (11.0 mL, 79.0 mmol), DMAP (195 mg, 1.59 mmol), and Ac_2O (4.47 mL, 47.4 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h, whereupon it was concentrated to a brown syrup. The residue

was purified by flash column chromatography (silica, MeOH/$CHCl_3$ = 1-10%) to afford 6.22 g (89%) of triacetate 25 as a white solid: mp 198-199 °C; ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.34 (s, 1H), 7.02 (br s, 2H), 5.90 (m, 2H), 5.51 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.36 (dd, J = 12.4, 3.2 Hz, 1H), 4.21 (m, 1H), 4.08 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 2.06 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.00 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 443.3.

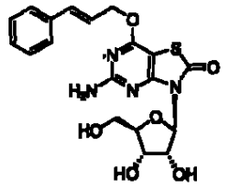
Step 2: Preparation of 5-Amino-7-cyclopropylmethoxy-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (62)

To a heterogeneous mixture of the above triacetate 25 (1.49 g, 3.37 mmol), Argonaut polymer supported-triphenylphosphine resin (5.98 g, 10.1 mmol), and cyclopropylmethyl carbinol (546 uL, 6.74 mmol) in THF (70 mL) at 0 °C was added DEAD (742 uL, 4.72 mmol). The reaction mixture was warmed to room temperature, stirred 16 h, then filtered through a short pad of SiO_2. The concentrated filtrate was chromatographed (SiO_2, gradient elution, 0-5% EtOAc-$CHCl_3$), affording 680 mg (42%) of a white solid: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.95 (s, 2H), 5.99 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.91 (dd, J = 6.2, 4.0 Hz, 1H), 5.55 (dd, J = 6.6, 6.2 Hz, 1H), 4.37 (dd, J = 12.1, 3.7 Hz, 1H), 4.22-4.26 (m, 1H), 4.19 (d, J = 7.0 Hz, 2H), 4.09 (dd, J = 11.7, 5.9 Hz, 1H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.20-1.26 (m, 1H), 0.53-0.58 (m, 2H), 0.31-0.35 (m, 2H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 497. Elemental Analysis calc'd for $C_{20}H_{24}N_4O_9S$: C, 48.38; H, 4.87; N, 11.28; S, 6.46. Found: C, 48.53; H, 4.99; N, 11.27; S, 6.18.

Step 3: Preparation of 5-Amino-7-cyclopropylmethoxy-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (63)

To a suspension of 62 (570 mg, 1.18 mmol) in MeOH was added K_2CO_3 (50 mg, 0.36 mmol) at room temperature. The reaction mixture was stirred 1 h, concentrated, partitioned between 20% IPA-$CHCl_3$ and water, and then triturated with Et_2O to afford 128 mg (29%) of 63 as a white solid: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.86 (s, 2H), 5.85 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 5.27 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 4.77 (q, J = 5.5 Hz, 1H), 4.66 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 4.18 (dd, J = 7.3, 1.1 Hz, 1H), 4.09 (q, J = 5.5 Hz, 1H), 3.75 (q, J = 5.1 Hz, 1H), 3.39-3.60 (m, 2H), 1.20-1.27 (m, 1H), 0.53-0.57 (m, 2H), 0.31-0.34 (m, 2H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 371. Elemental Analysis calc'd for $C_{14}H_{18}N_4O_6S$: C, 45.40; H, 4.90; N, 15.13; S, 8.66. Found: C, 44.98; H, 4.92; N, 14.92; S, 8.49.

Example 31: 5-Amino-7-(3-phenyl-allyloxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (66)



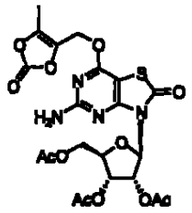
Step 1: Preparation of 5-Amino-7-(3-phenyl-allyloxy)-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (64)

In a manner similar to Step 2 of Example 25, compound 64 was prepared from 25 and cinnamyl alcohol in a 69% yield: MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 601.

Step 2: Preparation of 5-Amino-7-(3-phenyl-allyloxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (65)

In a manner similar to Steps 3 of Example 25, the title compound was prepared from 64 in a 19% yield as a white solid: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.46 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.34 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.23-7.27 (m, 1H), 6.93 (s, 2H), 6.74 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 6.45-6.53 (m, 1H), 5.86 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 5.28 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 5.04 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 4.79 (q, J = 5.5 Hz, 1H), 4.67 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.09 (q, J = 5.1 Hz, 1H), 3.76 (q, J = 4.8 Hz, 1H), 3.30-3.60 (m, 2H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 433. Elemental Analysis calc'd for $C_{19}H_{20}N_4O_6S$: C, 52.77; H, 4.66; N, 12.96; S, 7.41. Found: C, 52.28; H, 4.66; N, 12.66; S, 7.27.

Example 32: 5-Amino-7-(5-methyl-2-oxo-[1,3]dioxol-4-ylmethoxy)-3-(2',3',5'-tri-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (66)

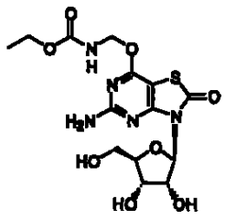


To a solution of triacetate 25 (1.55 g, 3.50 mmol) in THF (50 mL) at 0 °C was added polymer supported-triphenylphosphine (4.95 g, 10.50 mmol, Argonaut). To this mixture was added 4-hydroxymethyl-5-methyl-[1,3]dioxol-2-one (0.91 g, 7.00 mmol), prepared according to the procedure of Alepegiani, *Syn. Comm.*, 22(9), 1277-82 (1992) Diethyl azodicarboxylate (0.73 ml, 4.60 mmol) was then added dropwise. The resulting mixture was stirred at room temperature for 48 h, filtered

87

and washed with MeOH and $CHCl_3$. The filtrate was concentrated and purified by flash column chromatography (silica, acetone/$CHCl_3$ = 10-20%) to afford dioxolone derivative 66 (1.38 g, 71%) as white solid: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) 66; δ 7.06 (s, 2H), 6.00 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.92 (dd, J = 6.6, 4.4 Hz, 1H), 5.56 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 5.30 (s, 2H), 4.38 (dd, J = 11.6, 3.6 Hz, 1H), 4.25 (t, J = 3.6 Hz, 1H), 4.10 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 2.23 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.00 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 555.3. Elemental Analysis calc'd for $C_{21}H_{22}N_4O_{12}S \cdot Me_2CO$: C, 47.06; H, 4.61; N, 9.15; S, 5.23. Found: C, 47.25; H, 4.37; N, 9.53; S, 5.52.

Example 33: (5-Amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosyl-2,3-dihydro-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-7-yloxymethyl)-carbamic acid ethyl ester (68)



Step 1: Preparation of 5-Amino-3-(2',3',5'-tris-O-triethylsilanyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (26)

To a suspension of 1 (1.00 g, 3.16 mmol) in DMF (20 mL) at room temperature was added successively imidazole (753 mg, 11.06 mmol), DMAP (39 mg, 0.32 mmol), and chlorotriethylsilane (1.64 mL, 9.80 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h, whereupon it was quenched by saturated $NaHCO_3$ solution (20 mL). The mixture was extracted with $CHCl_3$ (3 x 20 mL), dried over $MgSO_4$ and concentrated. The residue was purified by flash column chromatography (silica, MeOH/$CHCl_3$ = 1-5%) to afford 1.91 g (92%) of compound 26 as a white solid: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 5.99 (s, 1H), 5.62 (br s, 2H), 5.19 (dd, J = 4.4, 6.0 Hz, 1H), 4.35 (dd, J = 2.8, 4.4 Hz, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.77 (dd, J = 7.6, 10.8 Hz, 1H), 3.68 (dd, J = 4.8, 10.4 Hz, 1H), 1.10 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 0.96 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 0.89 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 0.68 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 0.61 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 0.54 (m, 2H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 660.0.

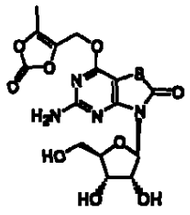
Step 2: Preparation of 5-Amino-3-(2',3',5'-tris-O-triethylsilanyl-β-D-ribofuranosyl)- 2,3-dihydro-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-7-yloxymethyl)-carbamic acid ethyl ester (67)

In a manner similar to Step 2 of Example 13, compound 67 was prepared from 26 and *N*-ethylurethane as a white solid in 31% yield: $[M+H]^+$ 760.5; ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.43 (br s, 2H), 6.09 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.94 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.31 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H), 5.19 (dd, *J* = 6.0, 4.8 Hz, 1H), 4.35 (dd, *J* = 4.8, 2.8 Hz, 1H), 4.19 (q, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.98 (m, 1H), 3.76 (dd, *J* = 10.8, 7.6 Hz, 1H), 3.68 (dd, *J* = 10.4, 4.8 Hz, 1H), 1.29 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.02 (t, *J* = 8.0 Hz, 3H), 0.96 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 0.90 (t, *J* = 8.0 Hz, 3H), 0.69 (q, *J* = 8.0 Hz, 2H), 0.61 (q, *J* = 8.0 Hz, 2H), 0.55 (m, 2H); $[M+H]^+$ 760.5.

Step 3: Preparation of (5-Amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosyl-2,3-dihydro-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-7-yloxymethyl)-carbamic acid ethyl ester (68)

A solution of 67 (244 mg, 321 μmol), 5M HF in pyridine (321 μL, 1.60 mmol) and THF (3.20 mL) were stirred at room temperature for 5 h. Removal of the solvents under vacuum left a residue that was purified by flash chromatography (SiO_2, 10% MeOH-$CHCl_3$) to afford 68 (119 mg, 90%) as a white solid: ^1H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.43 (br s, 1H), 7.76 (br s, 2H), 5.82 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 5.78 (s, 2H), 5.32 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 5.24 (dd, *J* = 6.0, 4.8 Hz, 1H), 5.00 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.82 (q, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.68 (t, *J* = 6.0, 1H), 4.11 (q, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.09 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.78 (q, *J* = 5.6 Hz, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 1.21 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); $[M+H]^+$ 418.2.

Example 34: 5-Amino-7-(5-methyl-2-oxo-[1,3]dioxol-4-ylmethoxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (70)



Step 1: Preparation of 5-Amino-7-(5-methyl-2-oxo-[1,3]dioxol-4-ylmethoxy)-3-(2',3',5'-tris-O-triethylsilanyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (69)

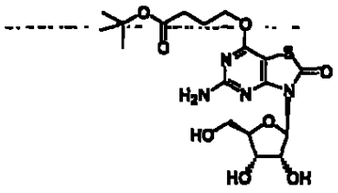
In a manner similar to Example 32, compound 69 was prepared from 26 and 4-hydroxymethyl-5-methyl-[1,3]dioxol-2-one as a white solid in 45% yield: ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.06 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.21 (dd, *J* = 6.0, 4.8 Hz, 1H), 5.18 (d, *J* = 3.2 Hz, 2H), 4.94 (br s, 2H), 4.38 (dd, *J* = 4.8, 2.8 Hz, 1H), 4.00 (m,

1H), 3.79 (dd, J = 11.2, 8.0 Hz, 1H), 3.69 (dd, J = 10.8, 5.2 Hz, 1H), 2.23 (s, 3H), 1.02 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.96 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 0.89 (t, J = 8.4 Hz, 3H), 0.70 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 0.61 (q, J = 8.0 Hz, 2H), 0.53 (m, 2H); $[M+H]^+$ 771.5.

Step 2: Preparation of 5-Amino-7-(5-methyl-2-oxo-[1,3]dioxol-4-ylmethoxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (70)

In a manner similar to Steps 3 of Example 33, the title compound was prepared from 69 as a white solid in 89% yield: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.03 (br s, 2H), 5.90 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.33 (s, 2H), 5.02 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 4.83 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 4.71 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.14 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.80 (q, J = 4.8 Hz, 1H), 3.62 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 2.27 (s, 3H); $[M+H]^+$ 429.2.

Example 35: 4-(5-Amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-7-yloxy)-butyric acid *tert*-butyl ester (72)



Step 1: Preparation of 4-(5-Amino-2-oxo-3-(2',3',5'-tris-O-triethylsilanyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-7-yloxy)-butyric acid tert-butyl-ester (71)

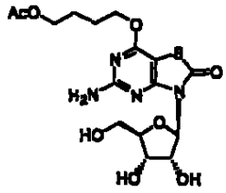
In a manner similar to Step 2 of Example 13, compound 71 was prepared from 26 and 4-hydroxy-butyric acid tert-butyl-ester (Lui, *JOC*, 68(17), 6679-6684 (2003)) as a white solid in 92% yield: ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.06 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 5.22 (dd, J = 6.0, 4.8 Hz, 1H), 4.98 (br s, 2H), 4.42 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 4.38 (dd, J = 6.0, 4.8 Hz, 1H), 4.00 (m, 1H), 3.80 (dd, J = 10.8, 7.6 Hz, 1H), 3.69 (dd, J = 10.8, 5.2 Hz, 1H), 2.38 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.06 (quint, J = 7.2 Hz, 3H), 1.47 (s, 9H), 1.02 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.96 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.88 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.70 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 0.61 (q, J = 8.0 Hz, 2H), 0.53 (m, 2H); $[M+H]^+$ 801.5.

Step 2: Preparation of 4-(5-Amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-7-yloxy)-butyric acid tert-butyl-ester (72)

In a manner similar to Steps 3 of Example 33, the title compound was prepared from 71 as a white solid in 66% yield: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.93 (br s, 2H), 5.90 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.32 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.10 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.83 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 4.71 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.38 (t, J = 6.4 Hz, 2H),

4.13 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 3.80 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 3.62 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 2.35 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.96 (quint, J = 6.8 Hz, 2H), 1.44 (s, 9H); $[M+H]^+$ 459.3.

Example 36: 5-Amino-7-(4-acetoxy-1-butoxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo-[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (74)



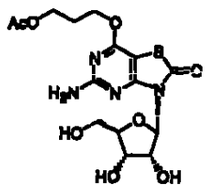
Step 1: Preparation of 5-amino-7-(4-acetoxy-1-butoxy)-3-(2',3',5'-tris-O-triethylsilanyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (73)

In a manner similar to Example 13, step 2, 73 was prepared was prepared from 26 and 1,4-butanediol monoacetate as a white solid in 81% yield: ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.06 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.23 (dd, J = 5.6, 5.2 Hz, 1H), 4.93 (br s, 2H), 4.41 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.37 (dd, J = 4.8, 2.8 Hz, 1H), 4.14 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.00 (m, 1H), 3.80 (dd, J = 11.2, 7.6 Hz, 1H), 3.69 (dd, J = 10.8, 4.8 Hz, 1H), 2.07 (s, 3H), 1.85 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.02 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 0.96 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.88 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 0.70 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 0.61 (q, J = 8.0 Hz, 2H), 0.56 (m, 2H); $[M+H]^+$ 773.5.

Step 2: Preparation of 5-amino-7-(4-acetoxy-1-butoxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (74)

A solution of 73 (188 mg, 243 μmol) and 1M HF in acetonitrile (1.22 mL, 1.22 mmol) were stirred at room temperature for 18 h. Removal of the solvents under vacuum left a residue that was purified by flash chromatography (SiO_2, 10% MeOH-$CHCl_3$) to afford 74 (91.1 mg, 88%) as a white solid: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.93 (br s, 2H), 5.90 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.32 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.01 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.83 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 4.71 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.41 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 4.14 (q, J = 4.8 Hz, 1H), 4.07 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 3.80 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 3.62 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 2.04 (s, 3H), 1.80 (m, 2H), 1.71 (m, 2H); $[M+H]^+$ 431.3.

Example 37: 5-Amino-7-(4-acetoxy-1-propoxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo-[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (76)



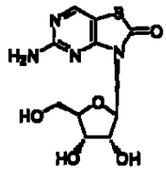
Step 1: Preparation of 5-amino-7-(4-acetoxy-1-propoxy)-3-(2',3',5'-tris-O-triethylsilanyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (75)

In a manner similar to Example 13, step 2, 75 was prepared was prepared from 26 and 1,3-propanediol monoacetate as a white solid in 70% yield: ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.06 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 5.23 (dd, J = 6.4, 4.8 Hz, 1H), 4.93 (br s, 2H), 4.46 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.38 (dd, J = 4.4, 2.4 Hz, 1H), 4.22 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.00 (m, 1H), 3.80 (dd, J = 10.8, 7.6 Hz, 1H), 3.69 (dd, J = 10.8, 5.2 Hz, 1H), 2.12 (quint, J = 6.4 Hz, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.02 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.96 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.88 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.70 (q, J = 8.4 Hz, 2H), 0.61 (q, J = 8.4 Hz, 2H), 0.54 (m, 2H); $[M+H]^+$ 759.5.

Step 2: Preparation of 5-amino-7-(4-acetoxy-1-propoxy)-3-β-D-ribofuranosyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (76)

In a manner similar to Example 36, step 2, 76 was prepared was prepared from 75 as a white solid in 92% yield: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.94 (br s, 2H), 5.90 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.32 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.00 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 4.83 (q, J = 4.8 Hz, 1H), 4.71 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.46 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.14 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.80 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.62 (dd, J = 11.2, 8.0 Hz, 1H), 3.47 (dd, J = 11.2, 6.0 Hz, 1H), 2.06 (quint, J = 6.4 Hz, 2H), 2.04 (s, 3H); $[M+H]^+$ 417.2.

Example 38: 5-Amino-3-β-D-ribofuranosyl-3*H*-thiazolo-[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (79)



Step 1: Preparation of 5-Amino-7-thioxo-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (77)

To a solution of 25 (1 g, 2.26 mmol) in pyridine (50 mL) was added at room temperature P_2S_5 (2.13 g, 4.79 mmol). The solution was refluxed gently (bath

93

92

temperature 130 – 140 °C) for 29 h. The reaction mixture was evaporated to dryness in vacuo. The excess P_2S_5 was decomposed by the addition of H_2O (40 mL) at 60 °C. The mixture was stirred for 1 h at 60 °C and then cooled to room temperature. The mixture was extracted with $CHCl_3$ (3 x 40 mL). The dried ($MgSO_4$) organic layer was evaporated to yield a syrup, which was purified by flash column chromatography (silica, acetone/$CHCl_3$ = 15%) to afford 0.93 g (90%) of 77 as a yellow solid: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 12.50 (s, 1H), 7.35 (br s, 2H), 5.89 (m, 2H), 5.51 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 4.36 (dd, J = 12.0, 4.0 Hz, 1H), 4.24 (m, 1H), 4.10 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.01 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 459.3.

Step 2: Preparation of 5-Amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-3H-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (78)

A suspension of Raney® 2800 nickel (3 big spatula, pre-washed with H_2O, MeOH and acetone) in acetone (50 mL) was stirred at refluxing for 1 h. Triacetate 77 (0.93 g, 2.03 mmol) was subsequently added into the above suspension at reflux. The mixture was stirred for 5 min, cooled to room temperature over 30 min. The reaction was quenched by bubbling H_2S (g) into the mixture for 2 h. The resulting mixture was filtered through a short pad of Celite® and washed with EtOH. The filtrate was concentrated and purified by flash column chromatography (silica, MeOH/$CHCl_3$ = 1-2%) to afford 0.52 g (60%) of 78 as a white solid: mp 121-123 °C; ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.38 (s, 1H), 6.93 (s, 2H), 6.03 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 5.93 (dd, J = 6.4, 3.6 Hz, 1H), 5.58 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.38 (dd, J = 11.6, 3.6 Hz, 1H), 4.26 (m, 1H), 4.11 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 2.08 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.00 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 427.2. Elemental Analysis calc'd for $C_{16}H_{18}N_4O_8S \cdot 0.5$ $CH_3OH \cdot 0.25$ H_2O: C, 44.34; H, 4.62; N, 12.54; S 7.17. Found: C, 44.54; H, 4.88; N, 12.16; S, 7.17.

Step 3: Preparation of 5-Amino-3-β-D-ribofuranosyl-3H-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (79)

To a solution of 78 (0.52 g, 1.22 mmol) in MeOH (20 mL) was added K_2CO_3 (25 mg, 0.18 mmol). The reaction was stirred at room temperature overnight, then neutralized with AcOH (21 μL, 0.36 mmol). The resulting mixture was stirred at room temperature for additional 30 min, concentrated, and triturated with H_2O (2 ml) to afford 0.33 g of compound 79 (89%) as a white solid: mp 220 °C (Dec); ^1H

(400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.34 (s, 1H), 6.85 (s, 2H), 5.90 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.31 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.98 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.81 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 4.67 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.11 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.77 (dd, J = 10.8, 4.8 Hz, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.44 (m, 1H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 301.1. Elemental Analysis calc'd for $C_{10}H_{12}N_4O_5S \cdot 0.3\ H_2O$: C, 39.29; H, 4.15; N, 18.33; S 10.49. Found: C, 39.51; H, 4.18; N, 17.95; S, 10.27.

Example 39: 5-Amino-3-β-D-ribofuranosyl-3*H*-thiazolo-[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (79)

Alternative synthetic route A

Step 1: Preparation of 5-Amino-7-chloro-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (80)

To a solution of 25 (0.84 g, 1.90 mmol) in $CHCl_3$ (9 mL) was added triethylamine (0.50 mL, 3.59 mmol) and $POCl_3$ (1.60 mL, 17.1 mmol). After heating at reflux for 16 h, the reaction mixture was cooled to room temperature and poured onto ice and sat. aq. $NaHCO_3$ (150 mL). The resulting mixture was extracted with CH_2Cl_2 (3 x 75 mL) and the combined organic layers dried ($MgSO_4$). Concentration followed by flash chromatography (9:1/ CH_2Cl_2:EtOAc) afforded 708 mg (87%) of product as a white solid, m.p. 101-103 °C. ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.10 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 6.01 (dd, J = 5.6, 3.2 Hz, 1H), 5.92 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 5.42 (s, 2), 4.97 (dd, J = 11.6, 3.6 Hz, 1H), 4.32 (m, 1), 4.21 (dd, J = 12.0, 5.2 Hz, 1H), 2.12 (s, 6H), 2.06 (s, 3H).

Step 2: Preparation of 5-Amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-3H-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (78)

A flame-dried round bottom flask was charged with 80 (4.37 g, 9.48 mmol) and glacial acetic acid (61 mL). The flask was sealed with a septum and flushed with nitrogen. Zinc-copper couple (6.07 g, Aldrich) was added and the reaction stirred at room temperature for a period of 21 h. The reaction was then heated to 80 °C for 1 h. The reaction mixture was cooled to room temperature, filtered thru a pad of Celite®, washed with EtOAc (200 mL) and concentrated under vacuum. The resulting white solid (residue) was diluted with CH_2Cl_2 (250 mL) and washed with 0.5 M NaOH (500 mL). The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (2 x 150 mL) and the combined organic layers were dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated. Purification by flash chromatography (SiO_2, 5% Acetone-CH_2Cl_2) afforded 78 (3.64

g, 90 %) as a white powder identical in all respects to material isolated in Example 38, step 2.

Step 3: Preparation of 5-Amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-3H-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (79)

The preparation of the title compound is described in Example 38, step 3.

Example 40: 5-Amino-3-β-D-ribofuranosyl-3*H*-thiazolo-[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (79)

Alternative synthetic route B

Step 1: Preparation of 5-Acetylamino-7-chloro-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (81)

Phosphorus oxychloride (6.42 mL, 70.2 mmol) was added dropwise to a solution of 16 (3.40 g, 7.02 mmol), triethylamine (1.96 mL, 14.04 mmol), and chloroform (14 mL) over 30 minutes at room temperature under nitrogen. The reaction mixture was then heated to 70 °C for 30 h. The mixture was cooled to ambient temperature, added dropwise over 2 h to a 0 °C solution of saturated aq. $NaHCO_3$ (500 mL), and stirred for an additional 1 h. The layers were separated, aqueous layer back extracted with methylene chloride (2 x 100 mL), combined organic layers were dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated to a yellow solid. Purification was achieved via flash chromatography (SiO_2, 5% Acetone-$CHCl_3$) to afford 81 (3.17 g, 90%) as a white solid: ^1H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.08 (s, 1H), 6.09 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.99 (dd, J = 6.0, 4.0 Hz, 1H), 5.76 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 4.41 (dd, J = 11.2, 3.2 Hz, 1H), 4.32 (td, J = 7.2, 3.2 Hz, 1H), 4.24 (dd, J = 11.6, 6.8 Hz, 1H), 2.18 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.03 (s, 3H); $[M+H]^+$ 503.3.

Step 2: Preparation of 5-Acetylamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (82)

10% Palladium on carbon (862 mg) was added to a solution of 81 (2.07 mg, 4.12 mmol), sodium acetate (675 mg, 8.23 mmol) and absolute ethanol (100 mL) under nitrogen. The mixture was stirred under 250-300 psi H_2 (g) in a bomb for a period of 48 h. The mixture was filtered through Celite®, washed with ethyl acetate (200 mL), and concentrated to a yellow solid. The mixture was diluted with H_2O (200 mL) and extracted with CH_2Cl_2 (3 x 100 mL). The combined organic layers were dried ($MgSO_4$), filtered, and concentrated. The residue was purified via Flash chromatography (SiO_2, 10% Acetone-$CHCl_3$) to afford 82 (1.74 g, 90%) as a white

powder: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 10.78 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 6.10 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 6.04 (dd, J = 6.0, 4.0 Hz, 1H), 5.77 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.41 (dd, J = 11.6, 3.2 Hz, 1H), 4.30 (m, 1H), 4.23 (dd, J = 12.0, 6.8 Hz, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.03 (s, 3H); $[M+H]^+$ 469.4.

Step 3: Preparation of 5-Amino-3-β-D-ribofuranosyl-3H-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (79)

In a manner similar to Example 13, step 3, the title compound was prepared from 82.

Example 41: 5-Amino-3-β-D-ribofuranosyl-3*H*-thiazolo-[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (79)

Alternative synthetic route C

Step 1: Preparation of N'-(7-Chloro-2-oxo-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-2,3-dihydro-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-5-yl)-N,N-dimethyl-formamidine (83a)

Thionyl chloride (2.58 mL, 35.4 mmol) was added dropwise over 1 h to a mixture of 16 (500 mg, 1.03 mmol) and DMF (1.29 mL, 16.7 mmol) in $CHCl_3$ (28 mL) at room temperature under N_2. The reaction mixture was heated to 60 °C for a period of 23 h. The mixture was carefully poured into an ice-cold sat. $NaHCO_3$ solution and stirred for 30 minutes. The layers were separated, the aqueous layer extracted with CH_2Cl_2 (2 x 80 mL) and the combined organic layers were dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated to afford 83a (519 mg, quant.) as a white foam: ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.65 (s, 1H), 6.14 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.97 (dd, J = 6.4, 3.6 Hz, 1H), 5.62 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 4.43 (dd, J = 12.0, 3.6 Hz, 1H), 4.32 (m, 1H), 4.16 (dd, J = 12.0, 5.2 Hz, 1H), 3.23 (s, 3H), 3.11 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.02 (s, 3H); $[M+H]^+$ 516.1.

Step 1a: Preparation of N'-(7-Bromo-2-oxo-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-2,3-dihydro-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-5-yl)-N,N-dimethyl-formamidine (83b)

Thionyl bromide (11.2 mL, 145 mmol) was added dropwise over 1 h to a mixture of 16 (2.34 g, 4.83 mmol), DMF (5.61 mL, 72.5 mmol), $CHCl_3$ (50 mL), and toluene (55 mL) at room temperature under N_2. The reaction mixture was heated to 110 °C for a period of 20 h. The mixture was carefully poured into an ice-cold sat. $NaHCO_3$ solution and stirred for 1 h. The layers were separated, the

aqueous layer extracted with CH_2Cl_2 (2 x 80 mL) and the combined organic layers were dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated to a yellow residue. The product was purified by flash chromatography (SiO_2, 20% Acetone-$CHCl_3$) to afford 83b (1.53 g, 57%) as a white foam: ^1H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.64 (s, 1H), 6.12 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 5.96 (dd, J = 6.4, 3.2 Hz, 1H), 5.61 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 4.42 (dd, J = 8.8, 3.2 Hz, 1H), 4.31 (m, 1H), 4.16 (dd, J = 12.4, 5.6 Hz, 1H), 3.23 (s, 3H), 3.11 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.02 (s, 3H); $[M+H]^+$ 560.2.

Step 2: Preparation of 5-Amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-3H-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (78)

A flame-dried round bottom flask was charged with 83a (1.08 g, 2.11 mmol) and glacial acetic acid (21 mL). The flask was sealed with a septum and flushed with nitrogen. Zinc dust (1.38 g, 21.1 mmol) was added and the reaction heated to 80 °C for 48 h. The reaction mixture was cooled to room temperature, filtered thru a pad of Celite®, washed with EtOAc (100 mL) and concentrated under vacuum. The resulting white solid (residue) was diluted with CH_2Cl_2 (100 mL) and washed with sat. aqueous $NaHCO_3$ (500 mL). The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (2 x 50 mL) and the combined organic layers were dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated. Purification by flash chromatography (SiO_2, 5% Acetone-CH_2Cl_2) afforded 78 (464 mg, 52 %) as a white powder identical in all respects to material isolated in Example 38, step 2.

Step 3: Preparation of 5-Amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-3H-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (79)

The preparation of the title compound is described in Example 38, step 3.

Example 42: 5-Amino-3-β-D-ribofuranosyl-3*H*-thiazolo-[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (79)

Alternative synthetic route D

Step 1: Preparation of 4-Chloro-2-oxo-2,3-dihydro-thiazole-5-carbaldehyde(85)

Compound 85, originally synthesized by Baranov, et al, *Chem. Het. Compounds* (Engl. Trsl.), 1975, 11, p.73 was prepared using a modification of the procedure reported. Commercially available 2,4-thiazolidinedione 84 (25.0 g, 213 mmol) was suspended in $POCl_3$ (59 ml, 641 mmol) cooled to 0 °C with an ice bath to cool. DMF (24.8 mL, 320 mmol) was added drop wise to the reaction over 15 min. The reaction was heated to 90 °C for 2 h then at 115 °C for 20 min. After 20

97

minutes, the reaction was cooled to 90 °C and maintained for an additional hour. After 1 h the mixture was heated to 115°C for 15 min. The hot reaction mixture was poured into 1L of water with vigorously stirring. After 10 min the mixture is filtered. The aqueous phase was extracted 5 times with ethyl ether (600 mL) and the organic phase was separated and concentrated under vacuum. The solid residue was dissolved in a minimum volume of aq. sat.. $NaHCO_3$. The mixture was carefully acidified with 6M HCl to pH = 2, whereupon a precipitate forms after about 30 min. Filtration yields 20.9 gm of compound 85 in 62% yield: R_f = 0.3 (2%H_2O, 8% Methanol, 90% Ethyl acetate); ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.79 (s, 1H), 8.95 (s, 1H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 164.

Step 2: Preparation of 5-Amino-3H-thiazol[4,5-d]pyrimidin-2-one (86)

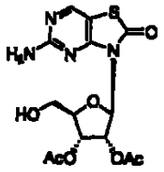
Compound 85 (1.22 g, 7.47 mmol), guanidine hydrochloride (2.13 g, 22.4 mmol), K_2CO_3 (1.03 g, 7.47 mmol), and $NaHCO_3$ (1.88 g, 22.3 mmol) was suspended in DMF and heated for two days at 110 °C. Upon consumption of the starting material as determined by TLC, the solvent was removed under vacuum. The solid residue was triturated with water. An analytically pure sample of 86 was obtained by HPLC (ODS-A C18; 3-97% CH_3CN/H_2O gradient; 1.0 mL/min). Tan solid: HPLC R_t = 1.63 min; R_f = 0.45 (2% H_2O, 8% Methanol, 90% Ethyl acetate); ^1H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.11 (s, 1H), 6.67 (s, 2H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 169; Elemental analysis for $C_5H_4N_4OS \cdot 0.1\ CH_3CN \cdot 0.1\ H_2O$: calc'd: C, 35.88; H, 2.61; N, 32.99; S, 18.42. Found: C, 35.96; H, 2.75; N, 32.56; S, 18.42.

Step 3: Preparation of 5-Amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-3H-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (79)

Compound 86 (62 mg, 0.4 mmol), 1,2,3,5-tetra-*O*-acetyl-β-D-ribofuranose tetraacetate (128 mg, 0.4 mmol), and catalytic bis(p-nitrophenyl) hydrogen phosphate (13 mg, 0.04 mmol) were mixed and placed in a 500ml flask. The reaction vessel was carefully placed under vacuum (~ 5.0 mmHg) and lowered into an oil bath heated at 150 °C for 10 minutes. After cooling to room temperature, the solids were washed with ethyl acetate. The crude product was purified by flash column. (silica, 5 to 35% ethyl acetate gradient in chloroform) to yield 68 mg of compound 79 (40%) as a white solid as a white powder identical in all respects to material isolated in Example 38, step 2.

97
98

Example 43: 5-Amino-3-(2',3'-di-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-3*H*-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (89)



Step 1: Preparation of 5-Amino-3-(5'-O-tert-butyl-dimethylsilanyl-β-D-ribofuranosyl)-3H-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (87)

To a solution of 79 (0.68 g, 2.28 mmol) in DMF (10 mL) was added imidazole (0.54 g, 7.93 mmol) and tert-butyldimethylsilyl chloride (0.68 g, 4.56 mmol) sequentially. The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h, at which point it was concentrated and purified by flash column chromatography (silica, MeOH/$CHCl_3$; gradient = 5-20%) to afford 0.49 g (52%) 87 as a white solid: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.33 (s, 1H), 6.87 (s, 2H), 5.90 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.33 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.00 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.79 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 4.16 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.77 (m, 2H), 3.64 (dd, J = 12.0, 7.2 Hz, 1H), 0.84 (s, 9H), 0.00 (s, 6H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 415.4.

Step 2: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-di-O-acetyl, 5'-O-tert-butyl-dimethylsilanyl-β-D-ribofuranosyl)-3H-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (88)

To a solution of 87 (0.20 g, 0.48 mmol) in acetonitrile (5 mL) at 0 °C was added successively Et_3N (0.26 mL, 1.86 mmol) and Ac_2O (91 μL, 0.96 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 24 h, whereupon it was concentrated and purified by flash column chromatography (silica, acetone/$CHCl_3$: gradient = 5-10%) to afford 0.22 g (92%) of 88 as a white solid: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.36 (s, 1H), 6.90 (s, 2H), 6.00 (m, 2H), 5.57 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.07 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.77 (m, 2H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 0.83 (s, 9H), 0.00 (d, J = 2.4 Hz, 6H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 499.5.

Step 3: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-di-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-3H-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (89)

To a solution of 88 (0.22 g, 0.44 mmol) in THF (5 mL) in a plastic vial was added HF/pyridine (0.70 mL). The reaction was stirred for 2h, concentrated and purified by flash column chromatography (silica, MeOH/$CHCl_3$: gradient = 5-10%) to afford 0.17 g (100%) of the title compound as a white solid: mp 109-111 °C; ^1H

(400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.37 (s, 1H), 6.91 (s, 2H), 6.00 (m, 2H), 5.48 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.91 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.04 (dd, J = 10.4, 6.0 Hz, 1H), 3.64 (m, 1H), 3.52 (m, 1H), 2.08 (s, 3H), 2.05 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 385.3. Elemental Analysis calc'd for $C_{14}H_{16}N_4O_7S \cdot 0.5\ CH_3OH \cdot 0.2\ CHCl_3$: C, 41.61; H, 4.32; N, 13.21; S 7.56: Found: C, 41.73; H, 4.29; N, 12.86; S, 7.33.

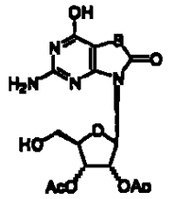
Example 44: 5-Amino-3-(2',3'-di-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-3*H*-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2-one (89)

Alternative synthetic route A

Step 1: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-di-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-3H-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2-one (89)

To a clear solution of 78 (500 mg) in acetone (5 mL) was added sodium phosphate buffer (pH = 7.0, 0.1 M, 25 mL), upon which the solution became cloudy (white precipitate). *Candida antarctica* lipase resin (250 mg) was added to the mixture and the suspension was subsequently gently shaken for 10 h at room temperature. The resulting clear mixture was filtered, and organic solvent was removed under vacuum. The aqueous solution was then extracted with ethyl acetate (3 x 25 mL) and the organic layers were combined, dried over $MgSO_4$, and concentrated. The resulting solid could be further purified in a manner similar to that described in Example 43, step 3.

Example 45: 5-Amino-3-(2',3'-di-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2,7-dione (92)



Step 1: Preparation of 5-Amino-3-(5'-O-tert-butyl-dimethylsilanyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (90)

To a mixture of 1 (12.0 g, 37.9 mmol) and imidazole (7.75 g, 114 mmol) in DMF was added tert-butyldimethylsilyl chloride l (5.72 g, 37.9 mmol) as a solution in DMF (25 mL). TLC analysis (20% MeOH-$CHCl_3$) indicated that reaction proceeded to ~60% completion. Additional tert-butyldimethylsilyl chloride (5.72 g, 37.9 mmol) was added portion-wise until the reaction was complete, whereupon it

was quenched with MeOH (10 mL), and then concentrated to a brown residue. The residue was dissolved in EtOAc (800 mL), and then washed with water (3 x 200 mL). The organic phase was dried over anhydrous Na_2SO_4-charcoal, and then filtered through a short pad of SiO_2 to give a solution that was concentrated to a tan solid. Trituration of the crude product with Et_2O provided 90 12.41 g (76%) as a white solid: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.16 (s, 1H), 6.92 (br s, 2H), 5.77 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 5.27 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 4.95 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 4.73 (dd, J = 9.9, 5.1 Hz, 1H), 4.11 (dd, J = 10.6, 5.1 Hz, 1H), 3.70-3.76 (m, 2H), 3.59-3.64 (m, 1H), 0.84 (s, 9H), 0.0 (s, 6H).

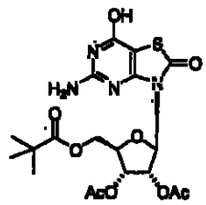
Step 2: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-di-O-acetyl, 5'-O-tert-butyl-dimethylsilanyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (91)

To a homogeneous solution of diol 90 (2.44 g, 5.67 mmol) and Et_3N (2.37 mL, 17.0 mmol) in MeCN (40 mL) was added sequentially Ac_2O (1.06 mL, 11.3 mmol) and DMAP (69 mg, 0.57 mmol). The reaction mixture was stirred 3 h, then concentrated and chromatographed (SiO_2, gradient elution, 40-60% EtOAc-$CHCl_3$), affording 1.2 g (41%) of 91 as a white solid: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.25 (s, 1H), 7.96-8.00 (m, 1H), 7.54-7.57 (m, 2H), 7.24-7.28 (m, 2H) 6.96 (br s, 2H), 6.12 (s, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.39-5.41 (m, 1H), 5.01-5.04 (m, 1H), 4.12-4.17 (m, 1H), 3.48-3.59 (m, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 515.

Step 3: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-di-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (92)

To a homogeneous solution of 91 (1.2 g, 2.3 mmol) in THF (20 mL) was added 1.0 M tetrabutylammonium fluoride in THF (4.7 mL, 4.7 mmol). The reaction mixture was stirred 16 h, then concentrated and chromatographed to afford 800 mg (86%) of a white solid: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.25 (s, 1H), 6.97 (br s, 2H), 5.95 (dd, J = 5.9, 4.4 Hz, 1H), 5.89 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.41 (t, J = 6.2 Hz, 1H), 4.90 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 4.00 (q, J = 5.9 Hz, 1H), 3.48-3.64 (m, 2H), 2.06 (s, 3H), 2.04 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 401.

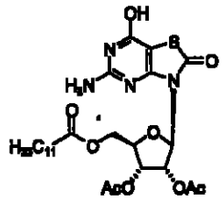
Example 46: 5-Amino-3-(2',3'-di-*O*-acetyl-5'-*O*-pivalyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2,7-dione (93)



Step 1: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-di-O-acetyl-5'-O-ptvalyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (93)

In a manner similar to Example 30, step 1, compound 93 was prepared from 92 and pivalic anhydride in a 21% yield as a white solid: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.27 (s, 1H), 6.98 (br s, 2H), 5.88-5.91 (m, 2H), 5.55 (dd, J = 7.0, 5.9 Hz, 1H), 4.29 (dd, J = 12.1, 4.0 Hz, 1H), 4.18-4.27 (m, 1H), 4.11 (dd, J = 12.1, 5.1 Hz, 1H), 2.06 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.13 (s, 9H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 485. Elemental Analysis calc'd for $C_{19}H_{24}N_4O_9S \cdot 0.75\ H_2O$: C, 45.82; H, 5.16; N, 11.25; S, 6.44. Found: C, 45.93; H, 5.20; N, 11.29; S, 6.44.

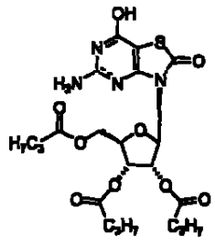
Example 47: 5-Amino-3-(2',3'-di-*O*-acetyl-5'-*O*-lauryl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2,7-dione (94)



Step 1: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-di-O-acetyl-5'-O-lauryl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (94)

In a manner similar to Example 30, step 1, compound 94 was prepared from 92 and lauric anhydride in 59% yield as a white solid: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.26 (s, 1H), 6.97 (br s, 2H), 5.87-5.91 (m, 2H), 5.51 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 4.36 (dd, J = 12.1, 3.5 Hz, 1H), 4.18-4.22 (m, 1H), 4.08 (dd, J = 12.1, 5.9 Hz, 1H), 2.27 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 2.06 (s, 6H), 1.46-1.50 (m, 1H), 1.17-1.28 (m, 16H), 0.85 (t, J = 6.0 Hz, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 583. Elemental Analysis calc'd for $C_{26}H_{38}N_4O_9S$: C, 52.55; H, 6.49; N, 9.25; S, 5.29. Found: C, 52.58; H, 6.57; N, 9.49; S, 5.38.

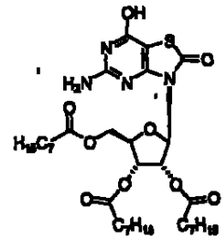
Example 48: 5-Amino-3-(2',3',5'-tri-*O*-butyryl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2,7-dione (95)



Step 1: Preparation of 5-Amino-3-(2',3',5'-tri-O-butyryl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (95)

In a manner similar to Example 30, step 1, compound 95 was prepared from 1 and butyric anhydride. Purification by column chromatography (SiO_2, 40% EtOAc-$CHCl_3$) and trituration with Et_2O-hexanes to afforded a white solid in 17% yield: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.27 (s, 1H), 6.97 (br s, 2H), 5.87-5.91 (m, 2H), 5.54 (dd, J = 12.8, 6.2 Hz, 1H), 4.37 (dd, J = 12.1, 3.7 Hz, 1H), 4.18-4.22 (m, 1H), 4.10 (dd, J = 12.1, 5.9 Hz, 1H), 2.25-2.38 (m, 6H), 1.47-1.59 (m, 6H), 0.84-0.91 (m, 9H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 527. Elemental Analysis calc'd for $C_{22}H_{30}N_4O_9S$: C, 50.18; H, 5.74; N, 10.64; S, 6.09. Found: C, 50.18; H, 5.64; N, 10.56; S, 6.02.

Example 49: 5-Amino-3-(2',3',5'-tri-*O*-capryl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2,7-dione (96)

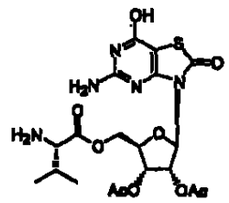


Step 1: Preparation of 5-Amino-3-(2',3',5'-tri-O-capryl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (96)

In a manner similar to Example 30, step 1, compound 96 was prepared from 1 and caprylic anhydride in a 30% yield as a white solid: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.28 (s, 1H), 6.96 (br s, 2H), 5.87-5.92 (m, 2H), 5.35 (dd, J = 12.8, 6.2 Hz, 1H), 4.35 (dd, J = 11.7, 3.3 Hz, 1H), 4.17-4.21 (m, 1H), 4.09 (dd, J = 11.7, 5.9 Hz, 1H), 2.24-2.39 (m, 6H), 1.48-1.53 (m, 6H), 1.22-1.25 (m, 2H), 0.82-0.87 (m, 9H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 695. Elemental Analysis calc'd for $C_{34}H_{54}N_4O_9S$: C, 58.77; H, 7.83; N, 8.06; S, 4.61. Found: C, 58.65; N, 7.92; N, 7.98; S, 4.55.

103

Example 50: 5-Amino-3-(2',3'-di-*O*-acetyl-5'-*O*-L-valinyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2,7-dione hydrochloride (98)



Step 1: Preparation of 5-Amino-3-[2',3'-di-O-acetyl-5'-O-(N-tert-butoxycarbonyl-L-valinyl])-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (97)

To a suspension of 3 (2.00 g, 4.09 mmol) in MeCN (10 mL) at room temperature was added Et_3N (1.14 mL, 8.19 mmol). The resultant mixture was stirred 30 min, treated with di-*tert*-butyldicarbonate (894 mg, 4.09 mmol), and then stirred 16 h. To this mixture were added sequentially Et_3N (1.40 mL, 10.0 mmol) and Ac_2O (950 uL, 10.0 mmol). After 3 h, the mixture was concentrated, partitioned between EtOAc (200 mL) and water (100 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4, concentrated, and then chromatographed (SiO_2, 80% EtOAc-CHCl3), providing a white foam. The foam was triturated in $CHCl_3$-Et_2O-hexanes to give 1.38 g of diacetate 97 as a white solid: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.29 (s, 1H), 7.05 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.99 (br s, 2H), 5.91 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 5.50 (s, 1H), 4.34 (dd, J = 11.0, 2.2 Hz, 1H), 4.13-4.23 (m, 2H), 3.84 (dd, J = 8.1, 6.6 Hz, 1H), 2.06 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.97-2.03 (m, 1H), 1.35 (s, 9H), 0.82 (d, J = 6.6 Hz, 6H); MS (-)-ES $[M-H]^+$ *m/z* 598.

Step 2: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-di-O-acetyl-5'-O-L-valinyl-β-D-ribofuranosyl)- thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione hydrochloride (98)

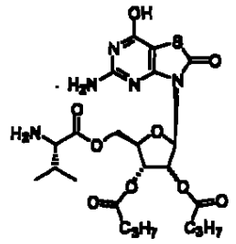
To a mixture of 4 M HCl in dioxane (50 mL) and *i*-PrOAc was added solid 97 (1.35 g, 2.25 mmol). The resultant solution formed a heterogeneous mixture within several minutes. After 1 h, the suspension was filtered, washed with Et_2O, and then dried under high vacuum to afford 0.66 g (55%) of a white solid: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.46 (s, 1H), 8.40 (s, 3H), 7.19 (br s, 2H), 4.46 (dd, J = 12.5, 3.7 Hz, 1H), 4.28-4.44 (m, 2H), 3.85 (s, 1H), 3.68 (br s, 1H), 2.13-2.24 (m, 1H), 2.08 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 0.95 (d, J = 7.3 Hz, 3H), 0.91 (d, J = 6.6 Hz, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 498. Elemental analysis calc'd for $C_{19}H_{25}N_5O_9S \cdot 1.0\ HCl \cdot 1.0\ H_2O$:

TDS

104

C, 41.19; H, 5.09; Cl, 6.40; N, 12.64; S, 5.79. Found: C, 41.52; H, 5.01; Cl, 6.64; N, 12.85; S, 5.85.

Example 51: 5-Amino-3-(2',3'-di-*O*-butyryl-5'-*O*-L-valinyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2,7-dione hydrochloride (100)



Step 1: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-di-O-butyryl-5'-N-tert-butoxycarbonyl-L-valinyl)-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (99)

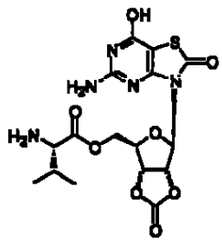
In a manner similar to Example 49, step 1, 99 was prepared was prepared from 3 and butyric anhydride as a white waxy solid in 62% yield: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.27 (s, 1H), 7.05 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.97 (br s, 2H), 5.92 (dd, J = 6.6, 3.7 Hz, 1H), 5.88 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 4.35 (dd, J = 11.7, 2.9 Hz, 1H), 4.13-4.23 (m, 2H), 3.84 (dd, J = 8.1, 6.6 Hz, 1H), 2.24-2.39 (m, 4H), 1.98-2.03 (m, 1H), 1.46-1.59 (m, 4H), 1.35 (s, 9H), 0.85-0.91 (m, 12H); MS (-)-ES $[M-H]^+$ *m/z* 654.

Step 2: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-di-O-butyryl-5'-O-L-valinyl-β-D-ribofuranosyl)- thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione hydrochloride (100)

In a manner similar to Step 2 of Example 49 was prepared the title compound in a 60% yield as a white solid: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.48 (s, 1H), 8.42 (s, 3H), 7.19 (br s, 2H), 6.00 (dd, J = 6.6, 4.4 Hz, 1H), 5.92 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 5.57 (dd, J = 12.5, 5.9 Hz, 1H), 4.47 (dd, J = 12.5, 2.9 Hz, 1H), 4.35-4.40 (m, 1H), 4.27-4.31 (m, 1H), 3.83-3.85 (m, 1H), 2.28-2.40 (m, 4H), 2.14-2.25 (m, 1H), 1.46-1.60 (m, 4H), 0.83-0.96 (m, 12H); MS (-)-ES $[M-H]^+$ *m/z* 554. Elemental Analysis calc'd for $C_{23}H_{33}N_5O_9S \cdot 1.1\ HCl \cdot 0.5\ H_2O$: C, 45.68; H, 5.85; Cl, 6.45; N, 11.58; S, 5.30. Found: C, 45.34; H, 5.70; Cl, 6.59; N, 11.62; S, 5.42.

Example 52: 5-Amino-3-(2',3'-*O*-carbonyl-5'-*O*-L-valinyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2,7-dione hydrochloride (102)

100
105



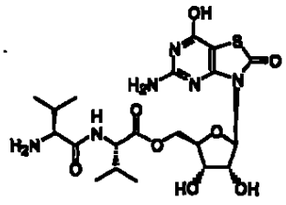
Step 1: Preparation of 5-Amino-3-[2',3'-O-carbonyl-5'-O-(N-tert-butoxycarbonyl-L-valinyl)-β-D-ribofuranosyl)]-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (101)

In a manner similar to Example 49, step 1, 101 was prepared was prepared from 3 and triphosgene as a white solid in 54% yield: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.34 (s, 1H), 7.09 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.06 (br s, 2H), 6.12 (s, 1H), 5.83 (d, J = 8.1, 1H), 5.67-5.72 (m, 1H), 4.46-4.51 (m, 1H), 4.23-4.32 (m, 2H), 3.82 (dd, J = 13.9, 5.9 Hz, 1H), 1.94-1.99 (m, 1H), 1.34 (s, 9H), 0.81 (d, J = 6.6 Hz, 6H); MS (-)-ES $[M-H]^+$ *m/z* 540.

Step 2: Preparation of 5-Amino-3-(2',3'-O-carbonyl-5'-O-L-valinyl-β-D-ribofuranosyl)- thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione hydrochloride (102)

In a manner similar to Example 49, step 2, 102 was prepared was prepared in 65% yield as a white solid: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.51 (s, 1H), 8.36 (s, 3H), 7.25 (br s, 2H), 6.13 (s, 1H), 5.88 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 5.76-5.82 (m, 2H), 4.39 (dd, J = 10.3, 2.9 Hz, 1H), 3.86 (s, 1H), 3.41-3.54 (m, 1H), 2.01-2.32 (m, 1H), 0.91 (d, J = 7.3 Hz, 3H), 0.85 (d, J = 6.6 Hz, 3H); MS (-)-ES $[M-H]^+$ *m/z* 440. Elemental Analysis calc'd for $C_{16}H_{19}N_5O_8S \cdot 1.1\ HCl \cdot 0.5\ H_2O \cdot 0.75\ Et_2O$: C, 40.21; H, 4.22; Cl, 7.42; N, 14.66; S, 6.71. Found: C, 41.48; H, 5.08; Cl, 7.16; N, 12.75; S, 5.79.

Example 53: 5-Amino-3-(5'-*O*-(L-valinyl-L-valinyl)-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2,7-dione hydrochloride (104)



107

106

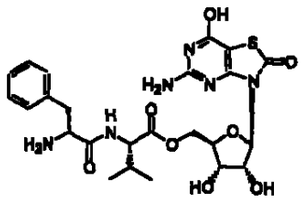
Step 1: Preparation of 5-Amino-3-[2',3'-O-isopropylidene-5'-O-(N-tert-butoxycarbonyl-L-valinyl-L-valinyl)-β-D-ribofuranosyl]-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (103)

To a heterogeneous mixture of Boc-Val-Val-OH (3.00 g, 9.48 mmol) and EDC (1.82 g, 9.48 mmol) in DCE (22.5 mL) at room temperature was added pyridine (7.5 mL). Upon becoming homogeneous, the mixture was stirred 1 h at room temperature, and then cooled to 0 °C. To this solution was added sequentially 2 (3.07 g, 8.62 mmol) and DMAP (1.16 g, 9.48 mmol). The reaction mixture was stirred 30 min at 0°C, and then 16 h at room temperature. The mixture was evaporated to dryness, and then partitioned between EtOAc (200 mL) and water (100 mL). The organic phase was dried over anhydrous Na_2SO_4, concentrated, chromatographed (SiO_2, gradient elution 60% EtOAc-$CHCl_3$ to 100% EtOAc), and concentrated to a sticky solid. Trituration of the solid in Et_2O-$CHCl_3$ provided 2.048 g (36%) of 103 as a crystalline solid: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.63 (s, 1H), 11.37 (s, 1H), 11.25 (s, 1H), 7.92 (dd, J = 13.2, 8.1 Hz, 1H), 6.98 (br s, 2H), 6.61 (dd, J = 11.7, 8.8 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 5.23-5.27 (m, 1H), 5.05 (br s, 1H), 4.10-4.35 (m, 3H), 3.76-3.90 (m, 2H), 3.57-3.60 (m, 1H), 1.80-2.06 (m, 2H), 1.47 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.29 (s, 3H), 0.77-0.86 (m, 12 H); $[M-H]^+$ m/z 653.

Step 2: Preparation of 5-Amino-3-(5'-O-[L-valinyl-L-valinyl]-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidine-2,7-dione hydrochloride (104)

To a mixture of 4 M HCl in dioxane (50 mL) and *i*-PrOAc was added solid 103 (1.48 g, 2.26 mmol). The resultant solution formed a heterogeneous mixture within several minutes. After 1 h, the suspension was filtered, washed with Et_2O, and then dried under high vacuum to afford 948 mg (74%) of 104 as a white solid: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.29 (s, 1H), 8.52 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 8.06 (br s, 3H), 7.03 (br s, 2H), 5.79 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.42 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 5.13 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 4.71 (dd, J = 9.9, 5.5 Hz, 1H), 4.35 (dd, J = 11.7, 3.3 Hz, 1H), 4.18-4.22 (m, 2H), 4.06 (dd, J = 11.7, 8.0 Hz, 1H), 3.88-3.92 (m, 1H), 3.69 (s, 1H), 2.02-2.13 (m, 2H), 0.87-0.92 (m, 12H); MS (-)-ES $[M-H]^+$ *m/z* 513.

Example 54: 5-Amino-3-(5'-*O*-(L-phenylalinyl-L-valinyl)-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2,7-dione hydrochloride (106)



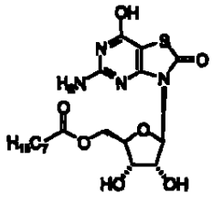
Step 1: Preparation of 5-Amino-3-[2',3'-O-isopropylidene-5'-O-(N-tert-butoxycarbonyl-L-phenylalinyl-L-valinyl)-β-D-ribofuranosyl]-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (105)

In a manner similar to Step 1 of Example 52 was prepared the title compound in a 64% yield as a white solid: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.24 (s, 1H), 8.00-8.08 (m, 1H), 7.22-7.23 (m, 4H), 7.13-7.16 (m, 1H), 6.98 (br s, 2H), 6.83-6.87 (m, 1H), 6.02 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 5.25-5.28 (m, 1H), 5.06 (s, 1H), 4.12-4.34 (m, 4H), 2.88-2.94 (m, 1H), 2.66-2.75 (m, 1H), 1.97-2.04 (m, 1H), 1.46 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 1.17-1.28 (m, 14H), 0.77-0.85 (m, 6H); MS (-)-ES $[M-H]^+$ *m/z* 701.

Step 2: Preparation of 5-Amino-3-(5'-O-[L-phenylalinyl-L-valinyl]-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione hydrochloride (106)

In a manner similar to Step 2 of Example 52 was prepared the title compound in a 74% yield as a white solid: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.32 (s, 1H), 8.72 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.16 (br s, 3H), 7.19-7.28 (m, 5H), 7.09 (br s, 2H), 5.79 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.20 (br s, 3H), 4.70 (dd, J = 5.5, 4.4 Hz, 1H), 4.36 (dd, J = 11.7, 3.3 Hz, 1H), 4.03-4.24 (m, 3H), 3.90-3.94 (m, 1H), 3.09 (dd, J = 14.0, 5.9 Hz, 1H), 2.92 (dd, J = 14.0, 7.7 Hz, 1H), 2.01-2.10 (m, 1H), 0.89 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.88 (d, J = 6.6 Hz, 3H); MS (-)-ES M^+ m/z 562.

Example 55: 5-Amino-3-(5'-*O*-capryl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-2,7-dione hydrochloride (109)



Step 1: Preparation of 5-Amino-3-[2',3'-O-(4-fluorobenzylidene)-β-D-ribofuranosyl]-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (107)

To a homogeneous solution of the 90 (750 mg, 1.74 mmol) and 4-fluorobenzaldehyde (1.86 mL, 17.4 mmol) in THF was added H_2SO_4 (1 drop). The

107

108

resultant mixture was stirred 16 h, whereupon a precipitate had formed. Filtration afforded 360 mg (49%) of benzylidene acetal 107 as a yellow solid: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.24 (s, 1H), 7.96-8.00 (m, 1H), 7.54-7.57 (m, 2H), 7.24-7.28 (m, 2H), 6.96 (br s, 2H), 6.12 (s, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.39-5.41 (m, 1H), 5.01-5.04 (m, 1H), 4.12-4.17 (m, 1H), 3.48-3.59 (m, 3H); MS (+)-ES [M+H]+ m/z 423.

Step 2: Preparation of 5-Amino-3-[2',3'-O-(4-fluorobenzylidene)-5'-caprylaxy-β-D-ribofuranosyl]-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (108)

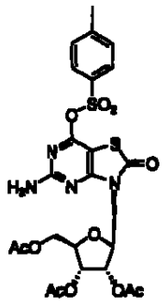
To a heterogeneous mixture of 107 (360 mg, 0.605 mmol), Et_3N (278 uL, 2.00 mmol), and DMAP (5 mg, 0.04 mmol) in MeCN (5 mL) was added caprylic anhydride (180 uL, 0.605 mmol). The reaction mixture was stirred 16 h, whereupon it was concentrated and chromatographed (SiO_2, gradient elution 40-60% EtOAc-$CHCl_3$), affording 407 mg (87%) of 108 as a white solid: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.28 (s, 1H), 7.56 (dd, J = 8.4, 6.2 Hz, 2H), 7.25 (dd, J = 9.2, 8.8 Hz, 2H), 7.00 (br s, 2H), 6.14 (s, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.39 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 5.15-5.18 (m, 1H), 4.27-4.35 (m, 2H), 4.14 (dd, J = 11.4, 7.7 Hz, 1H), 2.26 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 1.45-1.47 (m, 2H), 1.20-1.23 (m, 8H), 0.82 (t, J = 5.9 Hz, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 549.

Step 4: Preparation of 5-Amino-3-(5'-O-capryl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-2,7-dione (109)

A mixture of 108 (200 mg, 0.365 mmol) and PPTS (5 mg, 0.02 mmol) in MeOH (40 mL) was heated to 45 °C for 20 min, concentrated and submitted to HPLC purification affording 69 mg (43%) of the title compound as a white solid: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.18 (s, 1H), 6.93 (br s, 2H), 5.77 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.35 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 5.08 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.67 (dd, J = 9.9, 5.3 Hz, 1H), 4.30 (dd, J = 11.9, 3.7 Hz, 1H), 4.21 (dd, J = 12.1, 6.4 Hz, 1H), 3.98 (dd, J = 11.9, 6.8 Hz, 1H), 3.84-3.88 (m, 1H), 2.27 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 1.47-.150 (m, 2H), 1.19-1.25 (m, 8H), 0.84 (t, J = 6.8 Hz, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ *m/z* 443. Elemental Analysis calc'd for $C_{18}H_{26}N_4O_7S \cdot 1.0\ H_2O$: C, 46.71; H, 5.78; N, 11.47; S, 6.56. Found: C, 46.62; H, 6.09; N, 12.01; S, 6.89.

109

Example 56: (5-Amino-3-(2',3',5'-tri-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-2,3-dihydro-thiazolo[4,5-*d*]pyrimidin-7-yl)-toluene-4-sulfonic acid-ester (110)



Step 1: 5-Amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-thiazolo[4,5-d]pyrimidin-7-(4-toluenesulfonyloxy)-2-one (110)

Compound 25 (250 mg, 0.56 mmol) was dissolved in CH_2Cl_2 (10 mL) and DMAP (3.4 mg, 0.028 mmol) and the TEA (0.24 mL, 1.70 mmol) were added. To this mixture was added *p*-toluenesulfonyl chloride (21.5 mg, 113 mmol) in aliquots of one fifth of one equivalent every 40 min. The progress of the reaction was monitored by TLC. After 3 h most of the starting material was consumed. The crude reaction mixture was passed through a silica plug, concentrated and purified by flash column using 25% ethyl acetate in chloroform. The product was dissolved in ethyl ether and upon the addition of hexanes compound 16 (190 mg, 0.32 mmol) precipitated as a white solid: ^{1}H NMR (400MHz, d_6-DMSO) δ 8.00 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.47 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.35 (s, 2H), 5.97 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.86 (m, 1H), 5.52 (m, 1H), 4.35 (m, 1H), 4.24 (m, 1H), 4.08 (m, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.97 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 597. R_f = 0.65 (75% Ethyl acetate-$CHCl_3$). Elemental Analysis for $C_{23}H_{24}N_4O_{11}S$: calc'd: C, 46.30; H, 4.05; N, 9.39; S, 10.75. Found: C, 46.54; H, 4.27; N, 9.19; S, 10.44.

BIOLOGICAL TESTING

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

110

to reveal the advantages of Formula I compounds with respect to pharmacokinetic and pharmacodynamic properties.

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

The normal mouse provides a useful system for the assessment of the degree to which the inventions described herein provide material improvement in the oral delivery of 1 (isatoribine). Not only can one measure the plasma concentrations of isatoribine arising from oral administration of the said prodrug(s) but also the extensive immunological research conducted in the mouse has provided reagents suitable for measuring the levels of interferon alpha, a cytokine of interest reflecting one of the desired biologic activities of isatoribine.

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

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

Table 1

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

Time, h	Individual Value			Mean	SD
First Dose					
0.00	BQL[50]	BQL[125]	BQL[50]	0.00	0.00
0.03	BQL[25]	BQL[250]	BQL[25]	0.00	0.00
0.08	BQL[25]	BQL[25]	BQL[25]	0.00	0.00
0.25	BQL[50]	BQL[25]	BQL[25]	0.00	0.00
0.50	BQL[25]	BQL[25]	BQL[25]	0.00	0.00
1.00	BQL[25]	BQL[25]	BQL[25]	0.00	0.00
1.50	BQL[100]	BQL[25]	BQL[25]	0.00	0.00
2.00	BQL[25]	BQL[75]	BQL[25]	0.00	0.00
3.00	BQL[25]	BQL[25]	BQL[25]	0.00	0.00
4.00	BQL[25]	BQL[25]	BQL[25]	0.00	0.00
Second Dose					
4.03	BQL[25]	BQL[25]	BQL[25]	0.00	0.00
4.08	BQL[25]	BQL[25]	BQL[25]	0.00	0.00
4.25	BQL[25]	BQL[25]	BQL[25]	0.00	0.00

4.50	BQL^{50}	$BQL^{37.5}$	BQL^{50}	0.00	0.00
5.00	BQL^{50}	BQL^{50}	BQL^{50}	0.00	0.00
5.50	$BQL^{37.5}$	$BQL^{37.5}$	$BQL^{37.5}$	0.00	0.00
6.00	BQL^{50}	$BQL^{41.3}$	$BQL^{37.5}$	0.00	0.00
7.00	BQL^{50}	BQL^{50}	BQL^{50}	0.00	0.00
8.00	BQL^{50}	BQL^{25}	BQL^{50}	0.00	0.00

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

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

Table 2

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

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

5.50	BQL^{250}	BQL^{75}	BQL^{25}	0.00	0.00
6.00	BQL^{25}	BQL^{75}	BQL^{75}	0.00	0.00
7.00	BQL^{50}	BQL^{50}	BQL^{25}	0.00	0.00
8.00	BQL^{25}	BQL^{25}	BQL^{25}	0.00	0.00

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

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

Table 3

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

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

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

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

HA 113

interferon response from 4% to 30 % and the magnitude of both the average and peak response was increased twofold.

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

Beagle Dog

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

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

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

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

The pharmacokinetic parameters for isatoribine arising from isatoribine or val-isatoribine in each dog are summarized in Tables 4 and 5. The ratios for the key pharmacokinetic parameters defining the maximum concentration (Cmax) and total exposure as measured by the area under the time-concentration curve (AUC) for the prodrug and the bicarbonate solution at the 50 mg/kg dose are summarized in Table 6. For the prodrug 3, the Cmax ratio was 2.98 ± 0.695 and the AUC ratio was

2.38 ± 0.485. These results indicate that at 50 mg/kg dose, the prodrug val-isatoribine provided substantially higher Cmax and greater bioavailability than isatoribine in bicarbonate solution.

The ratios for the Cmax and AUC for the prodrug to the bicarbonate solution for the 10 mg/kg dose are summarized in Table 7. For the prodrug, the Cmax ratio was 2.24 ± 0.249 and the AUC ratio was 1.82 ± 0.529. These results indicate that at 10 mg/kg dose, the prodrug val-isatoribine provided higher Cmax and greater bioavailability than isatoribine in bicarbonate solution.

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

Table 4

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

	Dosing Period	1	2
	Formulation	Isatoribine	Val-isatoribine
Animal Number	Dose, mg/kg molar equivalent isatoribine	50	50
Dog 3517322	Cmax, ng/mL	3038.7	11741.5
	Tmax, h	0.50	0.50
	AUC(0-inf), ng·h/mL	15227.0	33038.1
	$T_{1/2}$, h	6.4	2.4
Dog 3521451	Cmax, ng/mL	3354.0	10652.1
	Tmax, h	1.00	1.00
	AUC(0-inf), ng·h/mL	9422.2	26552.7
	$T_{1/2}$, h	1.9	1.6
Dog 3528707	Cmax, ng/mL	8915.3	20340.6
	Tmax, h	0.50	0.50
	AUC(0-inf), ng·h/mL	29701.7	53273.0
	$T_{1/2}$, h	2.2	2.3

Dog 3532828	Cmax, ng/mL	6134.7	15987.9
	Tmax, h	0.50	0.50
	AUC(0-inf), ng·h/mL	12069.7	32987.0
	$T_{1/2}$, h	1.4	1.6

116

Table 5

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

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

Table 6

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

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

118

Table 7

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

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

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

119

Reduction of Gastrointestinal Irritancy

Formula I compounds of the invention also demonstrate unexpected and greatly reduced toxicology effects, and in particular reduced GI irritancy. The gastrointestinal ("GI") tract is lined with substantial immune tissue (e.g., Peyer's patches, etc.). Formula I compounds offer the prospect of masking the active structure as the agent passes through lymphoid tissue lining the gut, which should minimize activation of this tissue and thereby reduce GI irritancy.

Robins et al. have shown that elimination of the 5'-hydroxyl of isatoribine nucleoside eliminates activity. *See* Robins et al., *Adv. Enzyme Regul.*, 29, 97-121 (1989). Without being limited to any particular theory, it was hypothesized that blockade of this hydroxyl site by an ester substitution would similarly eliminate activity but allow transport in the systemic circulation, where the valine ester would be cleaved and result in exposure to isatoribine.

We have found that the hypothesis was confirmed. Formal toxicology studies of intravenously administered isatoribine and orally administered isatoribine and val- isatoribine were conducted in beagle dogs. The toxicology results for orally administered isatoribine are from a study conducted by ICN/Nucleic Acid Research Institute.

We compared in the dog the oral toxicology of 1 and 3, and the intravenous toxicology of 1. We observed that the oral toxicology of 3 was much more like intravenous 1 than it was like oral 1. In particular, the dose limiting toxicology of oral 3 was similar in nature to that of intravenous 1, and occurred at blood exposures that were similar to those observed after intravenous 1. In contrast, oral 1 had a different limiting toxicity (gastrointestinal lesions) and this toxicity was observed at a dose lower than the toxic dose of either intravenous 1 or oral 3. Also, emesis was observed in dogs treated with oral 1 at doses lower than the dose of oral 3 that resulted in emesis. *See* Table 8. Other systems for assessment of emesis also are known, such as in ferrets, allowing comparison of oral and intravenous administration of compounds. *See, e.g.*, Strominger N. et al., *Brain Res. Bull*, 5, 445-451 (2001).

In each case the compound was administered as a solution, by gavage or by intravenous infusion. Multiple parameters were assessed, as is customary in a toxicology study. In the studies providing higher potential exposure to isatoribine,

the plasma concentration of isatoribine was assessed by a LC/MS method. The notable GI findings were graded and are listed in Table 8.

TABLE 8

Effect on GI Tolerance in Dogs after Dosing of Isatoribine or Val-Isatoribine Ranked by Systemic Exposure (AUC) to Isatoribine in Toxicology Studies.

		Oral Isatoribine		IV Isatoribine		Oral Val-Isatoribine	
Isatoribine equivalent applied dose (mg/kg)	$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (µg•hr/ml)	Emesis or loose stool	GI lesions or irritation	Emesis or loose stool	GI lesions or irritation	Emesis or loose stool	GI lesions or irritation
2.5	n.d	Neg.	Neg.				
5	n.d.	+	Neg.				
10	n.d.	++	++				
8.1	11.4					Neg.	Neg.
16	15.6					Neg.	Neg.
12.5	19.5			Neg.	Neg.		
32	31.7					Neg.	Neg.
25	42.8			Neg.	Neg.		
64	71					Neg.	Neg.
130	75.3					+	Neg.
50	87.8			+	Neg.		
260	127					++	Neg.
390	180					+++	Neg.
100	209			++	Neg.		

For orally administered isatoribine the principal findings were related to GI tolerability as measured by GI irritancy. The clinical signs noted in Table 8 were emesis and/or loose stools. These clinical signs were more frequent in the 10 mg/kg group, and in one animal at this dose a bloody stool was noted. Gross histopathologic evaluation of the GI tract noted multiple, scattered red lesions on the

intestinal mucosa in four of eight dogs at 10 mg/kg, which on microscopic evaluation revealed cellular congestion and hemorrhage, as might be expected for an ongoing localized inflammatory process. The GI effects established the NOAEL as 5 mg/kg.

Intravenously administered isatoribine resulted in emesis and/or loose stools as a common finding in dogs; this effect occurred at substantially higher applied doses than orally administered isatoribine. No lesions were seen in the GI tract either at necropsy or histopathologic evaluation of tissues. The GI toxicity did not affect the NOAEL, which was established as 12.5 mg/kg on the basis of other findings.

Orally administered val-isatoribine demonstrated a toxicology profile similar to intravenously administered isatoribine. At higher applied doses, emesis and loose stools were observed. No GI lesions were found, although this was a focus of evaluation in this study. As for intravenously administered isatoribine, the NOAEL was established on the basis of other findings. The correspondence of observed toxicity to systemic exposures of isatoribine is of interest in this study; the threshold of isatoribine AUC for observation of emesis and loose stools is similar for intravenously administered isatoribine and orally administered val-isatoribine (Table 8).

The data in Table 8 indicate that orally administered val-isatoribine provides an improved toxicity profile over orally administered isatoribine, and is consistent with the hypothesis that chemical masking of the activity of isatoribine is afforded by chemically substituting an ester for one of the hydroxyls of the nucleoside, preferably by chemically substituting an ester at the 5'-hydroxyl position of the nucleoside. Engineering this substitution to be cleavable upon entry into the body affords systemic exposure to the useful activity of the compound without the limiting GI toxicity arising from the anatomical structure of the GI tract. This enables administration of doses that are substantially higher on a molar basis than otherwise would be acceptable, with the result of greater efficacy and reduced side effects when compared to administration of the parental "unmasked" compound alone.

Assessment of Systemic Exposure to 1 (isatoribine) after Oral Dosing of Formula I Compounds

Table 9

116

122

Pharmacokinetic Parameters for Formula I Compounds when R^1=H

	Pharmacokinetic Parameters		
Compound	Caco2 (nm/s)	Monkey Hepatocytes (%)	Monkey PK ((ng/ml)*hr)/(mg/kg)
79	100	10	390
89	200	45	560
78	600	20	630

Caco2 assay

In vitro drug transport assays using differentiated and P-glycoprotein-expressing Caco2 cell monolayers are widely used to predict absorption rates of candidate drug compounds across the intestinal epithelial cell barrier. See, e.g., Hilgers, A. R. et al., *Pharm. Res.*, 20(8), 1149-55 (Aug. 2003).

Caco-2 cells (obtained from ATCC) are grown to confluency on permeable membranes in chambers allowing access to both the apical and basolateral sides of the membrane. The intact nature of the resulting cellular membrane is assessed using transepithelial electrical resistance. The test compound is added at a known concentration to the apical side of the membrane and the rate of appearance of the compound on the basolateral side of the membrane is assessed by analysis using either HPLC or LC-MS/MS. Higher transport rates in Caco-2 cells are associated with improved gastrointestinal absorption.

The purpose of the assessment of compounds 79, 89, and 78 in this system was to determine if 89 and 78 were transported to a greater extent than 79. The findings confirm that 89 and 78 show significantly improved transport over 79.

Primary Hepatocytes

The compounds of the present invention must be converted to 1 in the body if they are to serve as effective prodrugs. Hepatocyes often are used to assess the degree to which a compound may be transformed in the body of an animal, and it is known that such transformations may vary with hepatocytes from different species in a way that reflects metabolism in the whole animal. See Seddon T. et al., *Biochem Pharmacol.*, 38(10), 1657-65 (May 1989).

123

Cynomolgus monkey hepatocytes were purchased from a commercial supplier and used within 48 hours of preparation. Compounds were prepared in culture media at a concentration of 10μM/ml and incubated in a standard system with 1,000,000 viable hepatocytes per ml for 2 hours at 37 degrees. The extent of conversion at the end of the incubation period was assessed by measuring 1 by LC-MS/MS.

The purpose of the assessement of compounds 79, 89, and 78 in this system was to determine the extent of their conversion to 1. The findings confirm that 89 and 78 are more extensively converted to 1 than is 79.

Animal PK experiments

Assessment of the ability of compounds of the present invention to deliver 1 to the systemic circulation after oral dosing was assessed by methods well known in the art. For Tables 9 and 10, each test compound was formulated into a solution for oral dosing by dissolving the compound in either an aqueous buffer such as PBS at pH3 or in a solution containing a solubilizer such as Cremaphor, Tween80, or PEG400. The solution of the compound was dosed by oral gavage to Sprague-Dawley rats or to cynomolgus monkeys, generally using a group of three animals for each experiment. Plasma samples were collected from the animals at several time points (usually, from 6 to 12 time points were used) within 6 to 24 hours. The plasma samples were frozen quickly after collection, and thawed immediately before sample preparation for bioanalysis.

Reference values for compound 1 were obtained by similar procedures after either oral or intravenous dosing. Intravenous administration of 1 resulted in recovery of the majority (>75%) of the administered dose in the urine as intact 1; thus, measurement of 1 in the urine provided a convenient measure of systemic exposure to 1. For this reason, in some experiments the amount of 1 in urine collected over a period of 24 hours after dosing was used to assess compounds.

Bioanalysis

An aliquot (usually, 50 μL) of each sample collected in animal PK studies or *in vitro* studies was quenched with acetonitrile (3:1 acetonitrile-to-plasma ratio) containing an internal standard (usually, nebularine). The suspension was centrifuged at 14,000 rpm for 5-10 min. An aliquot of the resulting supernatant was transferred into a clean vial and dried under nitrogen. The dried sample was reconstituted and submitted to LC-MS/MS analysis by the MRM (multiple reaction

monitoring) method. Calibration standards were prepared by serial dilution of an initial concentrated standard of the analyte with either animal plasma or cell culture media. Calibration standards were prepared for LC-MS/MS analysis as described above for animal PK samples. The LC-MS/MS analysis was performed in a batch mode with at least two sets of calibration standards, bracketing the study samples. An LC-MS/MS trace for both the analyte and the internal standard was integrated, and the ratio of their peak areas was used to calculate a relative response of analyte in both the study samples and the calibration standards. A combined calibration curve was developed by applying curve-fitting methods to responses from the calibration standards. The fitted calibration curve was used to calculate the quantity of analyte in samples. The useful dynamic range of the calibration curve was 1-5 ng/mL to 2,000-10,000 ng/mL.

PK calculations

The plasma concentration - time profile of 1 after oral administration of a known dose of the compound was used to calculate an AUC (area-under-the-curve) of 1 in systemic circulation. The AUC was normalized according to the total theoretical content of 1 in the compound, based on molecular weight. For Table 8, the AUC was further normalized to a dose of 1 mg/kg.

From Table 8 the AUC data illustrates that compounds 89 and 78 deliver more of 1 (44%-69% increase) to the systemic circulation after oral dosing than 79.

Table 10

Pharmacokinetic Parameters for Formula I Compounds when R^2=OR^5

Cmpd No.		SD rat, PO ANA245 AUC(0-24h)	SD rat, PO ANA245 AUC(0-1h)	Cyno Monkey, PO ANA245 AUC(0-24h)
1	IV doses	341	256	740
	PO doses	23		15
14		16		

30		169; 136	73	205
28		156		153
62			34	
63			46	
32		157		
66			9	
38			6	
40			14	

PCT
126

36			16	
34			6	
66		130	81; 60	127
68				27
51			0	
72				0
70				0



Anti-Viral Activity of Compounds

A number of assays may be employed in accordance with the present invention in order to determine the degree of anti-viral activity of a compound of the invention such as cell culture, animal models, and administration to human subjects. The assays described herein may be used to assay viral growth over time to determine the growth characteristics of a virus in the presence of a compound of the invention.

In another embodiment, a virus and a compound of the invention are administered to animal subjects susceptible to infection with the virus. The incidence, severity, length, virus load, mortality rate of infection, etc. can be compared to the incidence, severity, length, virus load, mortality rate of infection, etc. observed when subjects are administered the virus alone (in the absence of a compound of the invention). Anti-virus activity of the compound of the invention is demonstrated by a decrease in incidence, severity, length, virus load, mortality rate of infection, etc. in the presence of the compound of the invention. In a specific embodiment, the virus and the compound of the invention are administered to the animal subject at the same time. In another specific embodiment, the virus is administered to the animal subject before the compound of the invention. In another specific embodiment, the compound of the invention is administered to the animal subject before the virus.

In another embodiment, the growth rate of the virus can be tested by sampling biological fluids/clinical samples (*e.g.*, nasal aspirate, throat swab, sputum, broncho-alveolar lavage, urine, saliva, blood, or serum) from human or animal subjects at multiple time points post-infection either in the presence or absence of a compound of the invention and measuring levels of virus. In specific embodiments, the growth rate of a virus is assayed by assessing the presence of virus in a sample after growth in cell culture, growth on a permissible growth medium, or growth in subject using any method well-known in the art, for example, but not limited to,

immunoassay (*e.g.*, ELISA; for discussion regarding ELISAs *see*, *e.g.*, Ausubel *et al.*, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. I, John Wiley & Sons, Inc., New York at 11.2.1), immunofluorescent staining, or immunoblot analysis using an antibody which immunospecifically recognizes the virus to be assayed or detection of a virus-specific nucleic acid (*e.g.*, by Southern blot or RT-PCR analysis, etc.).

In a specific embodiment, viral titers can be determined by obtaining biological fluids/clinical samples from infected cells or an infected subject, preparing a serial dilution of the sample and infecting a monolayer of cells that are susceptible to infection with the virus (*e.g.* primary cells, transformed cell lines, patient tissue samples, etc) at a dilution of the virus that allows for the emergence of single plaques. The plaques can then be counted and the viral titer expressed as plaque forming units per milliliter of sample.

In one specific embodiment, the growth rate of a virus in a subject can be estimated by the titer of antibodies against the virus in the subject. Antibody serum titer can be determined by any method well-known in the art, for example, but not limited to, the amount of antibody or antibody fragment in serum samples can be quantitated by, *e.g.*, ELISA. Additionally, *in vivo* activity of a Formula I compound can be determined by directly administering the compound to a test animal, collecting biological fluids (*e.g.*, nasal aspirate, throat swab, sputum, broncho-alveolar lavage, urine, saliva, blood, or serum) and testing the fluid for anti-virus activity.

In embodiments where samples to be assayed for virus levels are biological fluids/clinical samples (*e.g.*, nasal aspirate, throat swab, sputum, broncho-alveolar lavage, urine, saliva, blood, or serum), the samples may or may not contain in tact cells. Samples from subjects containing intact cells can be directly processed, whereas isolates without intact cells may or may not be first cultured on a permissive cell line (*e.g.* primary cells, transformed cell lines, patient tissue samples, etc) or growth medium (*e.g.*, LB broth/agar, YT broth/agar, blood agar, etc.). Cell suspensions can be cleared by centrifugation at, *e.g.*, 300xg for 5 minutes at room temperature, followed by a PBS, pH 7.4 (Ca^{++} and Mg^{++} free) wash under the same conditions. Cell pellets can be resuspended in a small volume of PBS for analysis. Primary clinical isolates containing intact cells can be mixed with PBS and centrifuged at 300xg for 5 minutes at room temperature. Mucus is removed from the

interface with a sterile pipette tip and cell pellets can be washed once more with PBS under the same conditions. Pellets can then be resuspended in a small volume of PBS for analysis.

In another embodiment, a compound of the invention is administered to a human subject infected with a virus. The incidence, severity, length, viral load, mortality rate of infection, etc. can be compared to the incidence, severity, length, viral load, mortality rate of infection, etc. observed in human subjects infected with a virus in the absence of a compound of the invention or in the presence of a placebo. Anti-viral activity of the compound of the invention is demonstrated by a decrease in incidence, severity, length, viral load, mortality rate of infection, etc. in the presence of the compound of the invention. Any method known in the art can be used to determine anti-viral activity in a subject such as those described previously.

Additionally, *in vivo* activity of a Formula I compound can be determined by directly administering the compound to an animal or human subject, collecting biological fluids/clinical samples (*e.g.*, nasal aspirate, throat swab, sputum, broncho-alveolar lavage, urine, saliva, blood, or serum) and testing the biological fluids/clinical samples for anti-viral activity (*e.g.*, by addition to cells in culture in the presence of the virus).

Figure 2: Viral Load Changes for Once Daily IV Administration of Isatoribine

Isatoribine investigational drug product was supplied as a 1 mg/mL solution in sterile normal saline contained in a 50 mL vial. Isatoribine was administered by intravenous infusion once daily for 7 days, at 200, 400, 600 or 800 mg per dose. All doses were administered by constant rate infusion over a 60-minute period, except the 800 mg dose was administered over an 80-minute period. The flow rate for each dose was as follows: 3.33 mL/min for the 200 mg dose; 6.67 mL/min for the 400 mg dose; 8.33 mL/min for the 500 mg dose; or 10.0 mL/min for the 600 mg and 800 mg dose.

Four to six patients were enrolled in each of the dose groups (200 mg, 400 mg, 600 mg and 800 mg per dose) and received once daily intravenous infusions for 7 days. Prior to dosing, a blood sample was drawn from each patient for assessment of the genotype of the HCV virus.

Plasma HCV RNA was determined at baseline (an average of 2 pre-treatment measurements taken on Day –1 or pre-treatment and on Day 1) and once daily prior to the start of the first daily isatoribine intravenous infusion on Days 2 through 7 for

these daily (x7 days) dosing groups. The viral load was measured by the branched DNA method (Versant™ v3.0 bDNA assay, Bayer Diagnostics). For plasma HCV RNA, the maximum change from the pre-treatment baseline was estimated using log-transformed values.

Example: Oral Composition

Table 11 illustrates a batch formulation and a single dose unit formulation containing 100 mg of val-isatoribine.

Table 11: Formulation for 100 mg tablet

Material	Percent by Weight	Quantity (mg/tablet)	Quantity (kg/batch)
val-isatoribine	40%	100.00	20.00
Microcrystalline Cellulose, NF	53.5%	133.75	26.75
Pluronic F-68 Surfactant	4.0%	10.00	2.00
Croscarmellose Sodium Type A, NF	2.0%	5.00	1.00
Magnesium Stearate, NF	0.5%	1.25	0.25
Total	100.0%	250.00 mg	50.00 kg

The microcrystalline cellulose, croscarmellose sodium, and val-isatoribine components are passed through a #30 mesh screen (about 430μ to about 655μ). The Pluronic F-68® (manufactured by JRH Biosciences, Inc. of Lenexa, KS) surfactant is passed through a #20 mesh screen (about 457μ to about 1041μ). The Pluronic F-68® surfactant and 0.5 kgs of croscarmellose sodium are loaded into a 16 qt. twin shell tumble blender and are mixed for about 5 minutes. The mix is then transferred to a 3 cubic foot twin shell tumble blender where the microcrystalline cellulose is added and blended for about 5 minutes. The compound is added and blended for an additional 25 minutes. This pre-blend is passed through a roller compactor with a hammer mill attached at the discharge of the roller compactor and moved back to the tumble blender. The remaining croscarmellose sodium and magnesium stearate is added to the tumble blender and blended for about 3 minutes. The final mixture is

compressed on a rotary tablet press with 250 mg per tablet (200,000 tablet batch size).

Example: Mucosal Composition

A concentrate is prepared by combining isatoribine, and a 12.6 kg portion of the trichloromonofluoromethane in a sealed stainless steel vessel equipped with a high shear mixer. Mixing is carried out for about 20 minutes. The bulk suspension is then prepared in the sealed vessel by combining the concentrate with the balance of the propellants in a bulk product tank that is temperature controlled to 21° to 27°C. and pressure controlled to 2.8 to 4.0 BAR. 17 ml aerosol containers which have a metered valve which is designed to provide 100 inhalations of the composition of the invention. Each container is provided with the following:

val-isatoribine	0.0120 g
trichloromonofluoromethane	1.6960 g
dichlorodifluoromethane	3.7028g
dichlorotetrafluoroethane	1.5766 g
total	7.0000 g

Example: Intravenous Composition

The intravenous formulation is prepared by reconstituting a compound of the invention with an appropriate liquid medium, such as water for injection (WFI) or a 5% dextrose solution. A desired concentration of the intravenous formulation can be obtained by reconstituting an appropriate amount of a compound of the invention with an appropriate volume of liquid medium. A desired concentration of the intravenous formulation provides a therapeutically effective amount of a compound of the invention to the patient, preferably a mammal, more preferably a human, in need of the intravenous pharmaceutical formulation and maintains a therapeutically effective level of a compound of the invention in the patient. The dose which is therapeutically effective will depend on the rate at which the intravenous formulation is delivered to the patient and the concentration of the intravenous formulation. For example, one vial containing a composition (*e.g.*, 50 mg of a compound of the invention per vial) are reconstituted with a 5% dextrose solution (14 ml of 5% dextrose solution per vial) yielding a total of 25 mL of solution. The reconstituted solution is incorporated into a dextrose solution in an infusion bag and

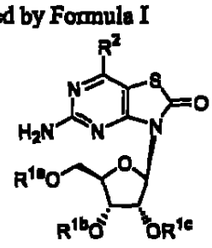
q.s. to 50 mL, resulting in a solution containing 1 mg/ml of a compound of the invention suitable for intravenous infusion administration. The preferred concentration of a compound of the invention in the liquid medium, in the infusion bag, is about 0.001 to about 3 mg/ml, preferably about 0.75 to about 1 mg/ml.

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

13A
133

What is claimed is:

1. A compound represented by Formula I



I

R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} are independently H, $-C(O)R^3$, a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CH_2NHR^4$, $-C(O)CH(C_{1-6}$ alkyl$)NHR^4$, or R^{1b} and R^{1a} are collectively –C(O)-, which together with the oxygen atoms forms a five-membered carbonate ring;

R^2 is H or OR^5;

R^3 is a C_{1-18} alkyl;

R^4 is H, $-C(O)CH(C_{1-6}$ alkyl$)NH_2$, or $-C(O)CH(CH_2$-aryl$)NH_2$;

R^5 is independently H, C_{1-6} alkyl, C_{3-7} alkenyl, C_{3-7} alkynyl, $-(CR^7R^8)_t(C_6$-C_{10} aryl), $-(CR^7R^8)_t(C_3$-C_{10} cycloalkyl), $-(CR^7R^8)_t(C_4$-C_{10} heterocyclic), $-(CR^7R^8)_{t>1}OH$, $-(CR^7R^8)_{t>0}CO_2C_{1-18}$ alkyl, and $-(CR^7R^8)_{t>0}N(R^9)CO_2C_{1-18}$ alkyl, and SO_2(aryl), wherein t is an integer from 0 to 6 unless otherwise indicated, and wherein the alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, cycloalkyl, and heterocyclic moieties of the foregoing groups are optionally substituted with substituents independently selected from halo, cyano, nitro, trifluoromethyl, trifluoromethoxy, C_1-C_6 alkyl, C_2-C_6 alkenyl, C_2-C_6 alkynyl, hydroxy, C_1-C_6 alkoxy, $-NH_2$, -NH-alkyl, $-N(alkyl)_2$, -NH-aryl, -N(alkyl)(aryl), $-N(aryl)_2$, -NHCHO, -NHC(O)alkyl, -NHC(O)aryl, -N(alkyl)C(O)H, -N(alkyl)C(O)alkyl, -N(aryl)C(O)H, -N(aryl)C(O)alkyl, $-NHCO_2$alkyl, $-N(alkyl)CO_2$alkyl, $-NHC(O)NH_2$, $-N(alkyl)C(O)NH_2$, -NHC(O)NH-alkyl, -NHC(O) $N(alkyl)_2$, -N(alkyl)C(O)NH-alkyl, N(alkyl)C(O) $N(alkyl)_2$, $-NHSO_2$-alkyl, $-N(alkyl)SO_2$-alkyl, -C(O)alkyl, -C(O)aryl, -OC(O)alkyl, -OC(O)aryl, $-CO_2$-alkyl, $-CO_2$-aryl, $-CO_2H$, $-C(O)NH_2$, -C(O)NH-alkyl, $-C(O)N(alkyl)_2$, -C(O)NH-aryl, $-C(O)N(aryl)_2$, -C(O)N(alkyl)(aryl), -S(O)alkyl, -S(O)aryl, $-SO_2$alkyl, $-SO_2$aryl, $-SO_2NH_2$, $-SO_2$NH-alkyl, and $-SO_2N(alkyl)_2$;

R^7 and R^8 are independently H, C_{1-6} alkyl, C_{2-6} alkenyl, or C_{2-6} alkynyl; and

R^9 is H, C_{1-6} alkyl, or $-CH_2$-aryl;

135

134

provided that R^5 is not $-CH_3$, and further provided that at least one of R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} is not H when R^2 is H.

or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof.

2. The compound or pharmaceutically acceptable salt or solvate according to claim 1, wherein R^2 is OR^5.

3. The compound or pharmaceutically acceptable salt or solvate according to claim 1, wherein

R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} are independently H, $-C(O)R^3$, a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CH(C_{1-6}\ alkyl)NH_2$;

R^2 is OR^5;

R^3 is a C_{1-18} alkyl;

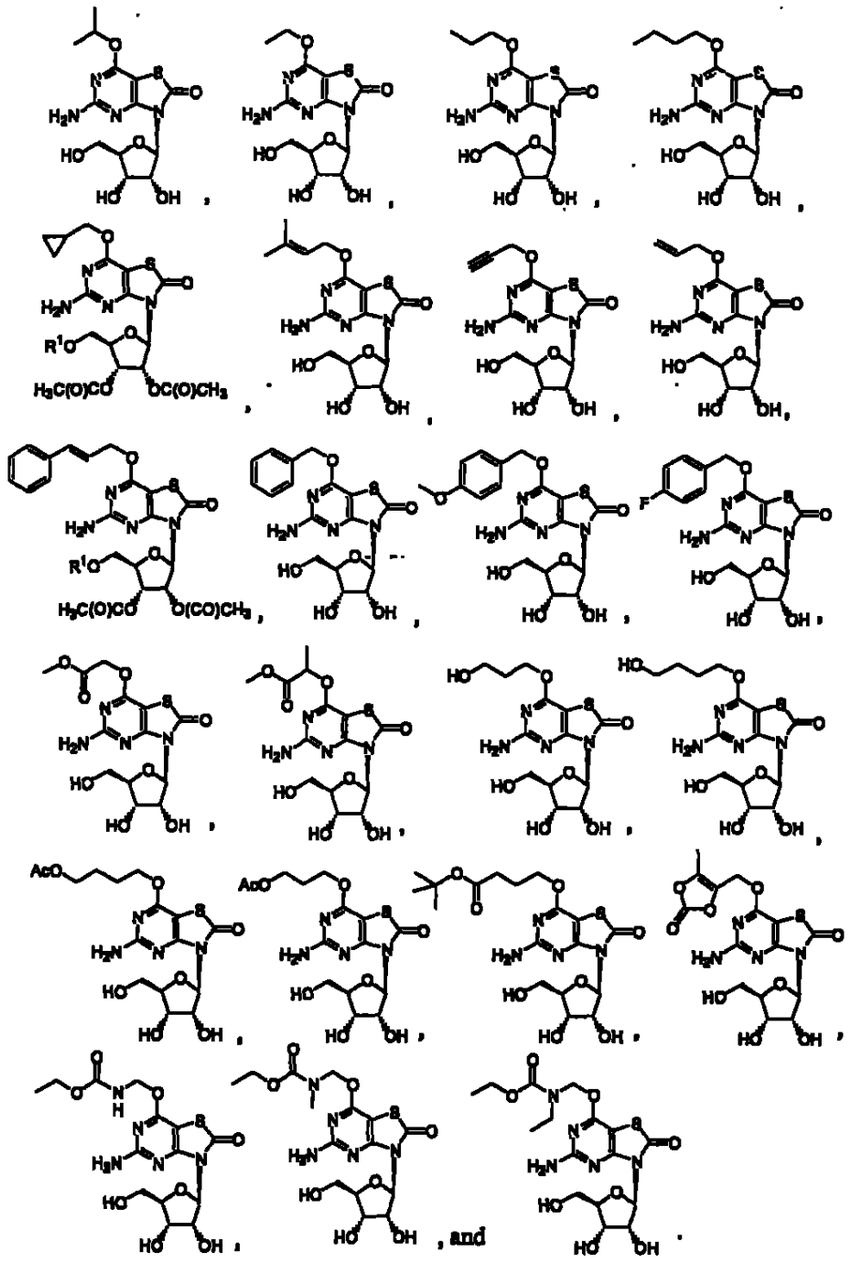
R^5 is independently C_{1-6} alkyl, C_{3-7} alkenyl, C_{3-7} alkynyl, $-(CR^7R^8)_t(C_6-C_{10}$ aryl), $-(CR^7R^8)_t(C_4-C_{10}$ heterocyclic), and $-(CR^7R^8)_{2-3}N(R^9)CO_2C_{1-18}$ alkyl, wherein t is an integer from 0 to 4 unless otherwise indicated, and wherein the alkyl, alkenyl, aryl, and heterocyclic moieties of the foregoing groups are optionally substituted with 1 to 3 substituents independently selected from halo, cyano, nitro, trifluoromethyl, trifluoromethoxy, C_1-C_6 alkyl, C_2-C_6 alkenyl, C_2-C_6 alkynyl, hydroxy, C_1-C_6 alkoxy, $-CO_2$-alkyl, $-CO_2$-aryl, -OC(O)alkyl, and -OC(O)aryl;

R^7 and R^8 are independently H, C_{1-6} alkyl, or C_{2-6} alkenyl; and

R^9 is H, $-CH_3$, or $-CH_2CH_3$.

4. The compound or pharmaceutically acceptable salt or solvate according to claim 2, wherein

136
135



5. The compound or pharmaceutically acceptable salt or solvate according to claim 1, wherein R^2 is H.

6. The compound or pharmaceutically acceptable salt or solvate according to claim 5, wherein

R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} are independently H, $-C(O)R^3$, a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CH(C_{1-6}$ alkyl$)NH_2$; and

R^3 is a C_{1-15} alkyl.

7. The compound or pharmaceutically acceptable salt or solvate according to claim 5, wherein

R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} are independently H, $-C(O)R^3$, a racemic, L-, or D- amino acid group $-C(O)CH(CH(CH_3)_2)NH_2$; and

R^3 is CH_3.

8. The compound or pharmaceutically acceptable salt or solvate according to claim 5, wherein

R^{1a}, R^{1b}, and R^{1c} are independently H or $-C(O)R^3$; and

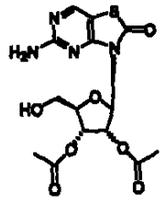
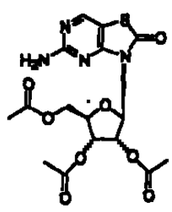
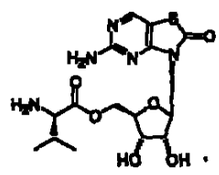
R^3 is CH_3.

9. The compound or pharmaceutically acceptable salt or solvate according to claim 5, wherein

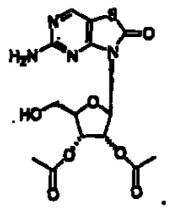
R^{1a} is H and R^{1b} and R^{1c} are $-C(O)R^3$; and

R^3 is CH_3.

10. A compound or pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof selected from



, and

.

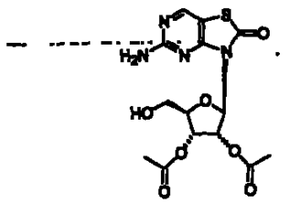
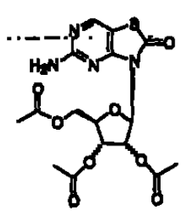
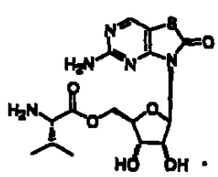
11. A compound or pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof comprising



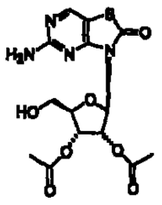
12. A pharmaceutical composition comprising a pharmaceutically acceptable carrier and a compound according to claim 1;

or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof.

13. The pharmaceutical composition according to claim 12 wherein the compound is selected from


,

, and

.

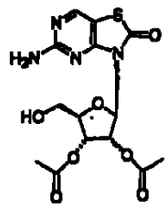
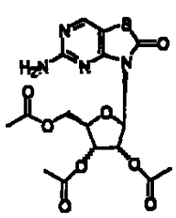
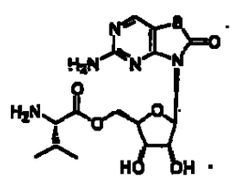
14. The pharmaceutical composition according to claim 12 wherein the compound is



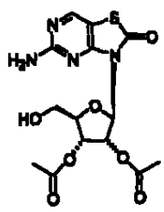
15. A method of modulating immune cytokine activities in a patient comprising:

administrating to the patient a therapeutically or prophylactically effective amount of a compound of claim 1, or pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof.

16. The method according to claim 15 wherein the compound is selected from

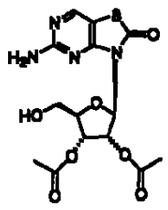
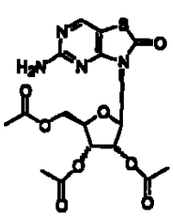
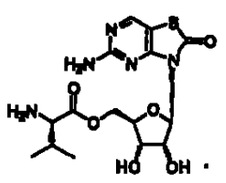

,

, and

.

17. The method according to claim 15 wherein the compound is

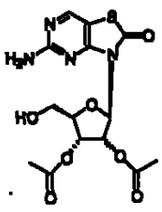


18. A method of treating an hepatitis C virus infection in a patient comprising: administrating to the patient a therapeutically or prophylactically effective amount of a compound of claim 1, or pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof.

19. The method according to claim 18 wherein the compound is selected from


,

, and

.

20. The method according to claim 18 wherein the compound is

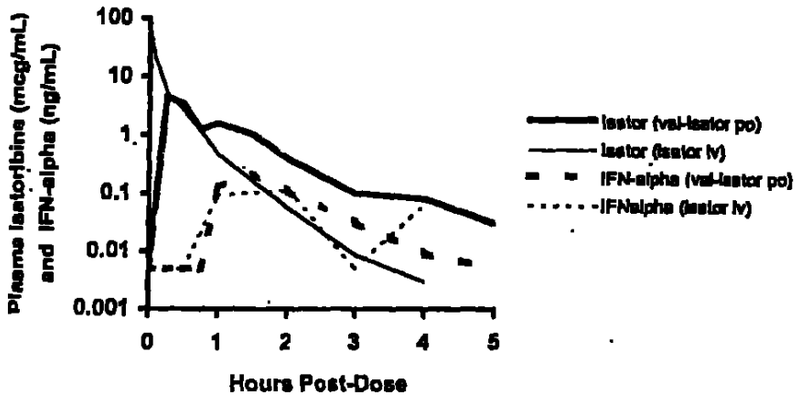


139

FIGURE 1

Murine Interferon-alpha Response

Isatoribine 25 mg/kg i.v. vs Val-isatoribine 50 mg/kg p.o.



0 50
0 25
0 00
-0 25
-0 50
-0 75
-1 00
Log Viral Load Change
Treatment
0
7
14
Study Day
Patients on Day 7 with decrease >0 25 log
200mg 1 of 4
400mg 2 of 4
600mg 3 of 5
800mg 5 of 6
200mg qd
400mg qd
600mg qd
800mg qd

Figure 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
[redacted]/US2004/018011

141

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07H19/24 A61K31/7052 A61P37/02

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C07H A61K A61P

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/045968 A (ANADYS PHARMACEUTICALS, INC) 5 June 2003 (2003-06-05) the whole document	1-20
X	US 5 041 426 A (ROBINS ET AL) 20 August 1991 (1991-08-20) compounds 6,7,41,42	1,2,12

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

* Special categories of cited documents :

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

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
22 March 2005	31/03/2005

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	de Nooy, A

2

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2004)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2004/018011

147
142

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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

1. [X] Claims Nos.: 15-20 (in part)
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 15-20 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound.

2. [ ] Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.

2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US2004/018011

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 03045968	A	05-06-2003	AU	2002365412 A1	10-06-2003
			BR	0214407 A	19-10-2004
			CA	2468552 A1	05-06-2003
			EP	1451203 A1	01-09-2004
			HR	20040541 A2	31-10-2004
			WO	03045968 A1	05-06-2003
			US	2003151560 A1	14-08-2003
			US	2003199461 A1	23-10-2003
US 5041426	A	20-08-1991	US	4880784 A	14-11-1989
			AR	246104 A1	30-03-1994
			AT	126060 T	15-08-1995
			AT	173929 T	15-12-1998
			CA	1319931 C	06-07-1993
			DE	3854297 D1	14-09-1995
			DE	3854297 T2	28-03-1996
			DE	3856279 D1	14-01-1999
			DE	3856279 T2	20-05-1999
			DK	406389 A	04-10-1989
			EP	0348446 A1	03-01-1990
			EP	0636372 A1	01-02-1995
			ES	2010786 A6	01-12-1989
			JP	2590248 B2	12-03-1997
			JP	3504122 T	12-09-1991
			KR	9702611 B1	06-03-1997
			WO	8905649 A1	29-06-1989
			AU	2486088 A	19-07-1989
			NO	893343 A	23-10-1989

NUCLEÓSIDOS DE 3-β-D-RIBOFURANOSILTIAZOLO[4,5-*d*]PIRIDIMINA Y USOS DE LOS MISMOS

La presente solicitud se presenta como una Solicitud de Patente Internacional PCT a los nombres de Devron R. Averett, Stephen E. Webber, Joseph R. Lennox, Erik J. Rueden, y David L. Clark, todos ciudadanos y residentes de los Estados Unidos de América, el 7 de Junio del 2004.

Campo de la Invención

La presente invención se dirige a nucleósidos de 3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-*d*]pirimidina y composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos que tienen actividad inmunomoduladora. La presente invención también se dirige al uso terapéutico o profiláctico de dichos compuestos y composiciones, y a métodos para tratar enfermedades y padecimientos que aquí se describen, administrando cantidades efectivas de dichos compuestos.

Antecedentes de la Invención

En las últimas décadas se han realizado esfuerzos significativos en cuanto a la exploración de posibles usos terapéuticos de análogos de nucleósido D- y L-purina. Normalmente se comercializa un número de análogos de nucleósido como fármacos antivirales, incluyendo los inhibidores de transcriptasa inversa VIH (AZT, ddI, ddC, d4T y 3TC).

También se ha explorado una variedad de análogos de

nucleósido D- y L-purina en la búsqueda de inmunomoduladores. Los análogos de guanosina que tienen substituyentes en las posiciones -7 y/o -8, por ejemplo, han mostrado estimular el sistema inmune. Ver las publicaciones de Reitz y asociados, *J. Med. Chem.*, 37, 3561-78 (1994); Michael y asociados, *J. Med. Chem.*, 36, 3431-36 (1993). En otras investigaciones, la Patente Norteamericana No. 5,821,236 de Krenitsky y asociados, describe derivados 6-alcoxi de derivados de purina de arabinofuranosilo que son útiles para terapia de tumores. En la Patente Norteamericana No. 5,539,098 de Krenitsky y asociados, también se reportan inhibidores de virus de varicela zoster, incluyendo 5'-O-propionilo y ésteres 5'-O-butirílicos de 2-amino-6-metoxi-9-(β-D-arabinofuranosil)-9H-purina. La 7-Deazaguanosina y los análogos han mostrado exhibir actividad antiviral en ratones contra una variedad de virus de ARN, incluso cuando el compuesto carece de propiedades antivirales en el cultivo celular. Los nucleósidos y nucleótidos de 3-Deazaguanina también han demostrado actividad antiviral de amplio espectro significativa, contra ciertos viruses de ADN y ARN. Revankar y asociados, *J. Med. Chem*, 27, 1489-96 (1984). Ciertos nucleósidos-C de 7- y 9-deazaguanina exhiben la capacidad de proteger contra el estimulo letal del virus Semliki Forest. Girgis y asociados, *J. Med. Chem.*, 33, 2750-55 (1990). Los nucleósidos de purina de 6-sulfenamida y 6-sulfinamida seleccionados, se describen en la Patente Norteamericana No. 4,328,336 de Robins y asociados, como habiendo demostrado actividad antitumor significativa.

HT
146

Ciertos nucleósidos de pirimido[4,5-*d*]piridimina se describen en la Patente Norteamericana No. 5,041,542 de Robins y asociados, como siendo efectivos en el tratamiento contra L1210 en ratones BDF1. Estos nucleósidos en particular se sugirieron como resultado de su papel como inmunomoduladores. Ver la publicación de Bonnet y asociados, *J. Med. Chem.*, 36, 635-53 (1993). También ver la publicación de Wang y asociados (Publicación Internacional WIPO No. WO 98/16184), reportan que los compuestos de L-nucleósido de purina y análogos de los mismos, se utilizaron para tratar una infección, infestación, un neoplasma, una enfermedad autoinmune o para modular aspectos del sistema inmune. Además, las 3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-*d*]pirimidinas que demuestran inmunoactividad significativa, incluyendo proliferación de célula de bazo de múrido y actividad *in vivo* contra virus Semliki Forest, se describen en las Patentes Norteamericanas Nos. 5,041,526 y 4,880,784 de Robins y asociados.

Un posible objetivo de la inmunomodulación comprende la estimulación o supresión de linfocinas Th1 y Th2. las células tipo I (Th1) producen interleucina 2 (IL-2), factor de necrosis de tumor (TNFα) e interferón gama (IFNγ), y son responsables principalmente en la inmunidad transmitida por la célula, tal como la hipersensibilidad tipo retardada e inmunidad antiviral. Las células tipo 2 (Th2) producen interleucinas, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13, y están involucradas principalmente en auxiliar las respuestas inmune humorales, tales como las que se observan en respuesta a

los alergenes. Ver por ejemplo, la publicación de Mosmann, *Annu. Rev. Immunol*, 7, 145-73 (1989). Los análogos de D-guanosina han demostrado provocar varios efectos en linfocinas IL-1, IL-6, INFα (en forma indirecta) *in vitro* (Goodman, *Int. J. Immunopharmacol*, 10, 579-88 (1988); Patente Norteamericana No. 4,746,651 de Goodman) e *in vivo* (Smee y asociados, *Antiviral Res.*, 15, 229 (1991); Smee y asociados, *Antimicrobial Agents y Chemotherapy*, 33, 1487-92 (1989)). Sin embargo, la capacidad de los análogos de D-guanosina, tal como 7- tio-8-oxoguanosina para modular citocinas Tipo 1 o Tipo 2 directamente en células T, fue inefectiva o no había sido descrita.

Además, se sabe que la administración oral de muchos análogos de nucleósido de purina, está sometida a dificultades que surgen de una absorción deficiente, solubilidad eficiente o degradación deficiente en el tracto digestivo como resultado de condiciones ácidas o alcalinas o la acción de enzimas y/o combinaciones de estos fenómenos. Por lo tanto, permánece la necesidad de análogos de nucleósidos de purina con disponibilidad oral, tolerabilidad y administración mejoradas, que sean utilizados para modular aspectos del sistema inmune.

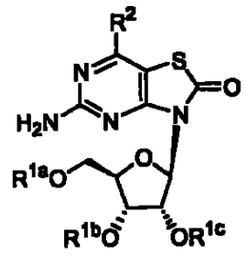
Breve Descripción de la Invención

La presente invención se dirige a esta necesidad mediante el descubrimiento de nucleósidos de 3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-*d*]pirimidina, profármacos farmacéuticamente aceptables, metabolitos farmacéuticamente activos, sales farmacéuticamente aceptables y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos (tales como

compuestos, profármacos, metabolitos, sales y solvatos que son referidos colectivamente como "agentes") que se describen a continuación, los cuales pueden ser útiles como inmunomoduladores.

En otra modalidad, la presente invención comprende un método para tratar o prevenir una infección de virus de hepatitis C en un paciente que necesita de dicho tratamiento, el cual comprende administrar al paciente una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de un nucleósido de 3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-*d*]piridimina.

En un aspecto general, la presente invención se refiere a compuestos de la fórmula I



I

en donde:

R^{1a}, R^{1b} y R^{1c} son independientemente H, $-C(O)R^3$, un grupo de aminoácido racémico, L-, D- o $-C(O)CH_2NHR^4$, $-C(O)CH(C_{1-8}$ alquil$)NHR^4$, o R^{1b} y R^{1c} son colectivamente -C(O)-, los cuales junto con los átomos de oxígeno forman un anillo de carbonato de cinco miembros;

R^2 es H, OR^5 ó $N(R^6)_2$;

R^3 es un C_{1-18} alquilo;

R^4 es H, -C(O)CH(C_{1-6} alquil)NH_2, ó -C(O)CH(CH_2-aril)NH_2;

R^5 es independientemente H, C_{1-6} alquilo, C_{3-7} alquenilo, C_{3-7} alquinilo, -$(CR^7R^8)_t$(C_6-C_{10} arilo), -$(CR^7R^8)_t$(C_3-C_{10} cicloalquilo), -$(CR^7R^8)_t$(C_4-C_{10} heterocíclico), -$(CR^7R^8)_{t>1}OH$, -$(CR^7R^8)_{t>0}CO_2C_{1-18}$ alquilo y -$(CR^7R^8)_{t>0}N(R^8)CO_2C_{1-18}$ alquilo y SO_2(arilo), en donde t es un entero de 0 a 6 a menos que se indique lo contrario, y en donde las porciones de alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo y heterocíclicas de los grupos anteriores son substituidos opcionalmente con substituyentes seleccionados independientemente de halo, ciano, nitro, trifluorometilo, trifluorometoxi, C_1-C_6 alquilo, C_2-C_6 alquenilo, C_2-C_6 alquinilo, hidroxi, C_1-C_6 alcoxi, -NH_2, -NH-alquilo, -N(alquil)$_2$, -NH-arilo, -N(alquil)(arilo), -N(aril)$_2$, -NHCHO, -NHC(O)alquilo, -NHC(O)arilo, -N(alquil)C(O)H, -N(alquil)C(O)alquilo, -N(aril)C(O)H, -N(aril)C(O)alquilo, -NHCO_2alquilo, -N(alquil)CO_2alquilo, -NHC(O)NH_2, -N(alquil)C(O)NH_2, -NHC(O)NH-alquilo, -NHC(O) N(alquil)$_2$, -N(alquil)C(O)NH-alquilo, N(alquil)C(O) N(alquil)$_2$, -NHSO_2-alquilo, -N(alquil)SO_2-alquilo, -C(O)alquilo, -C(O)arilo, - OC(O)alquilo, -OC(O)arilo, -CO_2-alquilo, -CO_2-arilo, -CO_2H, C(O)NH_2, -C(O)NH-alquilo, -C(O)N(alquil)$_2$, -C(O)NH-arilo, -C(O)N(aril)$_2$, -C(O)N(alquil)(aril), -S(O)alquilo, -S(O)arilo, -SO_2alquilo, -SO_2arilo, -SO_2NH_2, -SO_2NH_2, -SO_2NH-alquilo y –SO_2N(alquil)$_2$;

R^6 es independientemente H, C_{1-6} alquilo, C_3-C_{10} cicloalquilo o junto con el nitrógeno forma un anillo heterocíclico de 5 ó 6 miembros;

R^7 y R^8 son independientemente H, C_{1-6} alquilo, C_{2-6} alquenilo o C_{2-6}

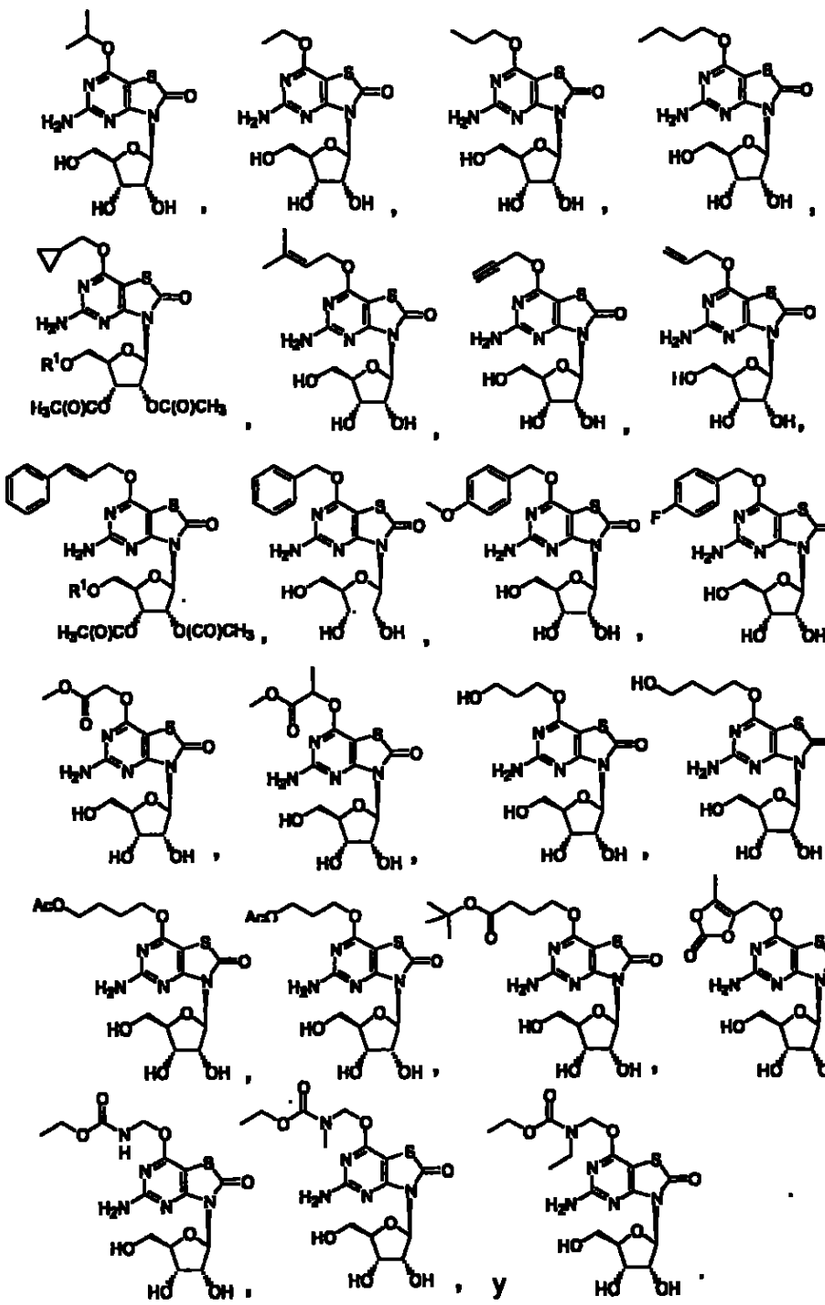
alquinilo; y

R^9 es H, C_{1-6} alquilo o CH_2-arilo;

En una modalidad, la presente invención se refiere a compuestos de la fórmula I, en donde R^2 es H ó OR^5, siempre que R^5 no sea $-CH_3$, y siempre que además al menos uno de R^{1a}, R^{1b} y R^{1c} no sea H, cuando R^2 es H.

En otra modalidad, la presente invención se refiere a compuestos de la fórmula I, en donde R^{1a}, R^{1b} y R^{1c} son independientemente H, $-C(O)R^3$, un grupo de aminoácido L-, D- o racémico $-C(O)CH(C_{1-6}$ alquil$)NH_2$; R^2 es OR^5; R^3 es un C_{1-16} alquilo; R^5 es independientemente C_{1-6} alquilo, C_{3-7} alquenilo, C_{3-7} alquinilo, $-(CR^7R^8)_t(C_6$-C_{10} arilo), $-(CR^7R^8)_t(C_4$-C_{10} heterocíclico) y $-(CR^7R^8)_{t>0}N(R^9)CO_2C_{1-16}$ alquilo, en donde t es un entero de desde 0 hasta 4 a menos que se indique lo contrario, y donde las porciones alquilo, alquenilo, arilo y heterocíclicas de los grupos anteriores son substituidas opcionalmente con de 1 a 3 substituyentes seleccionados independientemente de halo, ciano, nitro, trifluorometilo, trifluorometoxi, C_1-C_6 alquilo, C_2-C_6 alquenilo, C_2-C_6 alquinilo, hidroxi, C_1-C_6 alcoxi, $-CO_2$-alquilo, $-CO_2$-arilo, $-OC(O)$alquilo y $-OC(O)$arilo; R^7 y R^8 son independientemente H, C_{1-6} alquilo o C_{2-6} alquenilo; y R^9 es H, $-CH_3$ ó $-CH_2CH_3$.

En otra modalidad preferida de la presente invención, los compuestos de la presente invención se seleccionan de:



y

En otra modalidad, la presente invención se refiere a compuestos de la fórmula I, en donde R^2 es H, en donde al menos uno de R^{1a}, R^{1b} y R^{1c} no es H.

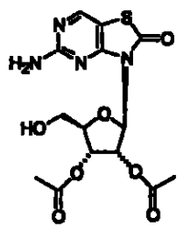
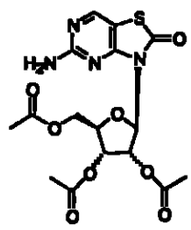
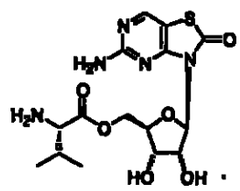
En otra modalidad, la presente invención se refiere a compuestos de la fórmula I, en donde R^{1a}, R^{1b} y R^{1c} son independientemente H, $-C(O)R^3$, un grupo de aminoácido L-, D- o racémico $-C(O)CH(C_{1-8}$ alquil$)NH_2$; R^2 es H; y R^3 es un C_{1-18} alquilo, en donde al menos uno de R^{1a}, R^{1b} y R^{1c} no es H.

En otra modalidad, la presente invención se refiere a compuestos de la fórmula I, en donde R^{1a}, R^{1b} y R^{1c} son independientemente H, $-C(O)R^3$, un grupo de aminoácido L-, D- o racémico $-C(O)CH(CH(CH_3)_2)NH_2$; R^2 es H; y R^3 es CH_3, en donde al menos uno de R^{1a}, R^{1b} y R^{1c} no es H.

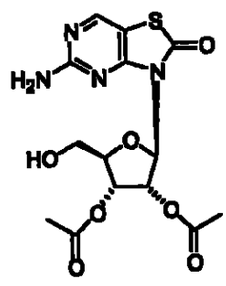
En otra modalidad, la presente invención se refiere a compuestos de la fórmula I, en donde R^{1a}, R^{1b} y R^{1c} son independientemente H o $-C(O)R^3$, en donde R^2 es H; y R^3 es un CH_3, en donde al menos uno de R^{1a}, R^{1b} y R^{1c} no es H.

En otra modalidad, la presente invención se refiere a compuestos de la fórmula I, en donde R^{1a} es H, y R^{1b} y R^{1c} son $-C(O)R^3$; R^2 es H, y R^3 es CH_3.

En otra modalidad, los compuestos de la presente invención son seleccionados de:



y


Aún en otra modalidad, un compuesto de la presente invención es



La presente invención también se dirige a profármacos farmacéuticamente, metabolitos farmacéuticamente activos, sales farmacéuticamente aceptables y solvatos farmacéuticamente aceptables de los compuestos, profármacos o metabolitos de la fórmula I. También se describen métodos convenientes para elaborar los compuestos de la fórmula I.

Los compuestos de la fórmula I, son útiles como aumentadores del sistema inmune y tienen ciertas propiedades del sistema inmune, incluyendo modulación, mitogenicidad, aumento y/o potenciación o son intermediarios para compuestos que tienen estas propiedades. Se espera que los compuestos expresen efectos en al menos el exterminador natural, macrófagos y células de linfocitos del sistema

inmune de un huésped. Debido a que estas propiedades son útiles como agentes antivirales y antitumor o como intermediarios para agentes antivirales y antitumor, se pueden utilizar para tratar y afectar al huésped, sirviendo como los ingredientes activos de composiciones farmacéuticas adecuadas.

En un aspecto de la presente invención, los compuestos de la fórmula I se utilizan para tratar el rango total de enfermedades virales en mamíferos, incluyendo humanos, administrando al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de los compuestos. Las enfermedades virales contempladas para ser tratadas con compuestos de la fórmula I, incluyen infecciones agudas y crónicas originadas tanto por víruses de ARN como de ADN. Sin limitar en forma alguna el rango de las infecciones virales que pueden ser tratadas, los compuestos de la fórmula I son útiles particularmente en el tratamiento de infecciones originadas por adenovirus, citomegalovirus, virus de hepatitis A (HAV), virus de hepatitis B (HBV), flavivíruses incluyendo virus de Fiebre Amarilla y virus de hepatitis C (HCV), herpes simple tipo 1 y 2, herpes zoster, virus de herpes humano 6, virus de inmunodeficiencia humano (VIH), virus de papiloma humano (HPV), virus de influenza A, virus de influenza B, sarampión, virus de parainfluenza, poliovirus, varicela (incluyendo virus de varicela pequeña y de varicela de mono), rinovirus, virus sincitial respiratorio (RSV), múltiples familias de víruses que originan fiebres hemorrágicas, incluyendo Arenavirus (LCM, virus Junin, virus Machup, virus Guanarito y Fiebre Lasa), los Bunyavíruses (víruses

Hanta y de Fiebre de Valley Rift) y Filovíruses (virus de Ebola y Marburg), un rango de encefalitidos virales incluyendo virus West Nile, virus LaCrosse, virus de Encefalitis de California, virus de Encefalitis de Equino Venezolano, virus de Encefalitis de Equino del Este, virus de Encefalitis de Equino del Oeste, virus de Encefalitis Japonesa, virus de Kysanur Forest y víruses por garrapata, tales como virus de fiebre Hemorrágica Crimean-Congo.

En otro aspecto de la presente invención, los compuestos de la fórmula I se utilizan para tratar infecciones bacterianas, fúngicas y de protozoarios en mamíferos, administrando al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de los compuestos. El rango total de microorganismos patógenos se contempla como tratables mediante los compuestos de la presente invención, incluyendo sin limitación los organismos que son resistentes a antibióticos. La capacidad de los compuestos de la fórmula I para activar múltiples componentes del sistema inmune, deriva los mecanismos de resistencia que se encuentran comúnmente para reducir susceptibilidad a antibióticos, y por lo tanto el tratamiento de infecciones en mamíferos originadas por dichos microorganismos resistentes mediante compuestos de la fórmula I, es una utilidad particular de la presente invención.

En otro aspecto de la presente invención, los compuestos de la fórmula I se utilizan para tratar tumores en mamíferos administrando al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de los compuestos. Los tumores y cánceres contemplados para ser tratados

incluyen los originados por virus, y el efecto puede comprender inhibir la transformación de las células infectadas con virus a un estado neoplástico, inhibir la dispersión de viruses de células transformadas a otras células normales, y/o detener el crecimiento de células transformadas por virus. Los compuestos de la fórmula I se espera que sean útiles contra un amplio espectro de tumores, incluyendo pero sin limitarse a carcinomas, sarcomas y leucemias. Incluidas en esta clase se encuentran los carcinomas mamarios, de colon, vejiga, pulmón, próstata, estómago y páncreas, y leucemias linfoblásticas y mieloides.

En otro aspecto de la presente invención, un método para tratar a un mamífero, comprende administrar una cantidad terapéutica y/o profilácticamente efectiva de un farmacéutico que contiene un compuesto de la presente invención. En este aspecto, el efecto se puede relacionar con la modulación de cierta parte del sistema inmune del mamífero, especialmente modulación de actividades de citocina de Th1 y Th2, incluyendo pero sin restringirse a familia de interleucina, por ejemplo, IL-1 a IL-2, y otras citocinas tales como TNF alfa, è interferones que incluyen interferón alfa, interferón teta, e interferón gama, y sus efectores de corriente descendente. Cuando ocurre la modulación de citocinas Th1 y Th2, se contempla que la modulación puede ocurrir estimulación tanto de Th1 como de Th2, supresión tanto de Th1 como de Th2, estimulación de Th1 ó Th2, y supresión de lo otros, o modulación bimodal en donde ocurre un efecto en los niveles Th1/Th2 (tal como supresión

generalizada), en una alta concentración, en tanto que ocurre otro efecto (tal como estimulación ya sea de Th1 ó Th2 y supresión del otro) ocurre en a una concentración menor.

En otro aspecto de la presente invención, las composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto de la fórmula I, se administran en una dosis terapéuticamente efectiva a un mamífero que está recibiendo fármacos anti-infección, no incluidos en la fórmula I. En un aspecto preferido de la presente invención, las composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto de la fórmula I, se administran en una dosis terapéuticamente efectiva con fármaco(s) anti-infección que actúan directamente en el agente infeccioso para inhibir el crecimiento de, o exterminar, el agente infeccioso.

En otro aspecto, la presente invención comprende un método para tratar o prevenir infección por virus de hepatitis C en un mamífero que necesita de dicho método, preferentemente en un humano que necesita del mismo.

En otro aspecto, la presente invención comprende un método para tratar o prevenir infección por virus de hepatitis C en un paciente que necesita de dicho método, el cual comprende administrar al paciente una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva en un compuesto de la fórmula I y un excipiente, transportador o vehículo farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, la presente invención comprende un método para tratar o prevenir infección por virus de hepatitis C en un

158

paciente que necesita de dicho método, el cual comprende administrar al paciente una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I y un agente terapéutico adicional, preferentemente un agente antiviral adicional.

En un aspecto preferido de la presente invención, una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con la fórmula I, proporciona disponibilidad y administración oral mejorada en la forma de un inmunomodulador. En otro aspecto preferido de la presente invención, una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuestos de acuerdo con la fórmula I, proporciona cubrir la estructura activa conforme el agente pasa a través del tejido linfoide que cubre el estómago, minimizando de esta forma la activación de este tejido y permitiendo la capacidad de toleración oral mejorada.

Breve Descripción de las Figuras

La figura 1, es una ilustración gráfica de niveles en plasma de isatoribina (1) e interferón alfa en ratones.

La figura 2, es una ilustración gráfica de cambios de carga viral en pacientes infectados con HCV que reciben isatoribina (1).

Descripción Detallada de la Presente Invención y Modalidades Preferidas

Cuando se utilizan los términos que se encuentran a continuación en la presente especificación, se utilizan como se definen a continuación:

Los términos "que comprende" y "que incluye" se utiliza en la presente invención en su sentido abierto, sin limitación.

El término "nucleósido" se refiere a un compuesto, elaborado de cualquier pentosa o ecuación de pentosa modificada adherida a una posición especifica de un heterociclo o a la posición natural de una purina (posición-9) o pirimidina (posición-1) o a la posición equivalente en un análogo.

El término "purina", se refiere a heterociclos biciclos de nitrógeno.

El término "pirimidina" se refiere a heterociclos monocíclicos de nitrógeno.

El término "D-nucleósidos" se refiere a compuestos de nucleosido que tienen una porción de azúcar D-ribosa (por ejemplo, Adenosinas).

El término "L-nucleósidos" se refiere a los compuestos de nucleósido que tienen una porción de azúcar de L-ribosa.

El término "alquilo", tal como se utiliza en la presente invención, a menos que se indique lo contrario, incluye radicales de hidrocarburo monovalentes saturados que tienen porciones rectas, ramificadas o cíclicas (incluyendo porciones bicíclicas y espirocíclicas fusionadas y puenteadas), o una combinación de las porciones anteriores. Para un grupo alquilo que tiene porciones cíclicas, el grupo debe tener al menos tres átomos de carbono.

El término "alquenilo", tal como se utiliza en la presente invención, a menos que se indique lo contrario, incluye porciones

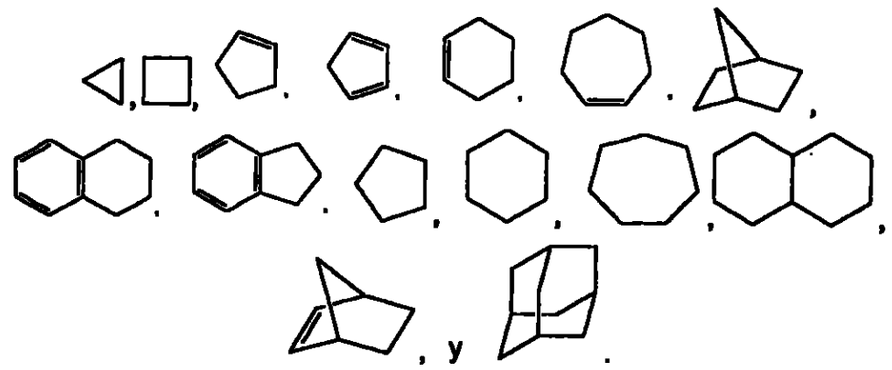
alquilo que tienen al menos un enlace doble de carbono-carbono, en donde el término alquilo es como se definió anteriormente, e incluye isómeros E y Z de la porción alquenilo.

El término "alquinilo", tal como se utiliza en la presente invención, a menos que se indique lo contrario, incluye porciones alquilo que tienen al menos un enlace triple de carbono-carbono, en donde alquilo es como se definió anteriormente.

El término "alcoxi", tal como se utiliza en la presente invención, a menos que se indique lo contrario, incluye grupos O-alquilo, en donde alquilo es como se definió anteriormente.

El término "Me" significa metilo, "Et" significa etilo y "Ac" significa acetilo.

El término "cicloalquilo", tal como se utiliza en la presente invención, a menos que se indique lo contrario, se refiere a un hidrocarburo no aromático, saturado o parcialmente saturado, monocíclico o fusionado, espiro o bicíclico o tricíclico no fusionado referido en la presente invención como que contiene un total de 3 a 10 átomos de carbono, preferentemente de 5 a 8 átomos de carbono de anillo. Los cicloalquilos de ejemplo incluyen anillos monocíclicos que tienen de 3 a 7, preferentemente 3 a 6 átomos de carbono, tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, y similares. Los ejemplos ilustrativos de cicloalquilo se derivan de, pero no se limitan a, los siguientes:



y

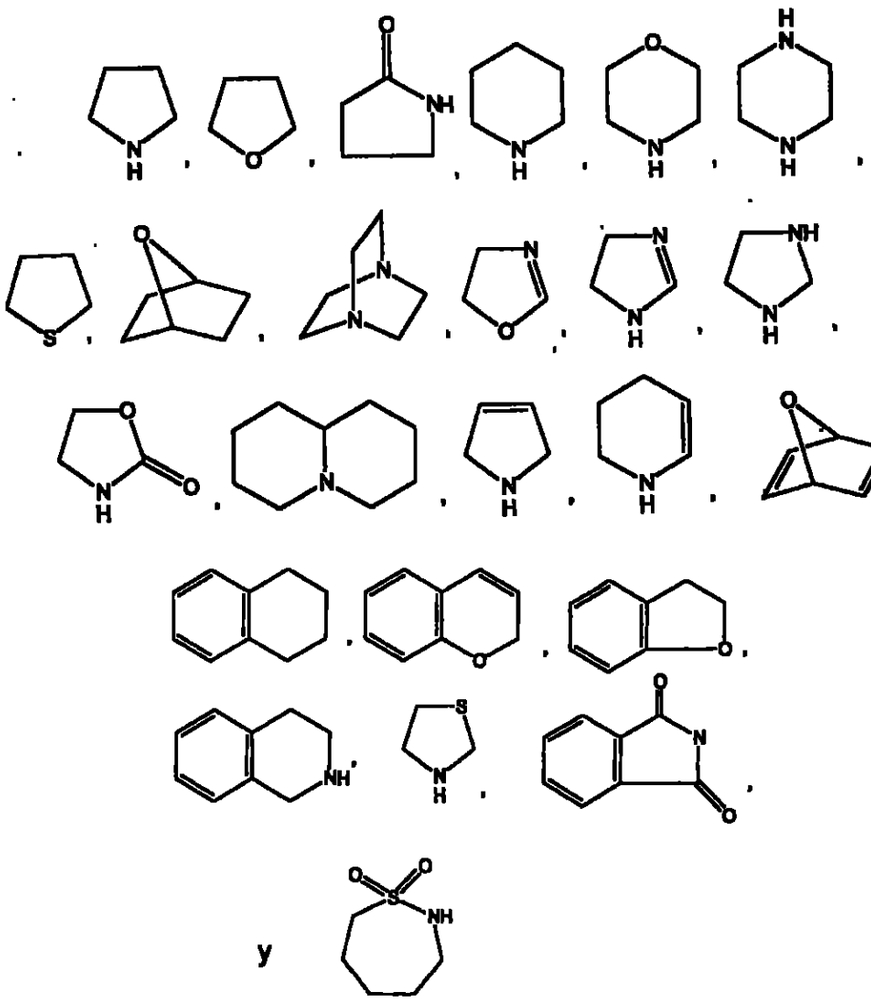
El término "arilo", tal como se utiliza en la presente invención, a menos que se indique lo contrario, incluyen un radical orgánico derivado de un hidrocarburo aromático mediante la eliminación de un hidrógeno, tal como fenilo o naftilo.

El término "heterocíclico de 4 a 10 miembros", tal como se utiliza en la presente invención, a menos que se indique lo contrario, incluye grupos heterocíclicos aromáticos y no aromáticos que contienen uno a cuatro heteroátomos, seleccionados cada uno de O, S y N, en donde cada grupo heterocíclico tiene de 4 a 10 átomos en su sistema de anillos, y siempre que el anillo de dicho grupo no contenga dos átomos O ó S adyacentes. Los grupos heterocíclicos no aromáticos incluyen grupos que tienen únicamente 4 átomos en su sistema de anillos, aunque los grupos heterocíclicos aromáticos deben tener al menos 5 átomos en su sistema de anillos. Los grupos heterocíclicos incluyen sistemas de anillo fusionados-benzo. Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 4 miembros es azetidinilo (derivado de azetidina). Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 5

162

miembros es tiazolilo y un ejemplo de un grupo heterocíclico de 10 miembros es quinolinilo. Los ejemplos de grupos heterocíclicos no aromáticos son pirrolidinilo, tetrahidrofuranilo, dihidrofuranilo, tetrahidrotienilo, tetrahidropiranilo, dihidropiranilo, tetrahidrotiopiranilo, piperidino, morfolino, tiomorfolino, tioxanilo, piperazinilo, azetidinilo, oxetanilo, tietanilo, homopiperidinilo, oxepanilo, tiepanilo, oxazepinilo, diazepinilo, tiazepinilo, 1,2,3,6-tetrahidropiridinilo, 2-pirrolinilo, 3-pirrolinilo, indolinilo, 2H-piranilo, 4H-piranilo, dioxanilo, 1,3-dioxolanilo, pirazolinilo, ditianilo, ditiolanilo, dihidropiranilo, dihidrotienilo, dihidrofuranilo, pirazolidinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, 3-azabiciclo[3.1.0]hexanilo, 3-azabiciclo[4.1.0]heptanilo, 3H-indolilo y quinolizinilo. Los ejemplos de grupos heterocíclicos aromáticos son piridinilo, imidazolilo, pirimidinilo, pirazolilo, triazolilo, pirazinilo, tetrazolilo, furilo, tienilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isotiazolilo, pirrolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, indolilo, benzimidazolilo, benzofuranilo, cinolinilo, indazolilo, indolizinilo, ftalazinilo, piridazinilo, tiazinilo, isoindolilo, pteridinilo, purinilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, furazanilo, benzofurazanilo, benzotiofenilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, naftiridinilo, y furopiridinilo. Los grupos anteriores, tal como se derivan de los grupos descritos anteriormente, pueden ser adheridos-C o adheridos-N cuando tal cosa sea posible. Por ejemplo, un grupo derivado de pirrole puede ser pirrol-1-ilo (adherido-N) o pirrol-3-ilo (adherido-C). Además, un grupo derivado de imidazole puede ser

imidazol-1-ilo (adherido-N) o imidazol-3-ilo (adherido-C). El heterociclo de 4 a 10 miembros puede ser opcionalmente substituido en cualés quiera átomo(s) de carbono, azufre o nitrógeno del anillo mediante uno a dos oxo, por anillo. Un ejemplo de un grupo heterocíclico, en donde 2 átomos de carbono del anillo son substituidos con porciones oxo, es 1,1-dioxo-tiomorfolinilo. Otros ejemplos ilustrativos de heterocíclico de 4 a 10 miembros se derivan, pero no se limitan a, los siguientes:



y

En los compuestos de la fórmula I, en donde se utilizan términos tales como $(CR^7R^8)_t$, R^7 y R^8 pueden variar con cada interacción de t arriba de 1. Por ejemplo, cuando t es 2 el término $(CR^7R^8)_t$ puede ser igual a $-CH_2CH_2-$, o $-CH(CH_3)C(CH_2CH_3)(CH_2CH_2CH_3)-$, o cualquier número de porciones similares que estén dentro del alcance de las definiciones de R^7 y R^8.

El término "inmunomodulador" se refiere a productos naturales o sintéticos con la capacidad de modificar el sistema inmune normal o aberrante a través de estimulación o supresión.

El término "prevenir" se refiere a la capacidad de un compuesto o composición de la presente invención de prevenir una enfermedad identificada en la misma, en pacientes diagnosticados, teniendo la enfermedad o quienes están en riesgo de desarrollar la misma. El término también comprende prevenir el progreso adicional de la enfermedad, en pacientes que ya están padeciendo o que tienen síntomas de dicha enfermedad.

El término "paciente" o "sujeto" significa un animal (por ejemplo, vaca, caballo, oveja, cerdo, pollo, pavo, codorniz, gato, perro, ratón, rata, conejo, cerdo de guinea, etc.) o un mamífero, incluyendo animales y mamíferos quiméricos y transgénicos. En el tratamiento o prevención de infección HCV, el término "paciente" o "sujeto" significa preferentemente un mono o un humano, más preferentemente un humano. En una modalidad específica, el paciente o sujeto está infectado o expuesto al virus de hepatitis C.

En ciertas modalidades, el paciente es un infante humano (edad de 0 a 2 años), niño (edad de 2 a 17 años), adolescente (edad de 12 a 17 años), adulto (edad de 18 años en adelante) o geriátrico (edad de 70 años en adelante). Además, el paciente incluye pacientes inmunocomprometidos tales como pacientes VIH positivos, pacientes con cáncer, pacientes que pasan por inmunoterapia o quimioterapia. En una modalidad particular, el paciente es un individuo sano, es decir, no muestra síntomas de otras infecciones virales.

El término "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad del compuesto de la presente invención, suficiente para proporcionar un beneficio en el tratamiento o prevención de enfermedad viral, retrasar o minimizar los síntomas asociados con infección viral o enfermedad inducida por virus, o para curar o disminuir la enfermedad o infección o causa de la misma. En particular, una cantidad terapéuticamente efectiva significa una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico *in vivo*. Utilizado en relación con una cantidad de un compuesto de la presente invención, el término comprende preferentemente una cantidad no tóxica que mejora la terapia en general, reduce o evita síntomas o causas de enfermedad, o aumenta la eficiencia terapéutica o sinergias con otro agente terapéutico.

El término una "cantidad profilácticamente efectiva" se refiere a una cantidad de un compuesto de la presente invención u otro ingrediente activo suficiente para dar como resultado la prevención de infección, recurrencia o dispersión de infección viral. Una

cantidad profilácticamente efectiva puede referirse a una cantidad suficiente para prevenir la infección inicial o la recurrencia o dispersión de la infección o una enfermedad asociada con la infección. Utilizada en relación con una cantidad de un compuesto de la presente invención, el término comprende preferentemente una cantidad no tóxica que mejora la profilaxis general o aumenta la eficacia profiláctica de, o sinergias con, otro agente profiláctico o terapéutico.

El término "en combinación" se refiere al uso de más de un agente profiláctico y/o terapéutico en forma simultánea o en secuencias, y en una forma que sus efectos respectivos son aditivos o sinérgicos.

El término "tratamiento" se refiere a:

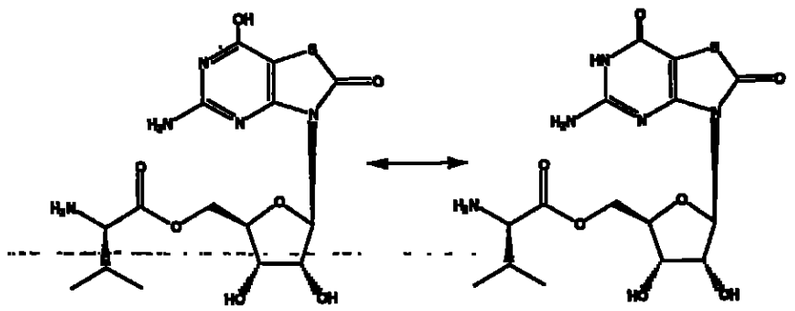
(i) prevenir una enfermedad, padecimiento, o condición para que no ocurra en un animal que puede estar predispuesto a la enfermedad, padecimiento y/o condición, pero que aún no ha sido diagnosticado como teniéndolo;

(ii) inhibir la enfermedad, padecimiento, o condición, es decir, detener su desarrollo; y

(iii) aliviar la enfermedad, padecimiento, o condición, es decir, originar la regresión de la enfermedad, padecimiento, y/o condición.

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

Los compuestos de la presente invención pueden exhibir el fenómeno de tautomerismo. Aunque la fórmula I no ilustra en forma expresa todas las posibles formas tautoméricas, quedará entendido que la fórmula I está proyectada para representar cualquier forma tautomérica del compuesto ilustrado, y no quedará limitado meramente a una forma de compuesto específica ilustrada a través de los dibujos de la fórmula. Por ejemplo, para la fórmula I queda entendido que no importa si los substituyentes se muestran o no en su forma enol o su forma ceto, representan el mismo compuesto (tal como se muestra en el ejemplo que se encuentra más adelante).



Algunos de los compuestos de la presente invención pueden existir como estereoisómeros simples (es decir, esencialmente libres de otros estereoisómeros), racematos y/o mezclas de enantiómeros y/o diastereómeros. Todos de dichos estereoisómeros simples, racematos y mezclas de los mismos, están proyectados para estar dentro del alcance de la presente invención. Preferentemente, los compuestos de la presente invención que son ópticamente activos, se utilizan en forma ópticamente pura.

Tal como lo podrán apreciar de manera general los expertos en

la técnica, un compuesto ópticamente puro que tiene un centro quirálico (es decir, un átomo de carbono asimétrico) es uno que consiste esencialmente en uno de los dos posibles enantiómeros (es decir, es enantioméricamente puro), y un compuesto ópticamente puro que tiene más de un centro quirálico es uno que es tanto diastereoméricamente puro como enantioméricamente puro. Preferentemente, los compuestos de la presente invención se utilizan en una forma que es al menos el 90% ópticamente puro, esto es, una forma que contiene al menos el 90% de un isómero simple (80% de exceso enantiomérico ("e.e.") o exceso diastereomérico ("d.e.")), más preferentemente, al menos 95% (90% e.e. o d.e.), incluso más preferentemente al menos 97.5% (95% e.e. o d.e.), y lo más preferentemente al menos 99% (98% e.e. o d.e.).

Además, la fórmula I está proyectada para cubrir formas solvatadas así como no solvatadas de las estructuras identificadas. Por ejemplo, la fórmula I incluye compuestos de la estructura indicada tanto en formas hidratadas como no hidratadas. Otros ejemplos de solvatos incluyen las estructuras en combinación con isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético, o etanolamina.

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

Un "profármaco farmacéuticamente aceptable" es un compuesto

que puede convertirse bajo condiciones fisiológicas o mediante solvolisis, en el compuesto específico o en una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto, antes de exhibir su efecto(s) farmacológico. Normalmente, el profármaco se formula con el objeto(s) de mejorar la estabilidad química, de mejorar la aceptación y cumplimiento del paciente, de mejorar la biodisponibilidad, de prolongar la duración de acción, de mejorar la selectividad do órganos, de mejorar la formulación (por ejemplo, hidrosolubilidad incrementada), y/o disminuir los efectos secundarios (por ejemplo, toxicidad). El profármaco puede prepararse fácilmente a partir de los compuestos de la fórmula I, utilizando métodos conocidos en la técnica, tales como los descritos en la publicación de *Burger's Medicinal Chemistry y Drug Chemistry*, 1, 172-178, 949-982 (1995). Ver también la publicación Bertolini y asociados., *J. Med. Chem.*, 40, 2011-2016 (1997); Shan y asociados., *J. Pharm. Sci.*, 86 (7), 765-767; Bagshawe, *Drug Dev. Res.*, 34, 220-230 (1995); Bodor, *Advances in Drug Res.*, 13, 224-331 (1984); Bundgaard, *Design of Prodrugs* (Elsevier Press 1985); Larsen, *Design and Application of Prodrugs*, Drug Design and Development (Krogsgaard-Larsen y asociados, eds., Harwood Academic Publishers, 1991); Dear y asociados, *J. Chromatogr. B*, 748, 281-293 (2000); Spraul y asociados, *J. Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 10, 601-605 (1992); y en la publicación de Prox y asociados, *Xenobiol.*, 3, 103-112 (1992).

Un "metabolito farmacéuticamente activo" está proyectado para

significar un producto farmacológicamente activo producido a través del metabolismo en el cuerpo de un compuesto específico o sal del mismo. Después de entrar en el cuerpo, la mayor parte de los fármacos son substratos para reacciones químicas que pueden cambiar sus propiedades físicas y efectos biológicos. Estas conversiones metabólicas, las cuales normalmente afectan la pluralidad de los compuestos de la fórmula I, alteran la forma en la cual los fármacos son distribuidos y excretados del cuerpo. Sin embargo, en algunos casos, el metabolismo de un fármaco es requerido para efecto terapéutico. Por ejemplo, los fármacos anti-cáncer de la clase anti-metabolitos deben convertirse a sus formas activas después de haber sido transportados en una célula cancerígena.

Ya que la mayor parte de los fármacos pasan por transformación metabólica de algún tipo, las reacciones bioquímicas que juegan un papel importante en el metabolismo del fármaco, pueden ser numerosas y diversas. El sitio principal del metabolismo del fármaco es el hígado, aunque también pueden participar otros tejidos.

Una característica de muchas de estas transformaciones es que los productos metabólicos, o "metabolitos", son más polares que los fármacos de origen, aunque un fármaco polar algunas veces produce un producto menos polar. Las substancias con altos coeficientes de división lípido/agua, que pasan fácilmente a través de las membranas, también se dispersan de regreso fácilmente

desde la orina tubular a través de las células tubulares renales dentro del plasma. Por lo tanto, dichas substancias tienden a tener un bajo despeje renal y una larga persistencia en el cuerpo. Si un fármaco es metabolizado a un compuesto más polar, uno con un coeficiente de división inferior, su reabsorción tubular será altamente reducida. Sin embargo, los mecanismos de secreción específicos para aniones y cationes en los túbulos renales proximales y en las células de hígado parénquimales operan en substancias altamente polares.

Como un agente específico, la fenacetina (acetofenetidina) y acetanilida ambos son agentes analgésicos y antipiréticos suaves, aunque se transforman dentro del cuerpo a un metabolito más polar y más efectivo, p-hidroxiacetanilido (acetaminofen), el cual es ampliamente utilizado en la actualidad. Cuando se administra una dosis de acetanilida a una persona, los metabolitos sucesivos se elevan y disminuyen en el plasma en forma secuencial. Durante la primera hora, la acetanilida es el componente de plasma principal. En la segunda hora, ya que el nivel de acetanilida cae, la concentración de acetaminofen de metabolito alcanza un pico. Finalmente, después de algunas horas, el componente de plasma principal es un metabolito adicional que es inerte y puede ser excretado del cuerpo. Por lo tanto, las concentraciones de plasma de uno o más metabolitos, así como el propio fármaco, pueden ser farmacológicamente importantes.

Una "sal farmacéuticamente aceptable" está proyectada para

175
172

significar una sal que retiene la efectividad biológica de los ácidos libres y bases del compuesto específico, y que no es biológicamente indeseable o de otra manera indeseable. Un compuesto de la presente invención puede poseer suficiente ácido, o suficiente base, o ambos grupos funcionales, y por consiguiente reaccionar con cualquiera de un número de bases orgánicas e inorgánicas, y ácidos orgánicos e inorgánicos, para formar una sal farmacéuticamente aceptable. Las sales farmacéuticamente aceptables de ejemplo incluyen aquellas sales preparadas mediante la reacción de los compuestos de la presente invención, con un mineral o ácido orgánico o una base inorgánica, incluyendo dichas sales sulfatos, pirosulfatos, bisulfatos, sulfitos, bisulfitos, fosfatos, monohidrogenfosfatos, dihidrogenfosfatos, metafosfatos, pirofosfatos, cloruros, bromuros, yoduros, acetatos, propionatos, decanoatos, caprilatos, acrilatos, formatos, isobutiratos, caproatos, heptanoatos, propiolatos, oxalatos, malonatos, succinatos, suberatos, sebacatos, fumaratos, maleatos, butine-1,4-dioatos, hexine-1,6-dioatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, dinitrobenzoatos, hidroxibenzoatos, metoxibenzoatos, ftalatos, sulfonatos, xilenosulfonatos, fenilacetatos, fenilpropionatos, fenilbutiratos, citratos, lactatos, γ-hidroxibutiratos, glucolatos, tartratos, metano-sulfonatos, propanosulfonatos, naftaleno-1-sulfonatos, naftaleno-2-sulfonatos, y mandelatos.

Si el compuesto de la presente invención es una base, la sal farmacéuticamente aceptable deseada puede prepararse a través de

cualquier método adecuado disponible en la técnica, por ejemplo el tratamiento de la base libre con un ácido inorgánico, tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, o con un ácido orgánico tal como ácido acético, ácido maleico, ácido succínico, ácido mandélico, ácido fumárico, ácido malónico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido glucólico, ácido salicílico, ácido piranosidílico, tal como ácido glucurónico o ácido galacturónico, un alfa-hidroxi ácido, tal como ácido cítrico o ácido tartárico como un aminoácido tal como ácido aspártico o ácido glutámico, un ácido aromático tal como ácido benzoico o ácido cinámico, un ácido sulfónico, tal como ácido p-toluenosulfónico o ácido etanosulfónico o similares.

Si el compuesto de la presente invención es un ácido, la sal farmacéuticamente aceptable puede prepararse a través de cualquier método adecuado, por ejemplo, el tratamiento del ácido libre con una base orgánica o inorgánica, tal como una amina (primaria, secundaria o terciaria), un hidróxido de metal alcali o hidróxido de metal de tierra alcalina, o similares. Los ejemplos ilustrativos de sales adecuadas incluyen sales orgánicas derivadas de aminoácidos, tales como glicina y arginina, amonia, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas cíclicas, tales como piperidina, morfolina, y piperazina, y sales inorgánicas derivadas de sodio, calcio, potasio, magnesio, manganeso, hierro, cobre, zinc, aluminio y litio.

En el caso de agentes que son sólidos, quedará entendido para los expertos en la técnica, que los compuestos y sales de la presente

invención pueden existir en diferentes formas de cristal o polimórficas, las cuales todas están proyectadas para estar dentro del alcance de la presente invención y fórmulas especificadas.

Métodos de Tratamiento y Prevención de Infecciones Virales por Hepatitis C

La presente invención proporciona métodos para tratar o prevenir una infección por virus de hepatitis C, en un paciente que necesita de dichos métodos.

La presente invención proporciona además métodos para introducir una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de la fórmula I o una combinación de dichos compuestos en el torrente sanguíneo de un paciente en el tratamiento y/o prevención de infecciones virales por hepatitis C.

Sin embargo, podrá variar la magnitud de una dosis profiláctica o terapéutica de un compuesto de la fórmula I de la presente invención o una sal, solvato o hidrato, farmacéuticamente aceptable del mismo en el tratamiento agudo o crónico o prevención de una infección, dependiendo de la naturaleza y severidad de la infección, y la ruta a través de la cual se administra el ingrediente activo. La dosis, y en algunos casos la frecuencia de la dosis, también variarán de acuerdo con la infección que sea tratada, la edad, peso corporal y respuesta del paciente individual. Los regímenes de dosificación adecuados pueden ser seleccionados fácilmente por los expertos en la técnica, con una debida consideración de dichos factores.

Los métodos de la presente invención están particularmente bien adaptados para pacientes humanos. En particular, los métodos y dosis de la presente invención pueden ser útiles para pacientes inmunocomprometidos incluyendo, pero sin limitarse a pacientes con cáncer, pacientes infectados con VIH y pacientes con una enfermedad inmunodegenerativa. Además, los métodos pueden ser útiles para pacientes inmunocomprometidos normalmente en un estado de remisión. Los métodos y dosis de la presente invención, también son útiles para pacientes que pasan por otros tratamientos antivirales. Los métodos de prevención de la presente invención, son particularmente útiles para pacientes en riesgo de infección viral. Estos pacientes incluyen, pero no se limitan a trabajadores del cuidado de la salud, por ejemplo, doctores, enfermeras, quienes proporcionan cuidados en hospicios; personal militar; maestros; quienes trabajan al cuidado de los niños; pacientes que viajan, que viven, en lugares en el extranjero, en particular localidades del tercer mundo que incluyen trabajadores de ayuda social, misioneros y diplomáticos en el extranjero. Finalmente, los métodos y composiciones incluyen el tratamiento a pacientes refractarios o pacientes resistentes a tratamientos, tales como resistencia a inhibidores de transcriptasa inversa, inhibidores de proteasa, etc.

Dosis

La toxicidad y eficacia de los compuestos de la presente invención, se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales

experimentales, por ejemplo, para determinar el LD_{50} (la dosis letal para el 50% de la población) y ED_{50} (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población). La proporción de dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la proporción LD_{50}/ED_{50}.

Los datos obtenidos de los ensayos de cultivo celular y estudios de animales se pueden utilizar para formular un rango de dosificación de los compuestos para uso en humanos. La dosificación de dichos compuestos está preferentemente dentro de un rango de concentraciones en la circulación que incluyen el ED_{50} con poca o nada de toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este rango dependiendo de la forma de dosificación empleada y la ruta de administración utilizada. Para cualquier compuesto utilizado en el método de la presente invención, la dosis terapéuticamente efectiva puede estimarse inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Se puede formular una dosis en modelos animales para lograr un rango de concentración en plasma en la circulación que incluye el IC_{50} (por ejemplo, la concentración del compuesto de prueba que logra una inhibición máxima-media de los síntomas) tal como se determina en el cultivo celular; como alternativa, la dosis del compuesto de la fórmula I puede formularse en modelos animales para lograr un rango de concentración en plasma de circulación del compuesto que corresponda a la concentración requerida para lograr una magnitud de respuesta fija. Dicha información puede utilizarse para determinar en forma más precisa, las dosis útiles en humanos.

178
177

Los niveles en plasma pueden medirse, por ejemplo, a través de cromatografía líquida de alto desempeño.

Los protocolos y composiciones de la presente invención, se prueban preferentemente *In vitro*, y posteriormente *In vivo*, para la actividad terapéutica o profiláctica deseada, antes de utilizarse en humanos. Por ejemplo, los ensayos *In vitro* que pueden utilizarse para determinar si es indicada la administración de un protocolo terapéutico específico, incluyen ensayos de cultivo celular *In vitro*, en los cuales las células que responden a los efectos de los compuestos de la fórmula I están expuestas al ligando y la magnitud de respuesta se mide a través de una técnica adecuada. La evaluación del compuesto de la fórmula I, posteriormente se evalúa con respecto a la potencia del compuesto de la fórmula I, y el grado de conversión del profármaco del compuesto de la fórmula I. Los compuestos para utilizarse en métodos de la presente invención, pueden ser probados en sistemas de modelo animal adecuados antes de probarse en humanos, incluyendo pero sin limitarse a ratas, ratones, pollos, vacas, monos, conejos, hámsters, etc. Posteriormente los compuestos pueden utilizarse en los ensayos clínicos adecuados.

La magnitud de una dosis profiláctica o terapéutica de un profármaco de un compuesto de la fórmula I de la presente invención o una sal, solvato, o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo en tratamiento agudo o crónico o prevención de una infección o condición, variará con la naturaleza y severidad de la infección, y la

ruta mediante la cual se administra el ingrediente activo. La dosis, y posiblemente la frecuencia de dosis también variará de acuerdo con la infección que será tratada, la edad, el peso corporal y la respuesta del paciente individual. Los regímenes de dosificación adecuados pueden ser fácilmente seleccionados por los expertos en la técnica, con una debida consideración de dichos factores. En una modalidad, la dosis administrada depende del compuesto específico que será utilizado, y el peso y condición del paciente. Así mismo, la dosis puede diferir para varios compuestos de la fórmula I; las dosis adecuadas pueden anticiparse sobre las bases de las medidas *in vitro* antes mencionadas, en particular por el uso de dichas medidas de isatoribina (1) con el cual se relaciona el compuesto de la fórmula I, y en las bases de estudios animales, de modo que las dosis más pequeñas sean adecuadas para los compuestos de la fórmula I que muestran efectividad en concentraciones inferiores que otros compuestos de la fórmula I, cuando se miden en los sistemas descritos o aquí referenciados. En general, la dosis por día está dentro del rango de desde aproximadamente 0.001 hasta 100 mg/kg, preferentemente desde aproximadamente 1 hasta 25 mg/kg, más preferentemente desde aproximadamente 5 hasta 15 mg/kg. Para el tratamiento de humanos infectados por virus de hepatitis C, aproximadamente 0.1 mg hasta aproximadamente 15 g por día se administran aproximadamente una a cuatro divisiones en un día, preferentemente 100 mg a 12 g por día, más preferentemente de 100 mg a 8000 mg por día.

En una modalidad preferida para compuestos tales como profármacos de 3-β-D-ribofuralanositiazolo[4,5-d]pirimidinas de 200 mg a 8000 mg por día se administran una a cuatro divisiones por día. Además, la dosis diaria recomendada puede administrarse en ciclos como agentes simples o en combinación con otros agentes terapéuticos. En una modalidad, la dosis diaria se administra en una dosis simple o en dosis divididas de manera equitativa. En una modalidad relacionada, la dosis diaria recomendada puede administrarse una vez por semana, dos veces por semana, tres veces por semana, cuatro veces por semana o cinco veces por semana.

En una modalidad preferida, los compuestos de la presente invención se administran para proporcionar la distribución sistémica del compuesto dentro del paciente. En una modalidad relacionada, los compuestos de la presente invención se administran para producir un efecto sistémico en el cuerpo.

En otra modalidad los compuestos de la presente invención se administran vía oral, mucosa (incluyendo sublingual, bucal, rectal, nasal, o vaginal), parenteral (incluyendo subcutáneo, intramuscular, inyección de bolo, intra-arterial, o intravenosa), transdérmica o tópica. En una modalidad específica los compuestos de la presente invención se administran a través de mucosa (incluyendo sublingual, bucal, rectal, nasal, o vaginal), parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, inyección de bolo, intra-arterial, o intravenosa), transdérmica, o administración tópica. En una modalidad específica

adicional, los compuestos de la presente invención se administran vía administración oral. En una modalidad específica adicional, los compuestos de la presente invención no se administran mediante administración oral.

Diferentes cantidades terapéuticamente efectivas pueden aplicar para diferentes infecciones, tal como es sabido para los expertos en la técnica. En forma similar, las cantidades suficientes para tratar o prevenir dichas infecciones, aunque insuficientes para originar, o suficientes para reducir, los efectos adversos y asociados con terapias convencionales también están comprendidos en las cantidades de dosificación y programas de frecuencia de dosis antes descritos.

Terapia de Combinación

Los métodos específicos de la presente invención, comprenden además la administración de un agente terapéutico adicional (por ejemplo, un agente terapéutico además de un compuesto de la presente invención). En ciertas modalidades de la presente invención, los compuestos de la presente invención se pueden utilizar en combinación con al menos otro agente terapéutico. Los agentes terapéuticos incluyen, pero no se limitan a antibióticos, agentes antieméticos, antidepresores y agentes antifúngicos, agentes anti-inflamatorios, agentes antivirales, agentes anti-cáncer, agentes inmunomoduladores, β-interferones, agentes de alquilación, hormonas o citocinas. En una modalidad preferida la presente invención comprende la administración de un agente terapéutico

adicional que es específico de HCV o que demuestra actividad anti-HCV.

Los compuestos de la fórmula I de acuerdo con la presente invención, se pueden administrar o formular en combinación con antibióticos. Por ejemplo, se pueden formular con un macrolido (por ejemplo, tobramicina (Tobi®)), una cefalosporina (por ejemplo, cefalexina (Keflex®), cefradina (Velosef®), cefuroxima (Ceftin), cefprozil (Cefzil®), cafaclor (Ceclor®), cefixima (Suprax) o cefadroxil (Duricef®)), una claritromicina (por ejemplo, claritromicina (Biaxin®)), una eritromicina (por ejemplo, eritromicina (EMycin®)), una penicilina (por ejemplo, penicilina V (V-Cillin K® o Pen Vee K)) o una quinolona (por ejemplo, ofloxacina (Floxin®), ciprofloxacina (Cipro®) o norfloxacina (Noroxina®)), antibióticos de aminoglucósido (por ejemplo, apramicina, arbecacina, bambermicinas, butirosina, dibecacina, neomicina, neomicina, undecilenato, netilmicina, paromomicina, ribostamicina, sisomicina, y espectonomicina), antibióticos de anfenicol, por ejemplo, azidanfenicol, cloranfenicol, florfenicol y tianfenicol), antibióticos de ansamicina, por ejemplo, rifamida y rifampina), carbacefems (por ejemplo, loracarbef), carbapenems (por ejemplo, biapenem e imipenem), cefalosforinas (por ejemplo, cefaclor, cefadroxil, cefamandoles, cefatricina, cefacedona, cefozopran, cefpimizole, cefpiramida y cefpiroma), cefamicinas (por ejemplo, cefbuperazona, cefmetazola y cefminox), monobactams (por ejemplo, aztreonam, carumonam y tigemonam), oxacefems (por ejemplo flomoxef y moxalactam), penicilinas (por

ejemplo, amdinocilina, amdinocilina pivoxil, amoxicilina, bacampicilina, ácido bencilpenicilínico, sodio de bencilpenicilina, epicilina, fenbenicilina, floxacilina, penamcilina, hidroyoduro de penetamato, o-benetamina de penicilina, penicilina 0, penicilina V, benzatina de penicilina V, hidrabamina de penicilina V, penimepicíclina y potasio de fencihicilina), lincosamidas (por ejemplo, clindamicina y lincomicina), anfomicina, baçitracina, capreomicina, colistina, enduracidina, enviomicina, tetraciclinas (por ejemplo, apiciclina, clortetraciclina, ciomociclina y demeciociclina), 2,4-diaminopirimidinas (por ejemplo, brodimoprim), nitrofuranos (por ejemplo, furaltadona y cloruro de furazolio), quinolonas y análogos de los mismos (por ejemplo, cinoxacin, clinafloxacin, flumequine y grepagloxacina), sulfonamidas (por ejemplo, sulfametoxipirazina de acetilo, bencilsulfamida, noprilsulfamida, ftalilsulfacetamida, sulfacrisoidina y sulfacitina), sulfonas (por ejemplo, diatimosulfona, sodio de glucosulfona y solasulfona), cicloserina, mupirocina y tuberina.

Los compuestos de la fórmula I de la presente invención, también se pueden administrar o formular en combinación con un agente antiemético. Los agentes antieméticos incluyen, pero no se limitan a, metoclopromida, domperidona, proclorperazina, prometazina, clorpromazina, trimetobenzamida, ondansetron, granisetron, hidroxizina, monoetanolamina de acetileucina, alizaprida, azasetron, benzquinamida, bietanautina, bromoprida, buclizina, cleboprida, ciclizina, dimenhidrinato, difenidol, dolasetron,

meclizina, metalatal, metopimazina, nabilone, oxiperdilo, pipamizina, escopolamina, sulpirida, tetrahidrocanabinoles, trietilperazina, tioproperazina, tropisetron y mezclas de los mismos.

Los compuestos de la fórmula I de la presente invención, se pueden administrar o formular en combinación con un antidepresivo. Los antidepresivos adecuados incluyen, pero no se limitan a, binedalina, caroxazona, citalopram, dimetazan, fencamina, indalpina, clorhidrato de indeloxazina, nefopam, nomifensina, oxitriptan, oxipertina, paroxetina, sertralina, tiazesim, trazodone, benmoxina, iproclozida, iproniazid, isocarboxazid, nialamida, ocatamoxina, fenelzina, cotinina, roliciprina, rolipram, maprotilina, metralindole, mianserina, mirtazepina, adinazolam, amitriptilina, amitriptilinoxido, amozapina, bitriptileno, clomipramina, demexiptilina, desipramina, dibenzepina, dimetacrina, dotiopina, doxepina, fluacizina, imipramina, N-óxido de imipramina, iprindole, lofepramina, melitracen, metapramina, nortriptilina, noxiptilina, opipramol, pizotilina, propizepina, protriptilina, quinupramina, tianeptina, trimipramina, adrafinil, benactizina, bupropion, butacetina, dioxadrol, duloxetina, etoperidona, febarbamato, femoxetina, fenpentadiol, fluoxetina, fluvoxamina, hematoporfirina, hipericina, levofacetoperano, medifoxamina, milnacipran, minaprina, moclobemida, nefazodona, oxaflozano, piberalina, prolintano, pirisuccideanol, ritanserina, roxindole, cloruro de rubidio, sulpirida, tandoespirona, tozalinona, tofenacina, toloxatona, tranilcipromina, L-triptofan, venalfaxina, viloxazina y zimeldina.

Los compuestos de la fórmula I de la presente invención, se pueden administrar o formular en combinación con agentes antifúngicos. Los agentes antifúngicos adecuados incluyen pero no se limitan a anfotericina B, itraconazole, cetoconazole, flucanozole, intratecal, flucitosina, miconazole, butoconazole, clotrimazole, nistatina, terconazole, tioconazole, ciclopirox, econazole, haloprogrin, naftifina, terbinafina, undecilenato y griseofulvina.

Los compuestos de la fórmula I de la presente invención, se pueden administrar o formular en combinación con un agente anti-inflamatorio. Los agentes anti-inflamatorios útiles incluyen, pero no se limitan a, fármacos anti-inflamatorios no esteroidales tales como ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, salicilato de metilo, diflunisal, salsalato, olsalazina, sulfasalazina, acetaminofen, indometacina, sulindac, etodolac, ácido mefenámico, sodio de meclofenamato, tolmetina, cetorolac, diclofenac, ibuprofen, naproxen, sodio de naproxen, fenoprofen, cetoprofen, flurbinprofen, oxaprozina, piroxicam, meloxicam, ampiroxicam, droxicam,. pivoxicam, tenoxicam, nabumetome, fenilbutazona, oxifenbutazona, antipirina, aminopirina, apazona y nimesulida; antagonistas de leucotrieno incluyen pero no se limita a, zileuton, aurotioglucosa, tiomalato de sodio dorado y auranofin; los esteroides incluyen, pero no se limitan a, dipropionato de alclometasona, amcinonida, dipropionato de beclometasona, betametasona, benzoato de betametasona, dipropionato de betametasona, fosfato de sodio de betametasona, valerato de betametasona, proprionato de clobetasol, pivalato de clocortolona,

hidrocortisona, derivados de hidrocortisona, desonida, desoximatasona, dexametasona, flunisolida, flucoxinolida, flurandrenolida, halcinocida, medrisona, metilprednisolona, acetato de metprednisolona, succinato de sodio de metilprednisolona, furoato de mometasona, acetato de parametasona, prednisolona, acetato de prednisolona, fosfato de sodio de prednisolona, tebuatato de prednisolona, prednisona, triamcinolona, acetonida de triamcinolona, diacetato de triamcinolona y hexacetonida de triamcinolona; y otros agentes anti-inflamatorios que incluyen, pero no se limitan a, metotrexato, colquicina, alopurinol, probenecid, sulfinpirazona y benzbromarona.

Los compuestos de la fórmula I de la presente invención, se pueden administrar o formular en combinación con otros agentes antivirales. Los agentes antivirales útiles incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de proteasa, inhibidores de transcriptasa inversa de nucleósido, inhibidores de transcriptasa inversa de sin nucleósido y análogos de nucleósidos. Los agentes antivirales incluyen pero no se limitan a, zidovurina, aciclovir, gangciclovir, vidarabina, idoxuridina, trifluridina, levovirina, viramidina y ribavirina, así como foscarnet, amantadina, rimantadina, saquinavir, indinavir, amprenavir, lopinavir, ritonavir, los alfa-interferones; beta-interferones; adefovir, clevadina, entecavir, pleconaril.

El compuesto de la fórmula I de la presente invención, se puede administrar o formular en combinación con un agente inmunomodulador. Los agentes inmunomoduladores incluyen, pero

186

no se limitan a, metotrexato, leflunomida, ciclofosfamida, ciclosporina A, mofetil de micofenolato, rapamicina (sirolimos), mizoribina, deoxispergualina, brequinar, malononitriloamindas (por ejemplo, leflunamida), moduladores de receptor de célula T y moduladores de receptor de citocina, miméticos de péptidos y anticuerpos (por ejemplo, fragmentos humanos, humanizados, quiméricos, monoclonales, policlonales, Fvs, ScFvs, Fab o F(ab)2 o fragmentos de enlace de epítope), moléculas de ácido nucleico (por ejemplo, moléculas de ácido nucleico antisentido y hélices triples), moléculas pequeñas, compuestos orgánicos y compuestos inorgánicos. Los ejemplos de modulador de receptor de célula T incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos de receptor de anti-célula T (por ejemplo, anticuerpos anti-CD4 (por ejemplo, cM-T412 (Boeringer), IDEC-CE9.1® (IDEC y SKB), mAB 4162W94, Ortoclona y OKTcdr4a (Janssen-Cilag)), anticuerpos anti-CD3 (por ejemplo, Nuvion (Product Design Labs), OKT3 (Johnson & Johnson), o Rituxan (IDEC)), anticuerpos anti-CD5 (por ejemplo, un inmunoconjugado enlazado por ricina anti-CD5), anticuerpos anti-CD7 (por ejemplo, CHH-380 (Novartis)), anticuerpos anti-CD8, anticuerpos monoclonales de ligando anti-CD40 (por ejemplo, IDEC-131 (IDEC)), anticuerpos anti-CD52 (por ejemplo, CAMPATH 1H (Ilex)), anticuerpos anti-CD2, anticuerpos anti-CD11 (por ejemplo, Xanelim (Genentech)), y anticuerpos anti-B7 (por ejemplo IDEC-114 (IDEC)) y CTLA4-inmunoglobulina. Los ejemplos de moduladores de receptor de citocina incluyen, pero no se limitan a, receptores de cotocina

X085
187

solubles (por ejemplo, el dominio extracelular de un receptor TNF-α o un fragmento del mismo, el dominio extracelular de un receptor IL-1β o un fragmento del mismo, y el dominio extracelular de un receptor IL-6 o un fragmento del mismo), citocinas o fragmentos de los mismos (por ejemplo, interleucinas (IL)-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-15, TNF-α, interferón (IFN)-α, INF-β, IFN-γ y GM-CSF), anticuerpos de receptor anti-citocina (por ejemplo, anticuerpos de receptor anti-IFN, anticuerpos de receptor anti-IL-2 (por ejemplo, Zenapax (Protein Design Labs)), anticuerpos de receptor anti-IL-4, anticuerpos de receptor anti-IL-6, anticuerpos de receptor anti-IL-10 y anticuerpos de receptor anti-IL12), y anticuerpos anti-citocina (por ejemplo, anticuerpos anti-IFN, anticuerpos anti-TNF-α, anticuerpos anti-IL-1β, anticuerpos anti-IL-6, anticuerpos anti-IL-8 (por ejemplo, ABX-IL-8 (Abgenix)), y anticuerpos anti-IL-12).

Los compuestos de la fórmula I de la presente invención, se pueden administrar o formular en combinación con un agente que inhibe enzimas virales, incluyendo pero son limitarse a inhibidores de proteasa HCV, tales como BILN 2061 e inhibidores de polimerasa NS5b tales como NM107 y su profármaco NM283 (Hindis Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA).

Los compuestos de la fórmula I de la presente invención, se pueden administrar o formular en combinación con un agente el cual inhibe polimerasa HCV, tal como los que se describen en la publicación de Wu, *Curr Drug Targets Infect Disord.* 2003; 3(3): 207-

19 o en combinación con compuestos que inhiben la función de helicasa del virus, tal como los que se describen en la publicación de Bretner M, y asociados, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2003; 22(5-8): 1531, o con inhibidores de otros objetivos específicos HCV, tal como los que se describen en la publicación de Zhang X. *IDrugs.* 2002; 5(2): 154-8.

Los compuestos de la fórmula I de la presente invención, se pueden administrar o formular en combinación con un agente que inhibe la replica viral.

Los compuestos de la fórmula I de la presente invención, se pueden administrar o formular en combinación con citocinas. Los ejemplos de citocinas incluyen, pero no se limitan a, interleucina-2 (IL-2), interleucina-3 (IL-3), interleucina-4 (IL-4), interleucina-5 (IL-5), interleucina-6 (IL-6), interleucina-7 (IL-7), interleucina-9 (IL-9), interleucina-10 (IL-10), interleucina-12 (IL-12), interleucina-15 (IL-15), interleucina 18 (IL-18), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), eritropoyetina (Epo), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento de fibroblasto (FGF), factor de estimulación de macrófago de granulocito (GM-CSF), factor de estimulación de colonia de granulocito (G-CSF), factor de estimulación de colonia de macrófago (M-CSF), prolactina e interferón (IFN), por ejemplo, IFN-alfa, e IFN-gama).

Los compuestos de la fórmula I de la presente invención, se pueden administrar o formular en combinación con hormonas. Los ejemplos de hormonas incluyen, pero no se limitan a, hormona de

liberación de hormona de luteinización (LHRH), hormona de crecimiento (GH), hormona de liberación de hormona de crecimiento, ACTH, somatostatina, somatotropina, somatomedina, hormona de paratiroides, factores de liberación hipotalámicos, insulina, glucagon, encefalinas, vasopresina, calcitonina, heparina, heparinas de bajo peso molecular, heparinoides, opioides sintéticos y naturales, hormonas de estimulación de tiroides de insulina y endorfinas.

Los compuestos de la fórmula I de la presente invención, se pueden administrar o formular en combinación con β-interferones los cuales incluyen, pero no se limitan a, interferón beta-1a, interferón beta-1b.

Los compuestos de la fórmula I de la presente invención, se pueden administrar o formular en combinación con α-interferones, los cuales incluyen, pero no se limitan a, interferón alfa-1, interferón alfa-2a (roferon), interferón alfa-2b, intron, Peg-Intron, Pegasis, interferón de consenso (infergen) y albuferon.

Los compuestos de la fórmula I de la presente invención, se pueden administrar o formular en combinación con un aumentador de absorción, particularmente aquellos que se dirigen al sistema linfático, incluyendo pero sin limitarse a glucocolato de sodio; caprato de sodio; N-lauril-ϑ-D-maltopiranosida; EDTA; micela mezclada; y aquellos reportados en la publicación de Muranishi *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*., 7-1-33, la cual está incorporada en su totalidad a la presente invención como referencia. También se pueden utilizar otros aumentadores de absorción conocidos. Por lo

tanto, la presente invención también comprende una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de la fórmula I de la presente invención, y uno o más aumentadores de absorción.

Los compuestos de la fórmula I de la presente invención, se pueden administrar o formular en combinación con un agente de alquilación. Los ejemplos de agentes de alquilación incluyen, pero no se limitan a mostazas de nitrógeno, etileniminas, metilmelaminas, sulfonatos de alquilo, nitrosoureas, triazenos, mecloretamina, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalan, clorambucil, hexametilmelaina, tiotepa, busulfan, carmustina, estreptozocina, dacarbazina y temozolomida.

Los compuestos de la presente invención y otros agentes terapéuticos pueden actuar en forma aditiva, o más preferentemente, en forma sinérgica. En una modalidad preferida, una composición que comprende un compuesto de la presente invención se administra en forma concurrente con la administración de otro agente terapéutico, el cual puede ser parte de la misma composición, o en una diferente composición a la que comprende los compuestos de la presente invención. En otra modalidad, un compuesto de la presente invención se administra antes o en forma subsecuente a la administración de otro agente terapéutico. En una modalidad por separado, se administra un compuesto de la presente invención a un paciente quien no ha pasado previamente, o no está pasando actualmente por tratamiento con otro agente terapéutico, particularmente un agente antiviral.

En una modalidad, los métodos de la presente invención comprenden la administración de uno o más compuestos de la fórmula I de la presente invención, sin un agente terapéutico adicional.

Composiciones Farmacéuticas y Formas de Dosificación

Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de unidad simple, comprenden un compuesto de la fórmula I de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato del mismo, también están comprendidas en la presente invención. Las formas de dosificación individual de la presente invención pueden ser adecuadas para administración oral, mucosa (incluyendo sublingual, bucal, rectal, nasal o vaginal), parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, inyección de bolo, intraarterial o intravenosa), transdérmica o tópica. Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la presente invención, normalmente también comprenden uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. También están contempladas formas de dosificación estéril.

En una modalidad alternativa, la composición farmacéutica comprendida en esta modalidad, incluye un compuesto de la fórmula I de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o hidrato del mismo, y al menos un agente terapéutico adicional. Los ejemplos de agentes terapéuticos adicionales incluyen, pero no se limitan a, los que se describen en la sección 5.2.2 anterior.

La composición, forma y tipo de formas de dosificación de la presente invención variará normalmente dependiendo de su uso. Por ejemplo, una forma de dosificación utilizada en el tratamiento agudo de una enfermedad o una enfermedad relacionada puede contener grandes cantidades de uno o más de los ingredientes que normalmente contiene una forma de dosificación utilizada en el tratamiento crónico de la misma enfermedad. En forma similar, en particular una forma de dosificación parenteral puede contener cantidades menores de uno o más de los ingredientes activos que comprende una forma de dosificación oral utilizada para tratar el mismo padecimiento o enfermedad. Estas y otras formas en las cuales las formas de dosificación específicas comprendidas en la presente invención variarán de una a otra, podrán ser apreciadas fácilmente por los expertos en la técnica. Ver por ejemplo, la publicación de *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18° edición, Mack Publishing Easton PA (1990). Los ejemplos de formas de dosificación incluyen, pero no se limitan a: tabletas; cápsulas; grageas, tales como cápsulas de gelatina elástica suave; cápsulas; trociscos; pastillas; dispersiones; supositorios; ungüentos cataplasmas (bizmas); pastas; polvos; vendajes; cremas; plastas; soluciones; parches; aerosoles (por ejemplo, rocíos nasales o inhaladores); geles; formas de dosificación líquida adecuadas para administración oral o mucosa a un paciente, incluyendo suspensiones (por ejemplo, suspensiones líquidas acuosas o no acuosas, emulsiones de aceite en agua, o emulsiones líquidas de

193

agua en aceite), soluciones y elixires; formas de dosificación líquidas adecuadas para administración parenteral a un paciente; y sólidos estériles (por ejemplo, sólidos cristalinos o amorfos) que pueden ser reconstituidos para proporcionar formas de dosificación líquida adecuadas para administración parenteral a un paciente.

Las composiciones farmacéuticas típicas y formas de dosificación comprenden uno o más excipientes, vehículos o diluyentes. Los excipientes adecuados son conocidos para los expertos en las técnicas farmacéuticas, y los ejemplos no limitantes de excipientes adecuados se proporcionan en la presente invención. Si un excipiente en particular es adecuado para incorporarse en una composición farmacéutica o forma de dosis, depende de una variedad de factores bien conocidos en la técnica, que incluyen pero no se limitan a, la forma en la cual la forma de dosificación será administrada a un paciente. Por ejemplo, las formas de dosificación oral, tales como tabletas, pueden contener excipientes no adecuados para utilizarse en forma de dosificación parenteral. La capacidad de adaptación de un excipiente particular también puede depender de los ingredientes activos específicos en la forma de dosificación.

La presente invención comprende además composiciones farmacéuticas de anhidro y formas de dosificación que comprenden ingredientes activos, ya que el agua puede facilitar la degradación de algunos compuestos. Por ejemplo, la adición de agua (por ejemplo, 5%) es ampliamente aceptable en las artes farmacéuticas como un medio para simular almacenamiento a largo plazo con el

objeto de determinar características tales como vida en anaquel o la estabilidad de formulaciones con el tiempo. Ver por ejemplo, la publicación de Jens T. Carstensen, *Drug Stability: Principles & Practice*, 2°. Edición., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, páginas 379 a 380. En efecto, el agua y el calor aceleran la descomposición de algunos compuestos. Por lo tanto, el efecto del agua en una formulación puede ser de mayor importancia ya que la humedad y/o humectación se encuentran comúnmente durante la fabricación, manejo, empaque, almacenamiento, envío y uso de las formulaciones.

Las composiciones farmacéuticas de anhidro y las formas de dosificación de la presente invención, se pueden preparar utilizando ingredientes anhidro o que contienen baja humedad y en condiciones de baja humedad y baja humectación.

Una composición farmacéutica anhidro debe prepararse y almacenarse de modo que se mantenga su naturaleza anhidro. Por consiguiente, las composiciones anhidro se empacan preferentemente utilizando materiales conocidos para prevenir la exposición al agua, de modo que puedan ser incluidas en equipos de formulación adecuados. Los ejemplos de empaques adecuados incluyen, pero no se limitan a, láminas selladas herméticamente, plásticos, contenedores de dosis de unidad (por ejemplo, frascos), empaques de burbuja de plástico y empaques de tiras.

La presente invención comprende además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que comprenden uno o más

compuestos que reducen el rango en el cual se descompondrá un ingrediente activo. Dichos compuestos, los cuales son referidos en la presente invención como "estabilizadores", incluyen pero no se limitan a, antioxidantes tales como ácido ascórbico, reguladores de pH y reguladores de sal.

Igual que las cantidades y tipos de excipientes, las cantidades y tipos específicos de ingredientes activos en una forma de dosificación, pueden diferir dependiendo de factores tales como, pero que no se limitan a, la ruta mediante la cual se administrará a los pacientes. Sin embargo, las formas de dosificación típica de la presente invención comprenden compuestos de la fórmula I de la presente invención, o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo que comprende 0.1 mg a 1500 mg por unidad para proporcionar dosis de aproximadamente 0.01 a 200 mg/kg por día.

Formas de Dosificación Oral

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención, que son adecuadas para administración oral se pueden presentar en la forma de formas de dosificación independientes, tales como, pero sin limitarse a, tabletas (por ejemplo, tabletas masticables), cápsulas, píldoras y líquidos (por ejemplo, jarabes con sabor). Dichas formas de dosificación contienen cantidades predeterminadas e ingredientes activos y pueden prepararse a través de métodos de farmacia conocidos para los expertos en la técnica. Ver de manera general la publicación de, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18ª edición., Mack Publishing, Easton PA (1990).

Las formas de dosificación oral típicas de la presente invención, se preparan combinando el ingrediente(s) activo en una mezcla en adiciones profunda con al menos un excipiente de acuerdo con técnicas de generación de compuestos farmacéuticos convencionales. Los excipientes pueden tener una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Por ejemplo, los excipientes adecuados para utilizarse en forma de dosificación líquida oral o en aerosol incluyen, pero no se limitan a, agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes de saborización, conservadores y agentes de coloración. Los ejemplos de excipientes adecuados para utilizarse en formas de dosificación oral (por ejemplo, polvos, tabletas, cápsulas y píldoras) incluyen, pero no se limitan a, almidones, azúcares, celulosa micro-cristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, enlazadores y agentes de desintegración.

Debido a su facilidad de administración, las tabletas y cápsulas representan las formas de unidad de dosis oral más convenientes, en cuyo caso los excipientes sólidos son empleados. Si se desea, las tabletas pueden ser cubiertas a través de técnicas acuosas o no acuosas estándar. Dichas formas de dosificación se pueden preparar a través de cualesquiera de los métodos de farmacia. En general, las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación se preparan mediante mezcla en adiciones de manera uniforme y profunda de los ingredientes activos con vehículos líquidos, vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y posteriormente formando el producto

en la presentación deseada, si es necesaria.

Por ejemplo, una tableta se puede preparar mediante compresión o moldeo. Las tabletas comprimidas se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada los ingredientes activos en una forma de flujo libre, tal como polvo o gránulos, mezclados opcionalmente con un excipiente. Las tabletas moldeadas se pueden elaborar moldeando en una máquina adecuada una mezcla de un compuesto pulverizado humectado con un diluyente líquido inerte. Los ejemplos de excipientes que se pueden utilizar en forma de dosificación oral de la presente invención, incluyen pero no se limitan a, enlazadores, rellenadores, desintegrantes y lubricantes. Los enlazadores adecuados para utilizarse en composiciones farmacéuticas y formas de dosificación, incluyen pero no se limitan a, almidón de maíz, almidón de papa u otros almidones, gelatina, gomas naturales y sintéticas tales como acacia, alginato de sodio, ácido algínico, otros alginatos, tragacanto pulverizado, goma guar, celulosa y sus derivados (por ejemplo, etil celulosa, acetato de celulosa, calcio de carboximetil celulosa, carboximetil celulosa de sodio), pirrolidona de polivinilo, metil celulosa, almidón pre-gelatinizado, hidroxipropil metil celulosa (por ejemplo, Nos. 2208, 2906, 2710), celulosa microcristalina y mezclas de los mismos.

Los ejemplos de rellenadores adecuados para utilizarse en las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación aquí descritos incluyen, pero no se limitan a, talco, carbonato de calcio (por ejemplo, gránulos o polvos), celulosa microcristalina, celulosa

pulverizada, dextratos, caolina, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón, almidón pre-gelatinizado y mezclas de los mismos. El enlazador de rellenador en composiciones farmacéuticas de la presente invención, se encuentra normalmente de desde aproximadamente 50 hasta aproximadamente 99% en peso de la composición farmacéutica o forma de dosificación.

Las formas adecuadas de celulosa microcristalina incluyen, pero no se limitan a, los materiales vendidos como AVICEL-PH-101, AVICEL-PH-103 AVICEL RC-581, AVICEL-PH-105 (disponibles en FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, PA), y mezclas de los mismos. Un enlazador específico es una mezcla de celulosa microcristalina y carboximetil celulosa de sodio vendida como AVICEL RC-581. Los excipientes o aditivos anhidros o de baja humedad adecuados incluyen AVICEL-PH-103™ y Starch 1500 LM.

Los desintegrantes se utilizan en las composiciones de la presente invención, para proporcionar tabletas que se desintegran cuando se exponen a un ambiente acuoso. Las tabletas que contienen demasiado desintegrante pueden desintegrarse en el almacenamiento, en tanto que las que contienen muy poco pueden no desintegrarse en un rango deseado o bajo las condiciones deseadas. Por lo tanto, una suficiente cantidad de desintegrante que ni sea mucha ni poca para alterar de manera perjudicial la liberación de los ingredientes activos, debe utilizarse para formar formas de dosificación oral sólida de la presente invención. La cantidad de

desintegrante utilizado, varía con base en el tipo de formulación y lo pueden determinar fácilmente los expertos en la técnica. Las composiciones farmacéuticas típicas comprenden desde aproximadamente 0.5 hasta aproximadamente 15% en peso del desintegrante, específicamente desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 5% en peso del desintegrante.

Los desintegrantes que pueden ser utilizados en composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la presente invención, incluyen pero no se limitan a, agar-agar, ácido algínico, carbonato de calcio, celulosa microcristalina, sodio de croscarmelosa, crospovidona, potasio de polacrilina, glucolato de almidón de sodio, almidón de papa o tapioca, almidón pre-gelatinizado, otros almidones, arcillas, otras alginas, otras celulosas, gomas y mezclas de los mismos.

Los lubricantes que se pueden utilizar en composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la presente invención, incluyen pero no se limitan a, estearato de calcio, estearato de magnesio, aceite mineral, aceite mineral ligero, glicerina, sorbitol, manitol, polietilénglicol, otros glicoles, ácido esteárico, sulfato laurilo de sodio, talco, aceite vegetal hidrogenado (por ejemplo, aceite de cacahuate, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de olivo, aceite de maíz y aceite de frijol soya), estearato de zinc, oleato de etilo, laureato de etilo, agar y mezclas de los mismos. Los lubricantes adicionales incluyen, por ejemplo, un gel de sílice siloide (AEROSIL 200, fabricado por W.R. Grace Co. of

Baltimore, MD), un aerosol coagulado de sílice sintético (comercializado por Degussa Co. of Plano, TX), CAB-O-SIL (un producto de dióxido de silicón progénico vendido por Cabot Co. of Boston, MA), y mezclas de los mismos. Si no se utilizan, se incorporan lubricantes normalmente utilizados en una cantidad menor a aproximadamente 1% en peso de las composiciones farmacéuticas o formas de dosificación.

Formas de Dosificación de Liberación Retardada

Los ingredientes activos de la presente invención, se pueden administrar mediante medios de liberación controlada o mediante aparatos de suministro que son conocidos para los expertos en la técnica. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, los que se describen en las Patentes Norteamericanas Nos.: 3,845,770; 3,916,899; 3,536,809; 3,598,123 y 4,008,719, 5,674,533, 5,059,595, 5,591,767, 5,120,548, 5,073,543, 5,639,476, 5,354,556, y 5,733,566, cada una de las cuales está incorporada a la presente invención como referencia. Dichas formas de dosificación se pueden utilizar para proporcionar liberación lenta o controlada de uno o más ingredientes activos utilizando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa, otras matrices de polímero, geles, membranas permeables, sistemas osmóticos, recubrimientos de capas múltiples, micropartículas, liposomas, microesferas o una combinación de los mismos para proporcionar el perfil de liberación deseado en proporciones diversas. Las formulaciones de liberación controlada adecuadas conocidas para los expertos en la técnica,

incluyen las que se describen en la presente invención, y pueden ser fácilmente seleccionadas para utilizarse con los ingredientes activos de la presente invención. La presente invención comprende por lo tanto formas de dosificación de unidad simple adecuados para administración oral, tal como, pero que no se limitan a, tabletas, cápsulas, cápsulas de gel y píldoras que están adaptadas para liberación controlada.

Todos los productos farmacéuticos de liberación controlada tienen la meta común de mejorar la terapia con fármacos con respecto a lo que se puede lograr a través de sus contrapartes no controladas. Idealmente, el uso de una preparación de liberación controlada diseñada en forma óptima en tratamiento médico, está caracterizada por emplear un mínimo de la substancia del fármaco para tratar o curar la condición en una mínima cantidad de tiempo. Las ventajas de formulaciones de liberación controlada incluyen actividad prolongada del fármaco, frecuencia de dosificación reducida y cumplimiento del paciente incrementado. Además, las formulaciones de liberación controlada se pueden utilizar para afectar el tiempo de la generación de acción u otras características, tales como niveles sanguíneos del fármaco, y por lo tanto pueden afectar el surgimiento de efectos secundarios (por ejemplo, adversos.

La mayoría de las formulaciones de liberación controlada están diseñadas para liberar inicialmente una cantidad de fármaco (ingrediente activo) que produce rápidamente el efecto terapéutico

deseado, y en forma gradual y continua liberan otras cantidades de fármaco para mantener este nivel de efecto terapéutico o profiláctico durante un período de tiempo prolongado. Con el objeto de mantener este nivel constante del fármaco en el cuerpo, el fármaco debe de ser liberado de la forma de dosificación en un rango que reemplazará la cantidad del fármaco que está siendo metabolizada y excretada del cuerpo. La liberación controlada de un ingrediente activo puede estimularse a través de varias condiciones, incluyendo pero sin limitarse a, pH, temperatura, enzimas, agua u otras condiciones fisiológicas o compuestos.

Forma de Dosificación Parenteral

Las formas de dosificación parenteral se pueden administrar a pacientes a través de varias rutas, incluyendo pero sin limitarse a, subcutánea, intravenosa (incluyendo inyección de bolo), intramuscular e intraarterial. Debido a que su administración normalmente desvía las defensas naturales del paciente contra contaminantes, las formas de dosificación parenteral son preferentemente estériles o tienen la capacidad de ser esterilizadas antes de la administración a un paciente. Los ejemplos de formas de dosificación parenteral incluyen, pero no se limitan a, soluciones listas para inyección, productos secos y/o liofilizados listos para ser disueltos o suspendidos en un vehículo farmacéuticamente aceptable para inyección (polvos reconstituibles), suspensiones listas para inyección y emulsiones.

Los vehículos adecuados que se pueden utilizar para

proporcionar forma de dosificación parenteral de la presente invención, son conocidos para los expertos en la técnica. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a: Agua para Inyección USP; vehículos acuosos tales como, pero sin limitarse a, Inyección de Cloruro de Sodio, Inyección de Ringer, Inyección de Dextrosa, Inyección de Dextrosa y Cloruro de Sodio e Inyección de Ringer Lactada; vehículos que se pueden mezclar con agua tales como, pero sin limitarse a, alcohol etílico, polietilénglicol y polipropilénglicol; vehículos no acuosos tales como, pero sin limitarse a, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuate, aceite de cártamo, oleato de etilo, miristato de isopropilo y benzoato de bencilo. Los compuestos que incrementan la solubilidad de uno o más de los ingredientes activos aquí descritos, también se pueden incorporar en las formas de dosificación parenteral de la presente invención.

Formas de Dosificación Transdérmica

Las formas de dosificación transdérmica incluyen parches "tipo depósito" o "tipo matriz", los cuales se pueden aplicar a la piel y se portan durante un período de tiempo específico para permitir la penetración de una cantidad deseada de ingredientes activos.

Los excipientes adecuados (por ejemplo, vehículos y diluyentes) y otros materiales que se pueden utilizar para proporcionar formas de dosificación transdérmica y tópica comprendidos en la presente invención, son bien conocidos para los expertos en las técnicas farmacéuticas, y dependen del tejido

particular al cual se aplicará una composición farmacéutica o forma de dosificación determinada. Con esto en mente, los excipientes típicos incluyen, pero no se limitan a, agua, acetona, etanol, etilénglicol, propilénglicol, butano-1,3-diol, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, aceite mineral y mezclas de los mismos. Dependiendo del tejido específico que será tratado, se pueden utilizar componentes adicionales antes de, junto con, o en forma subsecuente al tratamiento con ingredientes activos de la presente invención. Por ejemplo, se pueden utilizar aumentadores de penetración para ayudar al suministro de los ingredientes activos al tejido. Los aumentadores de penetración adecuados incluyen, pero no se limitan a: acetona; varios alcoholes tales como etanol, oleilo y tetrahidrofurilo; sulfóxidos de alquilo tales comosulfóxido de dimetilo, acetamida de dimetilo; formamida de dimetilo; polietilénglicol; pirrolidonas tales como polivinilpirrolidona; grados de Kollidon (Povidona, Polividona); urea; y diversos ésteres de azúcar solubles o insolubles en agua tales como Tween 60 (polisorbato 60) y Span 60 (monoestearato de sorbitano).

El pH de una composición farmacéutica o forma de dosificación, o del tejido al cual se aplica la composición farmacéutica o forma de dosis, también se ajustará para mejorar el suministro de uno o más ingredientes activos. En forma similar, la polaridad de un vehículo solvente, su fuerza y única tonicidad se pueden ajustar para mejorar el suministro. Los compuestos tales como estearatos, también se pueden agregar a las composiciones

farmacéuticas o formas de dosificación para alterar de manera conveniente la hidrofilicidad o lipofilicidad de uno o más ingredientes activos para mejorar su suministro. En este aspecto, los estearatos pueden servir como un vehículo de lípidos para la formulación, en la forma de un agente de emulsificación o tensioactivo, y en la forma de un agente que aumenta el suministro o aumenta la penetración. Se pueden utilizar diferentes sales, hidratos o solvatos de los ingredientes activos para ajustar en forma adicional las propiedades de la composición resultante.

Formas de Dosificación Tópica

Las formas de dosificación tópica de la presente invención, incluyen pero no se limitan a, cremas, lociones, ungüentos, geles, soluciones, emulsiones, suspensiones u otras formas conocidas para los expertos en la técnica. Ver por ejemplo, la publicación de *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18° ediciones., Mack Publishing Easton PA (1990); e *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*, 4° edición., Lea & Febiger, Philadelphia (1985).

Los excipientes adecuados (por ejemplo, vehículos y diluyentes) y otros materiales que puedan utilizarse para proporcionar formas de dosificación transdérmica y tópica comprendidos por la presente invención, son bien conocidos para los expertos en las técnicas farmacéuticas, y dependen del tejido particular al cual se aplicara una composición farmacéutica o forma de dosificación determinada. Con esto en mente, los excipientes típicos incluyen, pero no se limitan a, agua, acetona, etanol,

etilénglicol, propilénglicol, butano-1,3-diol, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, aceite mineral, y mezclas de los mismos.

Dependiendo del tejido específico que será tratado, se pueden utilizar los componentes adicionales antes de, junto con, o en forma subsecuente con el tratamiento con los ingredientes activos de la presente invención. Por ejemplo, los aumentadores de penetración se pueden utilizar para ayudar al suministro de los ingredientes activos al tejido. Los aumentadores de penetración adecuados incluyen pero no se limitan a: acetona; varios alcoholes tales como etanol, oleilo, y tetrahidrofurilo; sulfóxidos de alquilo tales como sulfóxido de dimetilo; acetamida de dimetilo; formamida de dimetilo; polietilénglicol; pirrolidonas tales como polivinilpirrolidona; grados Kollidon (Povidona, Polividona); urea; y diversos ésteres de azúcar solubles o insolubles en agua tales como Tween 80 (polisorbato 80) y Span 60 (monostearato de sorbitano).

Formas de Dosificación Mucosa

Las formas de dosificación mucosa de la presente invención, incluyen pero no se limitan a, soluciones, reducidas de aerosoles oftálmicos, u otras formas conocidas para los expertos en la técnica. Ver por ejemplo la publicación de *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18° ediciones, Mack Publishing, Easton PA (1990); e *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*, 4° edición, Lea & Febiger, Philadelphia (1985). Las formas de dosificación adecuadas para tratar tejidos de mucosa dentro de la cavidad oral, se pueden formular como enjuagues bucales o geles orales. En una modalidad,

el aerosol comprende un vehículo. En otra modalidad, el aerosol está libre de vehículo.

Los compuestos de la fórmula I de la presente invención, también se pueden administrar directamente al pulmón mediante inhalación. Para administración mediante inhalación, un compuesto de la fórmula I se puede administrar de manera conveniente al pulmón a través de un número de diferentes aparatos. Por ejemplo, se puede utilizar un Inhalador de Dosis Medida ("MDI") que utiliza botes que contienen un propulsor de baja ebullición adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado, para suministrar un compuesto de la fórmula I directamente al pulmón. Los aparatos MDI están disponibles con un número de proveedores, tales como 3M Corporation, Aventis, Boehringer Ingleheim, Forest Laboratories, Glaxo-Wellcome, Schering Plough y Vectura.

Como alternativa, se puede utilizar un aparato Inhalador de Polvo Seco (DPI) para administrar un compuesto de la fórmula I al pulmón (ver, por ejemplo la publicación de, Raleigh y asociados, *Proc. Amer. Assoc. Cancer Research Annual Meeting*, 1999, 40, 397, la cual está incorporada a la presente invención como referencia). Los aparatos DPI normalmente utilizan un mecanismo tal como una ráfaga de gas, para crear una nube de polvo seco, dentro de un contenedor, el cual posteriormente es inhalado por el paciente. Los aparatos DPI también son bien conocidos en la técnica y pueden ser

comprados con una cantidad de vendedores los cuales incluyen, por ejemplo, Fisons, Glaxo-Wellcome, Inhale Therapeutic Systems, ML Laboratories, Qdose y Vectura. Una variación popular es el sistema DPI de dosis múltiple ("MDDPI"), el cual permite el suministro de más de una dosis terapéutica. Los aparatos MDDPI están disponibles en compañías tales como Astra Zeneca, Glaxo Wellcome, IVAX, Schering Plough, SkePharma y Vectura. Por ejemplo, las cápsulas y cartuchos de gelatina para utilizarse en un inhalador o insuflador, se pueden formular conteniendo una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada, tal como lactosa o almidón para estos sistemas.

Otro tipo de aparato que se puede utilizar para suministro de un compuesto de la fórmula I al pulmón, es un aparato de rocío líquido suministrado, por ejemplo, por Aradigm Corporation. Los sistemas de rocío líquido utilizan agujeros de boquilla extremadamente pequeños para aerosolizar formulaciones de fármacos líquidos que posteriormente pueden ser inhalados directamente en el pulmón.

En una modalidad preferida, se utiliza un aparato nebulizador para suministrar un compuesto de la fórmula I al pulmón. Los nebulizadores crean aerosoles de formulaciones de fármacos líquidos utilizando, por ejemplo, energía ultrasónica para formar las partículas finas que pueden ser fácilmente inhaladas (Ver por ejemplo, la publicación, Verschoyle y asociados, *British J. Cancer*, 1999, 80, Suppl 2, 96, la cual está incorporada a la presente

invención como referencia). Los ejemplos de nebulizadores incluyen aparatos suministrados por Sheffield/Systemic Pulmonary Delivery Ltd. (Ver la publicación de Armer y asociados, Patente Norteamericana No. 5,954,047; van der Linden y asociados, Patente Norteamericana No. 5,950,619; van der Linden y asociados, Patente Norteamericana No. 5,970,974, las cuales están incorporadas a la presente invención como referencia), Aventis y Batelle Pulmonary Therapeutics.

En una modalidad particularmente preferida, se utiliza un aparato en aerosol electrohidrodinámico ("EHD"), para suministrar los compuestos de la fórmula I al pulmón. Los aparatos de aerosol EHD utilizan energía eléctrica para aerosolizar soluciones o suspensiones de fármaco líquidos (ver por ejemplo, la publicación de Noakes y asociados, Patente Norteamericana No. 4,765,539; Coffee, Patente Norteamericana No. 4,962,885; Coffee, Publicación PCT, WO 94/12285; Coffee, Publicación PCT, WO 94/14543; Coffee, Publicación PCT, WO 95/26234, Coffee, Publicación PCT, WO 95/26235, Coffee, Publicación PCT, WO 95/32807, las cuales están incorporadas a la presente invención como referencia.

Las propiedades electroquímicas de la formulación con los compuestos de la fórmula I, pueden ser parámetros importantes para optimizar cuando se suministra este fármaco al pulmón con un aparato en aerosol EHD, y dicha optimización se lleva a cabo en forma rutinaria por un experto en la técnica. Los aparatos en aerosol EHD pueden suministrar fármacos de manera más eficiente al

pulmón que las tecnologías de suministro pulmonar existentes. Los expertos en la técnica conocerán otros métodos de suministro intrapulmonar de los compuestos de la fórmula I, y están dentro del alcance de la presente invención.

Las formulaciones de fármacos líquidos adecuadas para utilizarse con nebulizadores y aparatos de rocío de líquidos y aparatos de aerosol EHD, normalmente incluirán compuestos de la fórmula I con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, el vehículo farmacéuticamente aceptable es un líquido tal como alcohol, agua, polietilenglicol o un perfluoro-carbono. Opcionalmente, se puede agregar otro material para alterar las propiedades del aerosol de la solución o suspensión del compuesto de la fórmula I. Preferentemente, este material es líquido tal como un alcohol, glicol, poliglicol o ácido graso. Otros métodos para formular soluciones o suspensiones de fármacos líquidos adecuadas para utilizarse en aparatos de aerosol son conocidos para los expertos en la técnica (ver la publicación de Biesalski, Patentes Norteamericanas Nos. 5,112,598; Biesalski, Patente Norteamericana No. 5,556,611, las cuales están incorporadas a la presente invención como referencia). Un compuesto de la fórmula I también se puede formular en composiciones rectales o vaginales tales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, que contienen bases de supositorios convencionales tales como manteca de cocoa u otros glicéridos.

Además de las formulaciones descritas previamente, también

se puede formular un compuesto de la fórmula I en la forma de una preparación de depósito. Dichas formulaciones de acción duradera se pueden administrar mediante implante (por ejemplo en forma subcutánea o intramuscular) o mediante inyección intramuscular. Por lo tanto, los compuestos se pueden formular por ejemplo, con materiales poliméricos o hidrofóbicos adecuados (por ejemplo, en la forma de una emulsión en un aceite aceptable) o en resinas de intercambio de iones, o como derivados moderadamente solubles, por ejemplo en la forma de una sal moderadamente soluble.

Como alternativa, se pueden emplear otros sistemas de suministro farmacéutico. Los liposomas y emulsiones son ejemplos bien conocidos de vehículos de suministro que se pueden utilizar para suministrar compuestos de la fórmula I. También se pueden emplear ciertos solventes orgánicos tales como dimetilsulfóxido, aunque normalmente con la consecuencia de una mayor toxicidad. También se puede suministrar un compuesto de la fórmula I en un sistema de liberación controlada. En una modalidad, se puede utilizar una bomba (Sefton, CRC Crit. Ref Biomed Eng., 1987, 14, 201; Buchwald y Asociados, Surgery, 1980, 88, 507; Saudek y Asociados, N. Engl. J. Med., 1989, 321, 574). En otra modalidad, se pueden utilizar materiales poliméricos (ver las publicaciones de Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974) ; Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, Nueva York (1984); Ranger and Peppas, J. Macronzol. Sci.

Rev. Macromol. Chem., 1983, 23, 61; ver también Levy y Asociados, Science, 1985, 228, 190; During y Asociados, Ann. Neurol., 1989, 25, 351; Howard y Asociados, 1989, J. Neurosurg. 71, 105). Aún en otra modalidad, se puede colocar un sistema de liberación controlada en proximidad con el objetivo de los compuestos de la presente invención, por ejemplo, el pulmón, requiriendo de esta forma únicamente una fracción de la dosis sistémica (ver por ejemplo la publicación de Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115 (1984)). Se puede utilizar otro sistema de liberación controlada (ver por ejemplo la publicación de Langer, Science, 1990, 249, 1527).

Los excipientes adecuados (por ejemplo vehículos y diluyentes) y otros materiales que se puedan utilizar para proporcionar formas de dosificación mucosa comprendidos en la presente invención, son bien conocidos para los expertos en las técnicas farmacéuticas, y dependen del sitio o método en particular el cual administrará una composición farmacéutica o forma de dosificación determinada. Con esto en mente, los excipientes típicos incluyen, pero no se limitan a agua, etanol, etilenglicol, propilenglicol, butano-1,3-diol, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, aceite mineral, y mezclas de los mismos, los cuales son farmacéuticamente aceptables y no tóxicos. Los ejemplos de dichos ingredientes adicionales son bien conocidos en la técnica. Ver por ejemplo la publicación de Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª edición, Mack Publishing, Easton PA (1990).

El pH de una composición farmacéutica o forma de dosificación, o del tejido al cual se aplica la composición farmacéutica o forma de dosificación, también se pueden ajustar para mejorar el suministro de uno o más ingredientes activos. En forma similar, la polaridad del vehículo solvente, su fuerza iónica o tonicidad se pueden ajustar para mejorar el suministro. Los compuestos tales como estearatos también se pueden agregar a composiciones farmacéuticas o formas de dosificación para alterar de manera conveniente la hidrofilicidad o lipofilicidad de uno o más ingredientes activos, para mejorar de esta manera el suministro. En este aspecto, los estearatos pueden servir como un vehículo lípido para la formulación, en la forma de un agente emulsificante o tensoactivo, y como un agente de aumento de suministro o aumento de penetración. Se pueden utilizar diferentes sales, hidratos o solvatos de los ingredientes activos para ajustar en forma adicional las propiedades de la composición resultante.

EQUIPOS

La presente invención proporciona un paquete o equipo farmacéutico que comprende uno o más contenedores que comprenden un compuesto de la fórmula I, útil para el tratamiento o prevención de infección por virus de hepatitis C. En otra modalidad, la presente invención proporciona un paquete o equipo farmacéutico que comprende uno o más contenedores que comprenden un compuesto de la fórmula I útil para el tratamiento o prevención de infección por virus de hepatitis C, y uno o más contenedores que

05
214

comprenden un agente terapéutico adicional, que incluyen pero no se limitan a, los descritos en la sección 5.2.2 anterior, en particular un agente antiviral, un interferón, un agente que inhibe enzimas virales, o un agente que inhibe réplica viral, preferentemente el agente terapéutico adicional es específico de HCV o demuestra actividad anti-HCV.

La presente invención también proporciona un paquete o equipo farmacéutico que comprende uno o más contenedores que comprenden uno o más de los ingredientes de las composiciones farmacéuticas de la presente invención. Opcionalmente asociados con dicho contenedor(es) puede encontrarse un anuncio en la forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos o biológicos, en donde el anuncio refleja la aprobación de la agencia de fabricación, uso o venta para administración a humanos.

Los agentes de la presente invención se pueden preparar utilizando las rutas de reacción y esquemas de síntesis que se describen más adelante, empleando las técnicas generales conocidas en la técnica utilizando materiales de partida que están disponibles fácilmente. La síntesis de compuestos no ejemplificados de acuerdo con la presente invención, puede llevarse a cabo de manera exitosa mediante modificaciones que pueden ser apreciadas por los expertos en la técnica, por ejemplo, mediante protección adecuada de grupos de interferencia, cambiando a otros reactivos adecuados conocidos en la técnica, o haciendo modificaciones de

rutina de las condiciones de reacción. Como alternativa, otras reacciones aquí descritas o generalmente conocidas en la técnica, serán reconocidas como teniendo aplicabilidad para preparar otros compuestos de la presente invención.

Preparación de Compuestos

En los esquemas sintéticos que se describen más adelante, a menos que se indique lo contrario, todas las temperaturas se establecen en grados Celsius y todas las partes y porcentajes están en peso. Los reactivos se compraron con proveedores comerciales tales como Aldrich Chemical Company o Lancaster Synthesis Ltd., y se utilizaron sin purificación adicional a menos que se indique lo contrario. Se compró tetrahidrofurano (THF) y N,N-dimetilformamida en Aldrich en botellas Sure Seal y se utilizaron tal como se recibieron. A menos que se indique lo contrario, se destilaron los siguientes solventes y reactivos bajo un espacio de nitrógeno seco. Se destilaron THF y Et_2O a partir de cetil de Na-benzofenona; CH_2Cl_2, diisopropilamina, piridina, y Et_2N, se destilaron a partir de CaH_2; se destiló MeCN primero a partir de P_2O_5, posteriormente de CaH_2; se destiló MeOH a partir de Mg; se destilaron PhMe, EtOAc, y i-ProAc a partir de CaH_2; se purificó TFAA a través de una destilación atmosférica simple bajo argón seco.

Las reacciones que se establecen a continuación se llevaron a cabo generalmente bajo una presión positiva de argón a temperatura ambiente (a menos que se manifieste lo contrario) en solventes anhidro, y los frascos de reacción se adaptaron con septa de hule

para la introducción de substratos y reactivos mediante jeringa. Los utensilios de vidrio se secaron con horno y/o se secaron con calor. Las reacciones se ensayaron mediante TLC y se terminaron según el consumo del material de partida. Se llevó a cabo cromatografía de capa delgada analítica (TLC) en placas 60 F_{254} de 0.2 mm de gel de sílice soportado con aluminio (EM Science), y se visualizaron con luz UV (254 nm) seguido de calentamiento con ácido fosfomolíbdico etanólico comercial. Se llevó a cabo cromatografía de capa delgada de preparación (TLC) sobre placas 60 F_{254} de 1.0 mm de gel de sílice soportado con aluminio (EM Science) y se visualizaron con luz UV (254 nm).

Las operaciones se llevaron normalmente mediante duplicación de volumen de reacción con el solvente de reacción o solvente de extracción, y posteriormente lavando con las soluciones acuosas indicadas utilizando 25 por ciento por volumen del volumen de extracción, a menos que se indique lo contrario. Las soluciones de producto se secaron sobre Na_2SO_4 y/o $MgSO_4$ anhidro antes de la filtración y evaporación de los solventes bajo presión reducida en un evaporador giratorio y se observó como los solventes se eliminaron in vacuo. La cromatografía de columna se completó bajo presión positiva utilizando gel de sílice de malla 230-400 ó alúmina neutral de malla 50-200. Se llevó a cabo la hidrogenólisis en la presión indicada en los ejemplos o a temperatura ambiente.

Se registraron los espectros ^{1}H-RMN en un instrumento Varian Mercury-VX400 operando a 400 MHz y se registraron los espectros

^{13}C-RMN operando a 75 MHz. Se obtuvieron los espectros RMN como soluciones $CDCl_3$ (reportados en ppm), utilizando cloroformo como el estándar de referencia (7.27 ppm y 77.00 ppm), CD_3OD (3.4 y 4.8 ppm y 49.3 ppm), DMSO-d_6, o tetrametilsilano de manera interna (0.00 ppm) según sea lo adecuado. Se utilizaron según se necesita otros solventes RMN. Cuando se reportaron multiplicidades pico, se utilizaron las siguientes abreviaturas: s (singleto), d (dobleto), t (tripleto), q (cuarteto), m (multipleto), br (ampliado), dd (doblete de dobletes), dt (doblete de tripletes). Las constantes de acoplamiento, cuando se proporcionan, se reportan en Hertz (Hz).

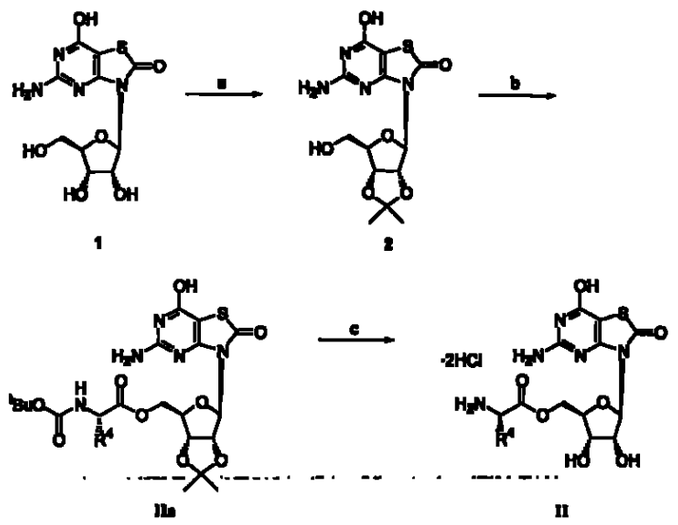
Se registraron espectros infrarrojos (IR) en un espectrómetro FT-IR en aceites puros, en la forma de pellets KBr, o en la forma de soluciones $CDCl_3$, y cuando se proporcionó se reportaron en números de onda (cm^{-1}). Los espectros de masa reportados son (+)-ES LC/MS conducido por el Analytical Chemistry Department of Anadys Pharmaceuticals, Inc. Se llevaron a cabo análisis elementales a través de Atlantic Microlab, Inc., en Norcross, GA. Se determinaron puntos de fusión (pf) en un aparato capilar abierto, y no se corrigieron.

Las trayectorias sintéticas y procedimientos experimentales descritos utilizan muchas abreviaturas químicas comunes, THF (tetrahidrofurano), DMF (N,N-dimetilformamida), EtOAc (acetato de etilo), DMSO (sulfóxido de di-metilo), DMAP (4-dimetilaminopiridina), DBU (1,8-diazaciclo[5.4.0]undec-7-eno), DCM (4-(diclanometilen)-2-metil-6-(4-dimetilamino-estiril)-4H-pirano), MCPBA (ácido 3-

cloroperoxibenzoico), EDC (clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida), HATU (hexafluorofosfato de 0-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio), HOBT (hidrato de 1-hidroxibenzotriazol), TFAA (anhídrido trifluoroacético), pyBOP (hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio), DIEA (diisopropiletilamina), BOC (terbutoxicarbonilo), 2,2-DMP (2,2-dimetoxipropano), IPA (alcohol isopropílico), TEA (trietilamina), DCE (1,2-dicloroetano), PPTS (p-toluenosulfonato de piridinio), DEAD (dietilazodicarboxilato), PS (soportado con polímero), HF (fluoruro de hidrógeno), MeCN (acetonitrilo), MeOH (metanol), Val (valina), Phe (fenilalanina), HPLC (cromatografía de líquido a alta presión), TLC (cromatografía de capa delgada), y similares.

El esquema 1 muestra un procedimiento general para preparar los ésteres de 5'-aminoácido de 5-amino-3-δ-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona.

Esquema 1



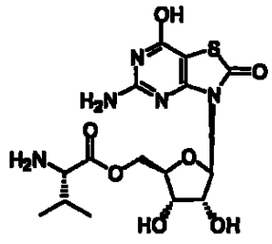
a) 2,2-dimetoxipropano, acetona, DMSO, $MeSO_3H$, 0°C

b) BOC-$NHCHR^4CO_2H$, EDC, DMAP, PhMe, 0°C – rt

c) anh. HCl, /PrOAc, /PrOH

En una ruta sintética típica, los grupos 2',3'-hidroxilo de la porción β-D-ribosa de 5-amino-3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona, se protege primero preferentemente con una acetonida tal como se muestra en el 2. El 5'-hidroxilo libre posteriormente puede someterse a una variedad de métodos de esterificación con un aminoácido protegido-N para formar IIa. El nitrógeno del éster de aminoácido y los dos 2',3'-hidroxilos de la unidad de ribosa, posteriormente se someten a varias condiciones de desprotección, preferentemente en forma concurrente, seguido de formación de sal de la amina libre del éster de aminoácido tal como se ilustra para II.

Ejemplo 1: Diclorhidrato de 5-amino-3-(5'-O-L-valinil-β-D-ribofuranosil)tiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona (3).



Paso 1: Preparación de 5-amino-3-(2',3'-O-isopropiliden-β-D-ribofuranosil)tiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona.

A una mezcla heterogénea de 1 (5.37 g, 17.0 mmol, preparado de acuerdo con el procedimiento que se proporciona en la Patente

Norteamericana No. 5,041,426 (ejemplo 2), la cual se incorpora en su totalidad a la presente invención como referencia) en acetona (40 ml) contenido en un frasco Morton de 250 ml, se le agregó en forma sucesiva 2,2-DMP (6.26 ml, 50.9 mmol), DMSO (6.6 ml), y $MeSO_3H$ (220 µL, 3.39 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó vigorosamente, haciéndola homogénea y color amarillo dorado conforme el diol se consumió. El análisis TLC (SiO_2, 10% MeOH-$CHCl_3$) indicó el término de la reacción después de 6 horas. Se eliminaron los sólidos no disueltos a través de filtración por gravedad utilizando papel de filtro Whatman tipo 1 flautado. Esto fue seguido de verter el filtrado en 10 volúmenes de agua-hielo (~40 ml), dando como resultado una precipitación inmediata de un sólido color blanco. Después de un breve período de agitación, $NaHCO_3$ (285 mg, 3.39 mmol) disuelto en agua (10 ml), se agregó para neutralizar el $MeSO_3H$. Se continuó durante 15 minutos la agitación vigorosa en el reactor Morton, mediante lo cual la mezcla se filtró a través de un embudo de vidrio sinterizado grueso. El material sólido se lavó con agua-hielo (100 ml), se secó con agua, posteriormente se secó en forma adicional bajo alto vacío a una temperatura de 65°C, produciendo 5.36 g (88%) de acetonida 2 en la forma de un sólido color blanco: p.f. 280-81°C, ^1H (DMSO-d_6) δ 1.28 (s, 3H), 1.47 (s, 3H), 3.43-3.55 (m, 2H), 3.95-3.99 (m, 1H), 4.77-4.80 (m, 1H), 4.88-4.91 (m, 1H), 5.24-5.26 (m, 1H), 5.99 (s, 1H), 6.97 (br s, 2H), 11.25 (s, 1H).

Paso 2: Preparación de 5-amino-3-(2',3',O-isopropiliden-5'-N-

terbutoxicarbonil-L-valinil)-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona (4).

A una solución de N-butoxicarbonil-(L)-valina (671 mg, 2.81 mmol) en THF (9 ml) a una temperatura de 0°C, se le agregó EDC (588 mg, 3.07 mmol). La mezcla homogénea resultante se agitó 45 minutos a una temperatura de 0°C, punto en el cual se volvió heterogénea, y se agregó como una porción acetonida sólida 2 del paso 1 anterior (1.00 g, 2.81 mmol). Se agregó en forma subsecuente DMAP sólido (522 mg, 4.27 mmol). La mezcla de reacción se dejó llegar a temperatura ambiente, y se agitó 5 horas adicionales, mediante lo cual se concentró a una temperatura de 25°C a través de evaporación giratoria hasta obtener un jarabe color amarillo. El residuo se disolvió en EtOAc (50 ml), se dividió con 1N HCl (10 ml) seguido de neutralización de ácido con $NaHCO_3$ acuoso saturado (10 ml). La fase acuosa ácida se extractó adicionalmente con EtOAc (2x50 ml), y posteriormente se dividió con la fase acuosa básica. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron a través de una almohadilla corta de SiO_2, y se concentró, produciendo 1.480 g (96%) de éster de aminoácido protegido-Boc 4 en la forma de una espuma: p.f. 158°C (dec); ^1H ($CDCl_3$) δ 0.86 (d, J = 7.0, 3H), 0.95 (d, J = 7.0, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.44 (s, 9H), 1.56 (s, 3H), 1.75 (br s, 1H), 2.08-2.19 (m, 1H), 4.20-4.24 (m, 2H), 4.30-4.37 (m, 1H), 4.56 (dd, J = 11.0, 5.9, 1H), 4.96 (dd, J =6.2, 3.7, 1H), 5.11 (br d, J = 8.8, 1H), 5.29 (br d, J = 6.6, 1H), 5.88 (br s, 2H), 6.23 (s, 1H).

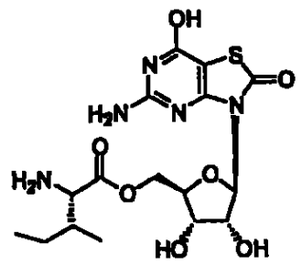
Paso 3: Preparación de diclorhidrato de 5-amino-3-(5'-O-L-valinil-β-D-ribofuranosil)tiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona (3).

Se pasó una corriente de gas HCl a través de un burbujeador de H_2SO_4 concentrado, y subsecuentemente se dirigió (a través de un tubo de dispersión con calor) en un frasco Morton de tres cuellos de 250 ml que contiene acetato de isopropilo seco (80 ml) a una temperatura de 0°C, hasta que se obtuvo una solución saturada. A esto se le agregó una solución de éster de aminoácido-Boc del paso 2 anterior (5.53 g, 9.95 mmol) en acetato de isopropilo (30 ml), dando como resultado la formación de un precipitado sólido color blanco en 5 minutos. A esto se le agregó 10% (v/v) IPA (11 ml). La mezcla de reacción se templó a temperatura ambiente, posteriormente se agitó durante 12 horas. La mezcla de reacción heterogénea se diluyó con tolueno seco (100 ml). La filtración utilizando un embudo de vidrio sinterizado de poro medio bajo N_2, proporcionó un sólido amorfo color blanco crema. La trituración del sólido en THF seco, fue seguida de filtración y secado con vacío a una temperatura de 65°C, produciendo 3.677 g (81%) del compuesto del título 3 en la forma de un sólido color blanco: p.f. 166-68°C (dec); ^1H (DMSO-d_6) δ 0.90 (d, J = 7.0, 3H), 0.94 (d, J = 7.0, 3H), 2.14-2.18 (m, 1H), 3.83-3.85 (m, 1H), 3.96-4.00 (m, 1H), 4.23-4.28 (m, 2H), 4.42 (dd, J = 11.7, 3.4, 1H), 4.75 (dd, J = 10.3, 5.5, 1H), 5.81 (d, J =4.4, 1H), 6.46 (br s, 3H), 7.23 (br s, 2H), 8.47 (s, 3H), 11.5 (br s, 1H).

Análisis elemental para $C_{15}H_{21}N_5O_7S \cdot 2HCl$; calculado: C, 36.89;

H, 4.75; Cl, 14.52; N, 14.34; S, 6.57; encontrado: C, 37.03: H, 4.74; Cl, 14.26; N, 14.24; S, 6.42.

Ejemplo 2: 3/2-clorhidrato de 5-amino-3-(5'-O-L-isoleucil-β-D-ribofuranosil)tiazolo-[4,5-d]pirimidin-2,7-diona (5).



Paso 1: Preparación de 5-amino-3-(2',3'-O-isopropiliden-5'-N-terbutoxicarbonil-L-isoleucil)-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona (6).

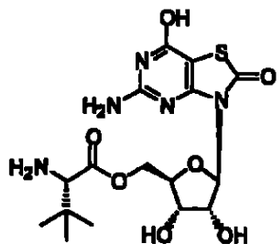
En una forma similar al paso 2 del ejemplo 1, se preparó 5-amino-3-(2',3'-O-isopropiliden-5'-N-terbutoxicarbonil-L-isoleucil)-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona 6 en una producción de 93% a partir de amino-3-(2',3'-O-isopropiliden-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona 2 y N-terbutoxl-L-isoleucina 7 en la forma de una espuma color blanco crema: ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.29 (s, 1H), 7.09 (d, J = 8.0, 1H), 7.02 (br s, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.28 (d, J = 6.2, 1H), 5.06 (br s, 1H), 4.16-4.22 (m, 2H), 3.85 (dd, J = 8.0, 6.6, 1H), 1.68 (br s, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.34 (s, 9H), 1.29 (s, 3H), 0.71-0.89 (m, 5H).

Paso 2: Preparación de diclorhidrato de 5-amino-3-(5'-O-L-isoleucil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]pirimidin-2,7-diona (5).

En una forma similar al paso 3 del ejemplo 2, se preparó el

compuesto del título en la forma de un sólido color blanco a partir del intermediario anterior en una producción del 80%: p.f. 173-174°C (dec); ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.41 (br s, 1H), 8.41 (br s, 3H), 7.15 (br s, 2H), 5.82 (d, J = 4.8, 1H), 4.50-5.00 (m, 2H), 4.40 (dd, J = 11.7, 3.3, 1H), 4.21-4.30 (m, 2H), 3.91-4.0 (m, 2H), 1.84-1.91 (m, 1H), 1.37-1.44 (m, 1H), 1.19-1.27 (m, 1H), 0.80-0.87 (m, 6H). Análisis elemental para $C_{16}H_{23}N_5O_7S$;3/2HCl: calculado: C, 39.69; H, 5.10; N, 14.47; Cl, 10.98; S, 6.62; encontrado: C, 39.05; H, 5.13; N, 13.73; Cl, 11.08; S, 6.02.

Ejemplo 3: clorhidrato de 5-amino-3-(5'-O-[α-L-terbutilglicinil]-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (8).



Paso 1: Preparación de 5-amino-3-(2',3'-O-isopropiliden-5'-N-terbutoxi-carbonil-[α-L-terbutilglicil]-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona (9).

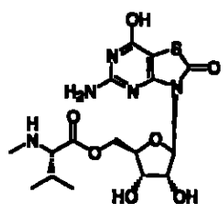
En una forma similar al paso 2 del ejemplo 1, se preparó 5-amino-3-(2',3'-O-isopropiliden-5'-N-terbutoxicarbonil-[α-L-terbutilglicinil]-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona 10, en una producción de 66% a partir de 5-amino-3-(2,3-O-isopropiliden-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidinona-2,7-diona 2 y N-α-L-terbutoxiglicina en la forma de una espuma color blanco

crema: ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.28 (br s, 1H), 6.70-7.40 (m, 3H), 6.02 (s, 1H), 5.3 0 (d, J = 6.2, 1 H), 5.05 (br s, 1H), 4.17-4.24 (m, 3H), 3.77 (d, J = 8.4, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.33 (s, 9H), 1.29 (s, 3H), 0.85 (s, 9H).

Paso 2: Preparación de 5amino-3-(5'-O-[α-L-terbutilglicil]-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona (8).

En una forma similar al paso 3 del ejemplo 1, se preparó el compuesto del título 8 en la forma de un sólido color blanco a partir del intermediario anterior en una producción del 80%: p.f. 202-203°C (dec); ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.35 (br s, 1H), 8.31 (br s, 3H), 7.08 (br s, 2H), 5.83 (d, J = 4.0, 1H), 5.45 (br s, 1H), 5.21 (br s, 1H), 4.77-4.82 (m, 1H), 4.42 (dd, J = 11.4; 2.6; 1H); 4.23-4.28 (m, 1H), 3.96-4.04 (m, 1H), 3.74 (s, 1H), 0.97 (s, 9H). Análisis elemental para $C_{16}H_{23}N_5O_7S$•HCl: calculado: C, 41.25; H, 5.19; N, 15.03; Cl, 7.61; S, 6.88; encontrado: C, 40.41; H, 5.41; N, 14.16; Cl, 7.01; S, 6.23.

Ejemplo 4: clorhidrato de 5-mino-3-(5'-O-[α-L-N-metilvalinil]-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona (11).



Paso 1: Preparación de 5-amino-3-(2',3'-O-isopropiliden-5'-N-

terbutoxicarbonil-[α-L-N-metilvalinil]-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona (12)

En una forma similar al paso 2 del ejemplo 1, se preparó 5-amino-3-(2',3'-O-isopropiliden-5'-N-terbutoxicarbonil-[α-L-N-metilvalinil]-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona 12 en una producción de 63% a partir de 5-amino-3-(2',3'-O-isopropiliden-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona 2 y N-terbutoxi-L-N-metilvalina 13 en la forma de una espuma color blanco crema: ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) carbamato rotamérico δ 11.28 (br s, 1H), 7.00 (br s, 2H), 6.02 (s, 1H), 5.27 (d, J = 6.6, 1H), 5.04 (br s, 1H), 4.14-4.28 (m, 3H), 3.91 (d, J = 9.5, 1H), 2.79 (br s, 3H), 2.09 (br s, 1H), 1.46 (s, 3H), 1.36 (s, 4.5H), 1.32 (s, 4.5H), 1.28 (s, 3H), 0.78-0.89 (m, 6H).

Paso 2: Clorhidrato de 5-amino-3-(5'-O-[α-L-N-metilvalinil]-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (11).

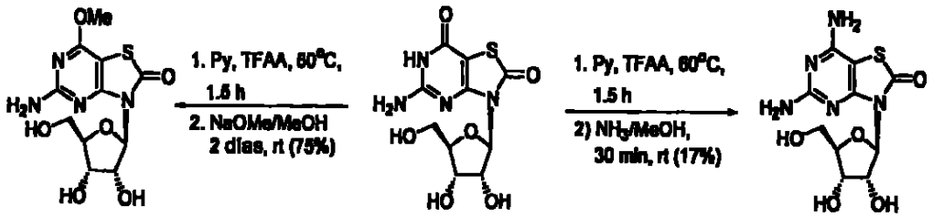
En una forma similar al paso 3 del ejemplo 1, se preparó el compuesto del título 11 en la forma de un sólido color blanco ligeramente impuro a partir del intermediario anterior en una producción del 60%: p.f. >180°C (dec); ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.31 (br s, 1H), 9.05 (br s, 2H), 7.05 (br s, 2H), 5.83 (d, J = 4.4, 1H), 5.46 (br s, 1H), 5.21 (br s, 1H), 4.76-4.82 (m, 1 H), 4.42-4.48 (m, 1H), 4.28-4.38 (m,1 H), 4.22-4.28 (m, 1 H),3.94-4.04 (m, 2H), 2.54 (br s, 3H), 2.23 (br s, 1H), 0.98 (d, J = 7.0,3H), 0.88 (d, J = 7.0,3H).

Análisis elemental para $C_{16}H_{23}N_5O_7S$•HCl: calculado: C, 41.25; H,

5.02; N, 15.03; S, 6.88; Cl, 7.61; encontrado: C, 40.57; H, 5.37; N, 13.57; S, 6.16; Cl, 7.29.

Esquema 2

El esquema 2 muestra un procedimiento general para preparar 5-amino-7-metoxi-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-onas y 5,7-diamino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-onas.



14 1 15

Ejemplo 5: 5-amino-3-β-D-ribofuranosil-7-metoxi-tiazolo[4,5-d]-pirimidin-2-ona (14).

Se disolvió anhidro 1 (2.0 g, 6.3 mmol) en piridina seca bajo una atmósfera de argón. La solución se enfrió a una temperatura de 0°C, mediante lo cual se agregó TFAA (13.3 g, 63 mmol) en forma de gotas a la mezcla. Después de 5 minutos, la reacción se colocó en un baño de aceite a una temperatura de 60°C durante 1.5 horas, y se monitoreó mediante TLC (SiO_2, 20% MeOH-$CHCl_2$) para la formación del catión de piridinio. El material de partida 0.2 R_f se convirtió en una mancha de línea de base que pasó por fluorescencia azul al momento de la exposición a luz UV 254 nM. Al momento de la conversión al intermediario activado, la solución de metóxido de sodio elaborada recientemente (1.8 g Na, 78 mmol, 300 ml metanol)

a la reacción a una temperatura de 0°C. La reacción se dejó templar a temperatura ambiente, y continuó durante dos días. Posteriormente la mezcla se extinguió con 1M NH_4Cl (100 ml), y se extractó con 25% IPA-$CHCl_3$ (5 x 10 ml). El material crudo se filtró a través de un tapón de gel de sílice, y posteriormente se concentró para producir 1.6 g (75%) del compuesto del título 14. Se obtuvo una muestra analítica mediante TLC de preparación (SiO_2; agua, metanol, acetato de etilo, 5:10:85) en la forma de un sólido color blanco: p.f. >160°C (dec); $[M+H]^+$ 330.9, $[2M+H]^+$ 661.1, $[3M+H]^+$ 991.0; R_f = 0.6 (20% MeOH-$CHCl_3$); p.f. 200.4°C-200.9°C; ^1H RMN (400MHz, d_6-DMSO) δ 6.92 (s, 2H), 5.86 (d, J = 5.2, 1H), 5.28 (d, J = 5.6, 1H), 4.96 (d, J = 5.2, 1H), 4.78 (dd, J = 10. 8, 5.6, 1H), 4.67 (t, J = 6.0, 1H), 4.07-4.10 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.70-3.80 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.40-3.45 (m, 1H).

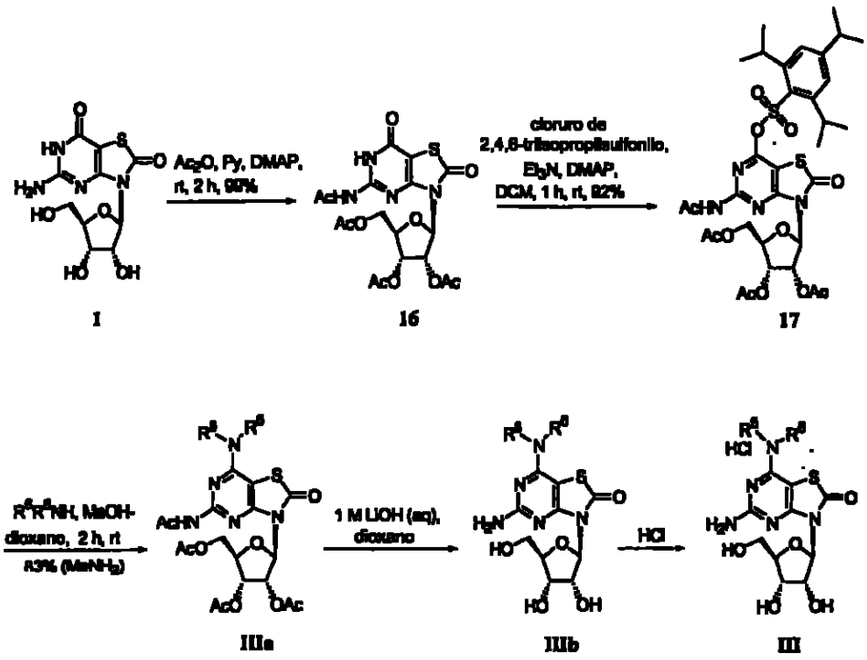
Análisis elemental para $C_{11}H_{14}N_4O_6S$: calculado: C, 40.00; H, 4.27; N, 16.96; S, 9.71; encontrado: C, 40.07; H, 4.43; N, 16.71; S, 9.53.

Ejemplo 6: 5,7-diamino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo[4,5-d]-pirimidin-2-ona (15).

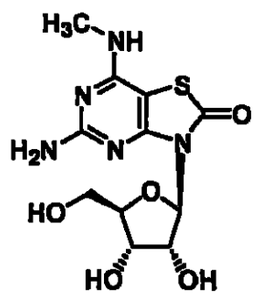
Se disolvió anhidro 1 (0.3 g, 0.9 mmol) en piridina seca bajo una atmósfera de argón. La solución se enfrió a una temperatura de 0°C, posteriormente se agregó en forma de gotas a la mezcla TFAA (1.2 ml, 9.5 mmol). Después de 5 minutos, la reacción se colocó en un baño de aceite a una temperatura de 60°C durante 1.5 horas y se monitoreó mediante TLC (20% MeOH-$CHCl_3$) para la formación del catión de piridinio. El material de partida 0.2 R_f se convirtió a una

mancha de línea de base que pasó por fluorescencia azul al momento de la exposición a luz UV 254 nm. Al momento de la conversión al intermediario activado, el frasco de reacción se colocó en un baño de hielo. Después de dejar que se equilibrara la temperatura, se agregó en forma de gotas NH_3 acuoso al 30% (25 ml) hasta el término del exotermo, y se agregó el resto. A los 5 minutos, el producto se formó como se indica mediante TLC analítico R_f 0.25 (SiO_2, 20% MeOH-$CHCl_3$). El frasco se templó a temperatura ambiente durante 30 minutos, posteriormente se extrajeron los gases de la solución acuosa bajo vacío giratorio, posteriormente se extractó con 25% IPA-$CHCl_3$ (5 x 100 ml). El producto se sometió a cromatografía instantánea (SiO_2, 10% MeOH-$CHCl_3$), produciendo 55 ml (17%) del compuesto del título ligeramente impuro **15**. Se obtuvo una muestra analítica mediante TLC de preparación (SiO_2; agua-MeOH-EtOAc, 5:10:85) en la forma de un sólido color blanco: p.f. >155°C (dec); $[M+H]^+$ 316.0; R_f = 0.25 (SiO_2, 20% MeOH-$CHCl_3$); ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.76 (s, 2H), 6.14 (s, 2H), 5.85 (d, J = 5.2, 1H), 5.22 (d, J = 4.8, 1H), 4.92 (d, J = 2.8, 1H), 4.70-4.83 (m, 2H), 4.05-4.10 (m, 1H), 3.65-3.80 (m, 1H), 3.52-3.62 (m, 1H) 3.40-3.50 (m, 1H). Análisis elemental para $C_{10}H_{13}N_5O_5S \cdot 1/2\ H_2O$: calculado: C, 37.03; H, 4.35; N, 21.59; S, 9.89; encontrado: C, 37.27; H, 4.32; N, 20.43; S, 10.11.

Esquema 3



Ejemplo 7: 5-amino-7-metilamino-3-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]-pirimidin-2-ona (18).



Paso 1. Preparación de 5-acetilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7(6H)-diona (16).

Se disolvió anhidro 1 (8.0 g, 39.5 mmol) en piridina seca (65 ml). Se agregaron en secuencias DMAP (3.1 g, 25.3 mmol) y

anhidrido acético (19.1 ml, 202.4 mmol). La reacción se dejó progresar durante 2 horas a temperatura ambiente, mediante lo cual se extinguió con $NaHCO_3$ saturado (100 ml) y se extractó con DCM (3 x 100 ml). La fase orgánica se concentró, y posteriormente se trituró con éter. Esto proporcionó 12.5 g (103%) de 5-acetilamino-3-(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7(6H)-diona ligeramente impuro en la forma de un sólido color blanco 16: p.f. 246.7-248.1°C; R_f = 0.20 (SiO_2, 50% EtOAc-$CHCl_3$); ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 12.23 (s, 1H), 11.85 (s, 1H), 5.97 (m, 2H), 5.48 (t, J = 6, 1H), 4.35-4.40 (m, 1H), 4.25-4.31 (m, 1H), 4.08-4.18 (m, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 2.00 (s, 3H).

Paso 2: Preparación de 5-acetilamino-7-(2,4,6-triisopropil-bencensulfoniloxi)-3-(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (17).

El intermediario del paso 1 anterior (500 mg, 0.98 mmol) se disolvió en DCM (15 ml) a temperatura ambiente. DMAP (7.3 mg, 0.06 mmol) y TEA (16 ml, 11 mmol) se agregaron a la solución, seguido de cloruro de 2,4,6-triisopropilbencensulfonilo (454 mg, 1.5 mmol). Después 1 hora la reacción llegó a término, la mezcla cruda se concentró, y posteriormente se purificó mediante cromatografía instantánea (SiO_2, 10% EtOAc-$CHCl_3$), produciendo 690 mg (92%) de 5-acetilamino-7-(2,4,6-triisopropil-bencensulfoniloxi)-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]-pirimidin-2-ona en la forma de un sólido blanco espumoso 17: 74.5-76.3°C; R_f = 0.7 (SiO_2, 20% EtOAc-$CHCl_3$); ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 10. 83 (s, 1H), 7.39 (s, 2H),

6.03 (d, J = 4.0, 1H), 5.91-5.96 (m, 1H), 5.69 (t, J = 6.4, 1H), 4.30-4.70 (m, 1H), 4.22-4.26 (m, 1H), 4.16-4.20 (m, 1H), 3.90-4.00 (m, 2H), 2.97-3.01 (m, 1H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.88 (s, 3H), 1.17-1.25 (m, 18H).

Paso 3: Preparación de 5-acetilamino-7-metilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona (19).

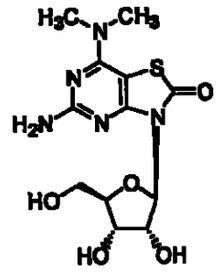
El intermediario del paso 2 anterior (1.7 g, 2.27 mmol) se disolvió en dioxano (20 ml) a temperatura ambiente. Se agregó a esto 2.0M de metilamina (3.4 ml, 6.8 mmol) en metanol. Después de 2 horas, el material de partida se consumió. La mezcla de reacción se concentró, y posteriormente se purificó mediante cromatografía instantánea (SiO_2, elución de gradiente, 20-80°C EtOAc-$CHCl_3$), produciendo 945 mg (83%) del compuesto del título puro en la forma de un aceite color amarillo: $[M+H]^+$ 498.2, $[2M+H]^+$ 995.4; R_f = 0.55 (10% CH_3OH-$CHCl_3$); ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 10.13 (s, 1H), 7.70 (d, J = 4.41, 1H), 5.95-6.02 (m, 2H), 5.69 (s, 1H), 4.35-4.39 (m, 1H), 4.16-4.23 (m, 2H), 2.90 (d, J = 4.8, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.00 (s, 3H).

Paso 4: Preparación de 5-amino-7-metilamino-3-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (18).

El intermediario del paso 3 anterior (420 mg, 0.85 mmol) se disolvió en dioxano (4 ml), y 1M LiOH (8.5 ml, 8.5 mmol) y se agregó a la solución. Los grupos O-acetilo se eliminaron en 40 minutos para producir un intermediario en R_f = 0.15 (SiO_2, 5% MeOH-EtOAc). Después de 2 horas, se eliminó el N-acetilo como se indicó mediante

TLC R_f = 0.20 (SiO_2, 5% MeOH-EtOAc). La mezcla de reacción se neutralizó con ácido acético estequiométrico, se extractó con 25% IPA-$CHCl_3$, y posteriormente se concentró para producir 195 mg (70%) de 18. Se obtuvo una muestra analítica del compuesto del título 18 mediante TLC de preparación (SiO_2; agua-MeOH-EtOAc, 10:20:70) en la forma de un sólido color blanco: [M+H]+ 330.0; R_f = 0.20 (5% MeOH-EtOAc); p.f. >108°C; ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.06 (d, J = 3.6, 1H), 6.24 (s, 2H), 5.85 (d, J = 5.2, 1H), 5.22 (d, J = 4.8, 1H), 4.93 (d, J = 5.2, 1H), 4.70-4.80 (m, 2H), 4.07 (d, J = 4.8, 1H), 3.75 (d, J = 4.4, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.40-3.50 (m, 1H), 2.82 (d, J = 4.4,3H).

Ejemplo 8: 5-amino-7-dimetilamino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo[4,5-d]-pirimidin-2-ona (20).



Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-7-dimetilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona.

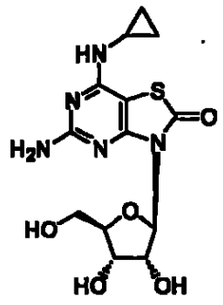
En una forma similar al ejemplo 7, paso 2, se generó 5-acetilamino-7-dimetilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuránosil)-tiazolo[4,5-d]-pirimidin-2-ona en una producción al 80% en la forma de un aceite color amarillo: M^+ 511.14; R_f = 0.70 (SiO_2, 10% MeOH-$CHCl_3$); ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 10.15 (s, 1H), 6.10-6.15 (m,

1H), 5.98-6.09 (m, 1H), 5.5.66-5.70 (m, 1H), 4.35-4.40 (m, 1H), 4.22-4.27 (m, 1H), 4.14-4.08 (m, 1H), 3.18 (s, 6H), 2.19 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.99 (s, 3H).

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-dimetilamino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona (20).

En una forma similar al ejemplo 7, paso 3, el compuesto del título 20 se generó en una producción al 82%. Se obtuvo una mezcla analítica mediante TLC de preparación (SiO_2; agua-MeOH-EtOAc, 10:20:70), en la forma de un sólido color blanco: $[M+H]^+$ 344.0; $[2M+H]^+$ 687.4; p.f. >112°C; R_f = 0.20 (5% MeOH-EtOAc); ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.27 (s, 2H), 5.91 (d, J = 4.8, 1H), 5.22 (d, J = 6.0, 1H), 4.93 (d, J = 5.2, 1H), 4.71-4.76 (m, 2H), 4.07-4.09 (m, 1H), 3.7-3.8 (m, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.09 (s, 6H). Análisis elemental para $C_{12}H_{17}N_5O_5S$: calculado: C, 41.98; H, 4.99; N, 20.40; encontrado: C, 41.32; H, 5.14; N, 18.59.

Ejemplo 9: sal de monoclorhidrato de 5-amino-7-ciclopropilamino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (21).



Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-7-ciclopropilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona.

En una forma similar al ejemplo 3, paso 2, se generó 5-acetilamino-7-ciclopropilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona en una producción al 80% en la forma de un aceite color amarillo: R_f = 0.45 (SiO_2, 75% EtOAc-$CHCl_3$); ^1H RMN (400 MHz, D_6-DMSO) δ 10.11 (s, 1H), 7.87 (d, J = 2.8, 1H), 5.98-6.01 (m, 1H), 5.70-5.76 (s, 1H), 4.32-4.39 (m, 1H), 4.16-4.30 (m, 2H), 3.85 (s, 1H), 2.87 (s, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 0.73- 0.76 (m, 2H), 0.57-0.60 (m, 2H).

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-ciclopropilamino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona.

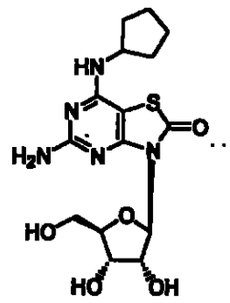
En una forma similar al ejemplo 7, paso 3, se generó 5-amino-7-ciclopropilamino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona en un rendimiento del 79%. Se obtuvo una muestra analítica mediante TLC de preparación (SiO_2, agua-MeOH-EtOAc, 10:20:70) en la forma de un sólido color blanco: R_f = 0.20 (5% MeOH-EtOAc); p.f. 100°C; $[M+H]^+$ 356.0; ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.24 (s, 1H), 6.28 (s, 2H), 5.86 (d, J = 5.6, 1H), 5.22 (d, J = 6, 1H), 4.92 (d, J = 5.2, 1H), 4.70-4.80 (m, 2H), 4.05-4.10 (m, 1H), 3.7- 3.8 (m, 1H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.45-3.50 (m, 1 H), 2.8 (s, 1H), 0.68-0.70 (m, 2H), 0.54-0.57 (m, 2H).

Paso 3: Preparación de sal de clorhidrato de 5-amino-7-ciclopropilamino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (21).

Se preparó el compuesto del título mediante la adición del

material sólido preparado en el paso 2 anterior, para agitar vigorosamente 4M HCl en dioxano, produciendo el compuesto del título en la forma de un sólido color blanco: p.f. >99°C; ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.25 (d, 1H, J = 2.8, 1H), 6.23 (s, 2H), 5.87 (d, J = 5.2, 1H), 5.21 (bs, 1H), 4.98 (bs, 1H), 4.73-4.79 (m, 2H), 4.09 (t, J =5.6, 1H), 3.72-3.79 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.45- 3.37 (m, 1H), 2.75-2.82 (m, 1H), 0.72-0.79 (m, 2H), 0.55-0.63 (m, 2H). Análisis elemental para $C_{13}H_{17}N_5O_5S$•HCl: calculado: C, 39.85; H, 4.63; N, 17.87; Cl, 9.05; encontrado: C, 39.66; H, 4.85; N, 16.57; Cl, 8.13.

Ejemplo 10: 5-amino-7-ciclopentilamino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (22).



Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-7-pirrolidino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona.

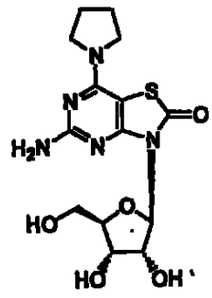
En una forma similar al ejemplo 7, paso 2, se generó 5-acetilamino-7-pirrolidino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona en una producción al 70%. Se obtuvo una muestra analítica a través de TLC de preparación (SiO_2; agua-MeOH-EtOAc, 10.20:70) en la forma de un sólido color blanco: p.f. >108°C (dec); R_f = 0.80 (10% de agua y 20% de metanol en acetato

de etilo); $[M+H]^+$ 384.0; ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.00 (d, J = 7.2, 1H), 6.17 (s, 2H), 5.18 (d, J = 5.2, 1H), 5.21(d, J = 5.6, 1H), 4.92 (d, J = 5.6, 1H), 4.74-4.80 (m, 2H), 4.30-4.35 (m, 1H), 4.05-4.10 (m, 1H), 3.70-3.80 (m, 1H), 3.55-3.60 (m, 1H), 3.30-3.45 (m, 1H), 1.40-2.0 (m, 8H).

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-ciclopentilamino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona.

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

Ejemplo 11: 5-amino-7-pirrolidino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (23)



Paso 1): Preparación de 5-acetilamino-7-pirrolidino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona.

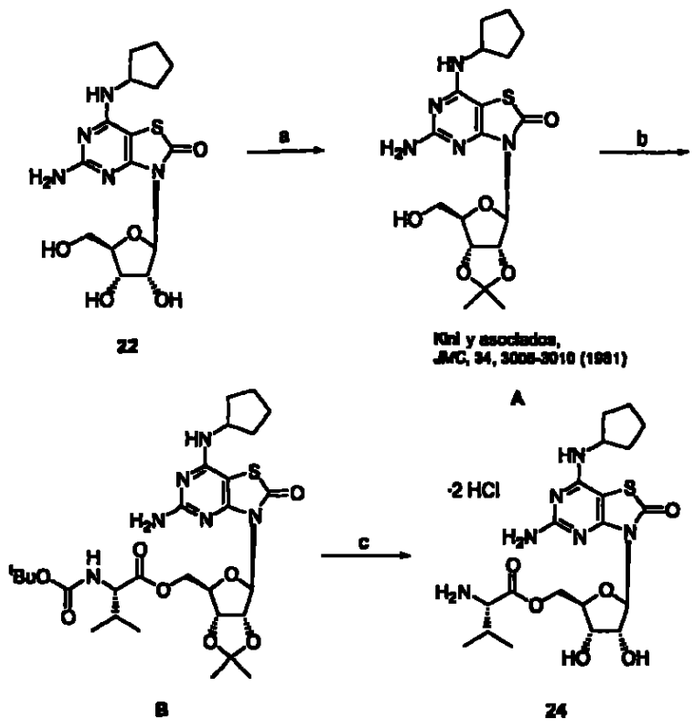
En una forma similar al ejemplo 7, paso 2, se generó 5-acetilamino-7-pirrolidino-3-(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona en una producción al 79% en la forma de un aceite color amarillo: $[M+H]^+$ 538.1; R_f = 0.80 (SiO_2, agua-MeOH-EtOAc, 10:20:70); ^1H (400 MHz, D_6-DMSO) δ 10.04 (s, 1H), 5.97-6.02 (m, 2H), 5.68 (s, 1H), 4.38 (dd, J = 11.6, 3.6, 1H), 4.15-4.23 (m, 2H), 3.58 (s, 4H), 2.23 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.89 (s, 4H).

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-pirrolidino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona.

En una forma similar al ejemplo 7, paso 3, se generó el compuesto del título 23 en una producción al 81%. Se obtuvo una muestra analítica mediante TLC de preparación (SiO_2; agua-MeOH-EtOAc, 10:20:70) en la forma de un sólido color blanco: p.f. >112.4°C (dec); $[M+H]^+$ 370.3; 1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.22 (s, 2H), 5.90 (d, J = 4.8, 1H), 5.23 (d, J = 5.2, 1H), 4.94 (d, J = 4.4, 1H), 4.68-4.75 (m, 2H), 4.08 (d, J = 4.8, 1H), 3.71-3.76 (m, 1H), 3.55 (bs, 5H), 3.38-3.54 (m, 1H), 1.87 (s, 4H).

2AD
239

Esquema 4



22 A B 24

a) 2,2-dimetoxipropano, acetona, DMSO, $MeSO_3H$, 0°C

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

c) anh. HCl, /PrOAc, /PrOH

Ejemplo 12: clorhidrato de 5-amino-7-ciclopentilamino-3-(5'- -L-valinil)-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (24).

Con agitación vigorosa, se disolvió el intermediario B en una solución de cloruro de hidrógeno anhidro en acetato de isopropilo a una temperatura de 0°C y se dejó templar a temperatura ambiente. A la mezcla heterogénea se le agregó acetato de isopropilo adicional. La mezcla de reacción se agitó durante 12 horas adicionales. Se agregó tolueno y el producto se filtró y secó bajo vacío para producir

la sal di-HCl deseada 24.

Los intermediarios se prepararon como se indica a continuación:

5-amino-7-ciclopentilamino-3-(2',3'-O-isopropiliden-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (A).

Se preparó el compuesto A de acuerdo con el procedimiento de Kini y Asociados, agitando una mezcla de 5-amino-7-ciclopentilamino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona 22 con acetona, DMSO, ácido metanosulfónico y un exceso de dimetoxipropano a una temperatura de 0°C, hasta que se consumió el material de partida. La mezcla de reacción se agregó a agua-hielo y se neutralizó a un pH de 7 con $NaHCO_3$ saturado y se extractó con EtOAc. La capa orgánica se concentró y sometió a cromatografía de columna sobre sílice, proporcionando el producto de diol protegido con 2',3'.

5-amino-7-ciclopentilamino-3-(5'-O-(N-(terbutoxicarbonil)-L-valinil)-2',3'-O-isopropiliden-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (B).

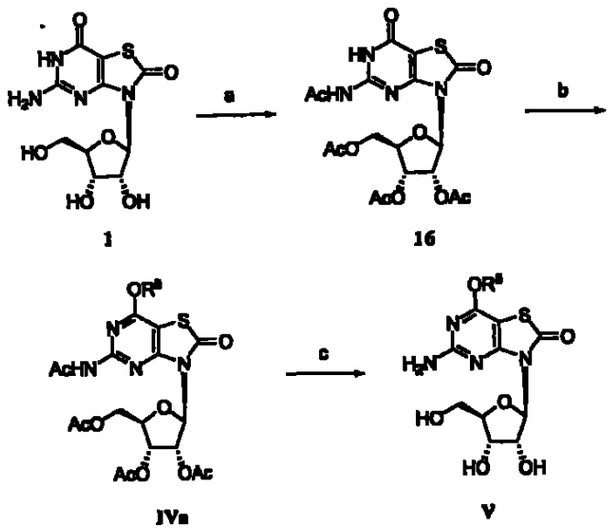
A una solución de 1.0 equivalentes de N-(terbutoxicarbonil)-L-valina en THF a una temperatura de 0°C, se le agregaron 1.1 equivalentes de EDC. Después de agitar durante 30 minutos, se agregaron 1.0 equivalentes de 5-amino-7-ciclopentil-3-(2',3'-O-isopropiliden-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona, A, y se agregaron 1.5 equivalentes DMAP. La mezcla de reacción se templó a temperatura ambiente y se dejó agitar durante 5 horas, y se

concentró. El residuo se disolvió en EtOAc, se dividió con 1N HCl, y se neutralizó con $NaHCO_3$ acuoso saturado (10 ml). La fase acuosa se extractó en forma adicional con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, y se evaporaron bajo vacío para producir intermediario B, el cual se purificó mediante cromatografía de columna sobre sílice.

Esquemas 5a-5c

Los esquemas 5a-5c muestran procedimientos generales para preparar 5-amino-7-alcoxi-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-onas.

Esquema 5a

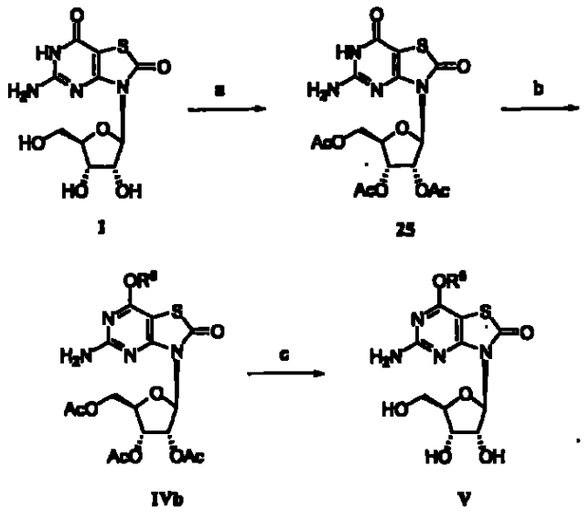


a) Ac_2O, Et_3N, MeCN

b) polímero-soportado PPh_3, R^5OH, dietil azodicarboxilato, THF, 0°C-rt

c) K_2CO_3, MeOH

Esquema 5b

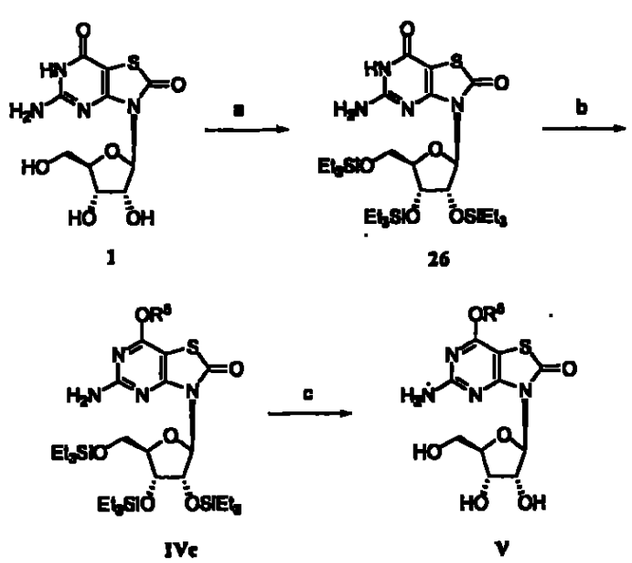


a) Ac_2O, Et_3N, MeCN

b) polímero-soportado PPh_3, R^5OH, dietil azodicarboxilato, THF, 0°C-rt

c) K_2CO_3, MeOH

Esquema 5c



a) Et_3SiCl, imidazol, DMAP, DMF

b) polímero-soportado PPh_3, R^6OH, dietil azodicarboxilato, THF, 0°C-rt

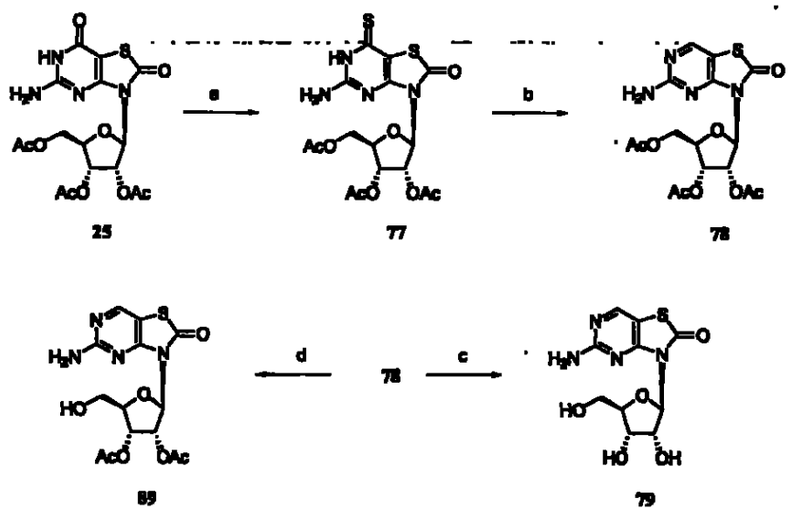
c) HF, MeCN ó HF-pyr, THF

En una ruta sintética típica, los grupos 2',3',5'-hidroxilo de la porción β-D-ribosa y/o el grupo 5-amino de 5-amino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona se protegieron primero, preferentemente con grupos sililo o acilo tal como se muestra para **16**, **25**, y **26**. El carbonilo en la posición-7, se sometió posteriormente a una variedad de métodos de alquilación con varios alcoholes para formar **IVa**, **IVb**, y **IVc**. Los 2',3',5'-hidroxilos de la unidad de ribosa y/o el nitrógeno del grupo 5-amino, se sometieron posteriormente a condiciones de desprotección adecuadas, para producir **V**. **V** se puede modificar adicionalmente en forma adecuada si así se desea.

<u>Esquemas 6a-6e</u>

Los esquemas 6a-6e muestran procedimientos generales para preparar 5-amino-3-β-D-ribofuranosil-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona.

Esquema 6a



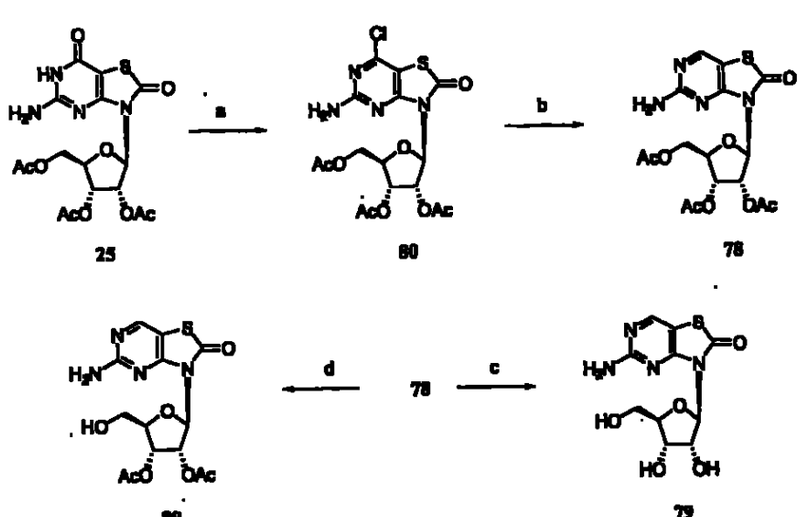
a) P_2S_5, pyr.

b) Ni, acetona, reflujo

c) K_2CO_3, MeOH

d) *candida antarctica lipasa*, pH7, acetona

Esquema 6b



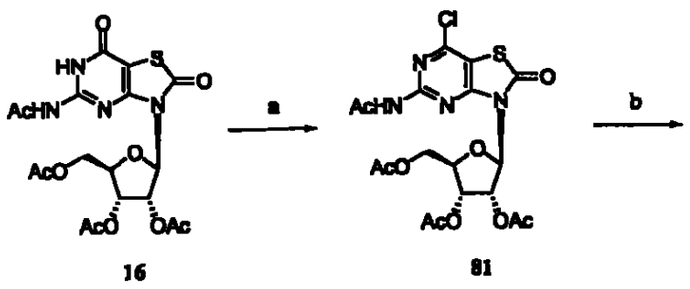
a) $POCl_3$, NEt_3, $CHCl_3$, reflujo

b) Zn-Cu, AcOH, 80°C

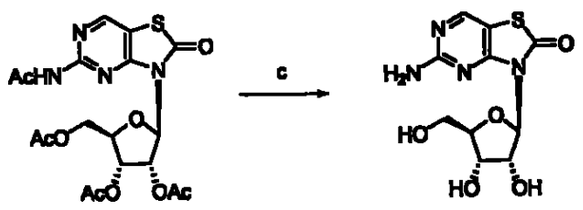
c) K_2CO_3, MeOH

d) *candida antarctica lipasa*, pH7, acetona

Esquema 6c



16 81



82 79

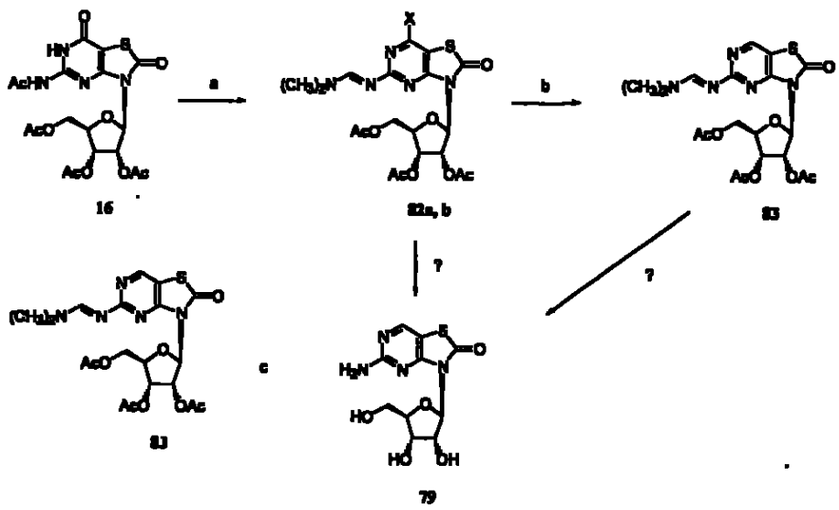
a) $POCl_3$, NEt_3, $CHCl_3$, 60°C

b) 10% Pd/C, H_2, 250 psi, NaOAc, EtOH

c) K_2CO_3, MeOH

247
246

Esquema 6d

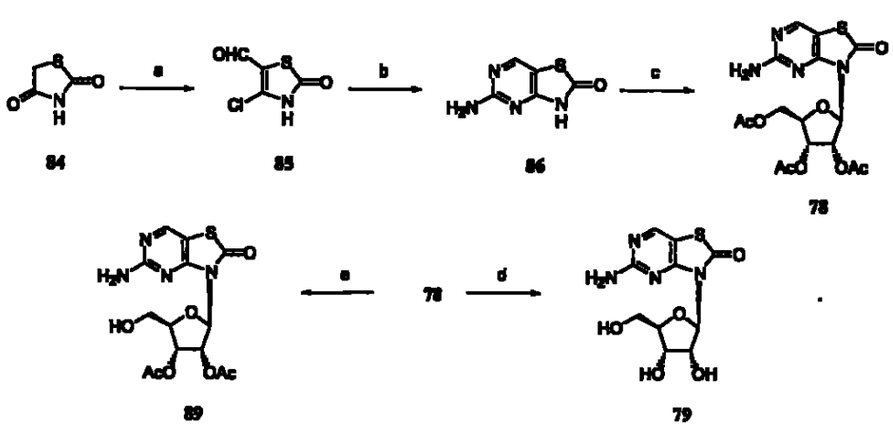


a) $SOCl_2$, DMF, $CHCl_3$, 60°C ó $SOBr_2$, DMF, $CHCl_3$, tolueno 110°C

b) Zn, AcOH

c) K_2CO_3, MeOH

Esquema 6e



a) $POCl_3$, DMF, 100°C

b) guanidina-HCl, K_2CO_3, $NaHCO_3$, DMF, 110°C

c) 1,2,3,5-tetra-O-acetil-β-D-ribofuranosa, cat. bis-(4-nitrofenil)fosfato, 160°C

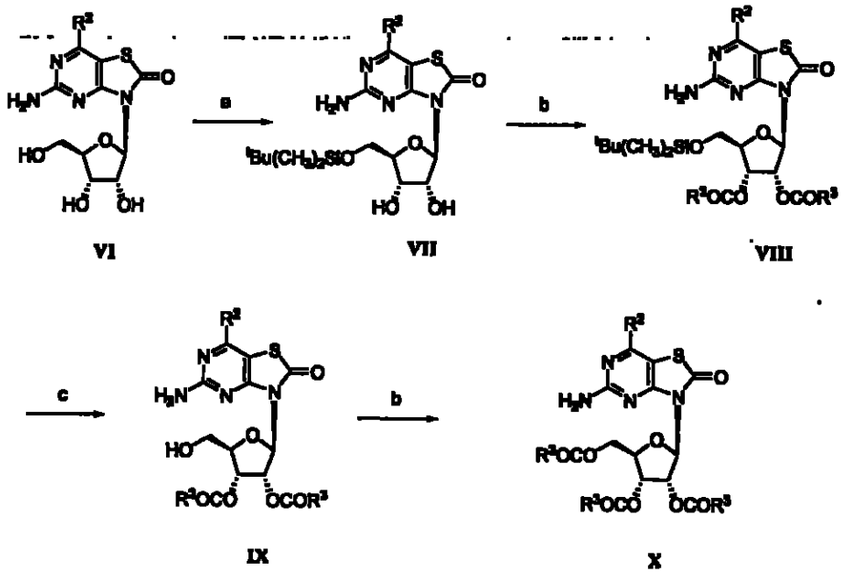
d) K_2CO_3, MeOH

e) *cadida antarctica lipasa*, pH7, acetona

En otras rutas sintéticas típicas, 5-amino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona 1, protegido en los grupos 2',3',5'-hidroxilo del β-D-ribosa y/o el grupo 5-amino, preferentemente con un grupo acilo como se muestra para 16 ó 25, se pueden someter a una variedad de condiciones para convertir el C-7 carbonilo en la posición-7 a diversos grupos, incluyendo pero sin limitar a mercapto y halógeno, que son susceptibles a reducción. Después de la reducción bajo condiciones de reacción hetero- u homogéneas, los 2',3',5'-hidroxilos de la unidad de ribosa y/o el nitrógeno del grupo 5-amino, se sometieron posteriormente a condiciones de desprotección adecuadas, para producir 79. El compuesto 79 se puede modificar en forma adicional de manera adecuada si así se desea. En un método alternativo, se sintetizó 5-amino-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona y se sometió en forma adicional a un derivado de β-D-ribosa adecuado bajo varias condiciones de glucosilación.

El esquema 7 muestra un procedimiento general para preparar ésteres de 3-β-D-ribofuranosil-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona substituidos con 5-amino-7 y substituidos con 7.

Esquema 7



a) $^tBuMe_2SiCl$, imidazol, DMF

b) ácido anhídrido, Et_3N, CH_3CN

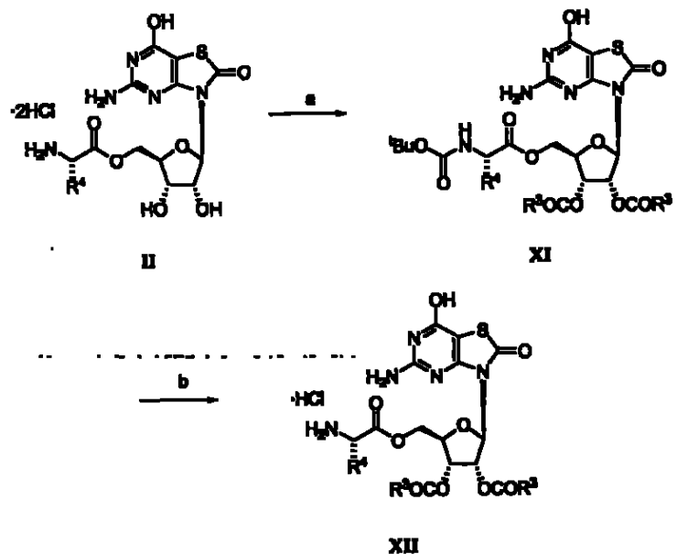
c) HF-pyr ó nBu_4NF

En una ruta sintética típica, el grupo 5'-hidroxilo de la porción β-D-ribosa, se protegió primero en forma selectiva 5-amino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidina, preferentemente con un grupo sililo adecuado tal como se muestra para VII. Los grupos 2'- y 3'-hidroxilo se sometieron posteriormente a una variedad de métodos de esterificación para formar VIII.

El 5'-hidroxilo de la unidad de ribosa se sometió posteriormente a condiciones de desprotección adecuadas, para producir IX. IX se puede modificar adicionalmente en forma adecuada si así se desea.

El esquema 8 muestra un procedimiento general para esterificación de 5-amino-3-(5'-O-ésteres de aminoácido)-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-dionas.

Esquema 8



II XI XII

a) di-^{t}butildicarbonato, Et_3N, CH_3CN, ácido anhídrido

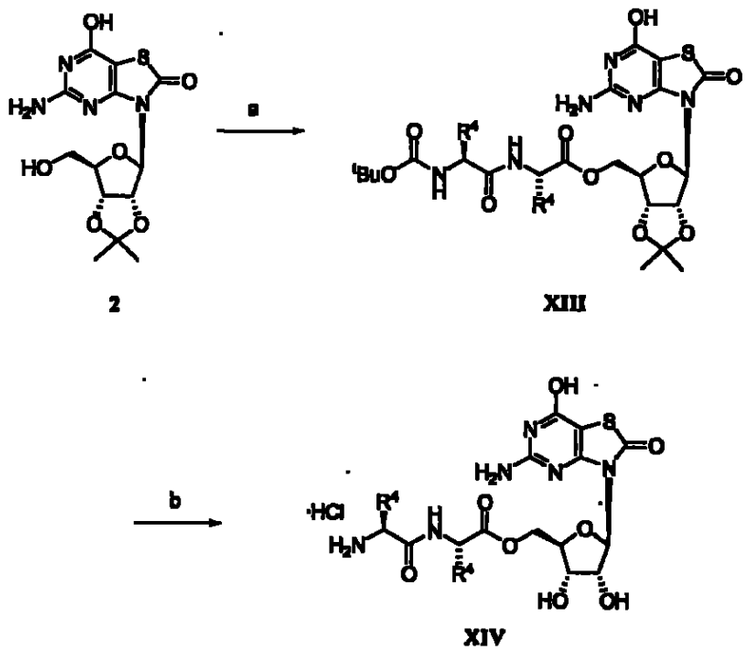
b) HCl, dioxano

En una ruta sintética típica, la amina terminal-N del 5'-éster de aminoácido de II, se protegió primero en forma selectiva, preferentemente con un grupo alcoxi-carbonilo adecuado, seguido de esterificación de los grupos hidroxilo 2' y 3' tal como se muestra para XI. Posteriormente la amina de terminal-N se somete a condiciones de desprotección adecuadas, para producir XII.

El esquema 9 muestra un procedimiento general para la esterificación de 5-amino-3-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-dionas en el 5'-hidroxilo con péptidos protegidos con

terminal-N.

Esquema 9



2 XIII XIV

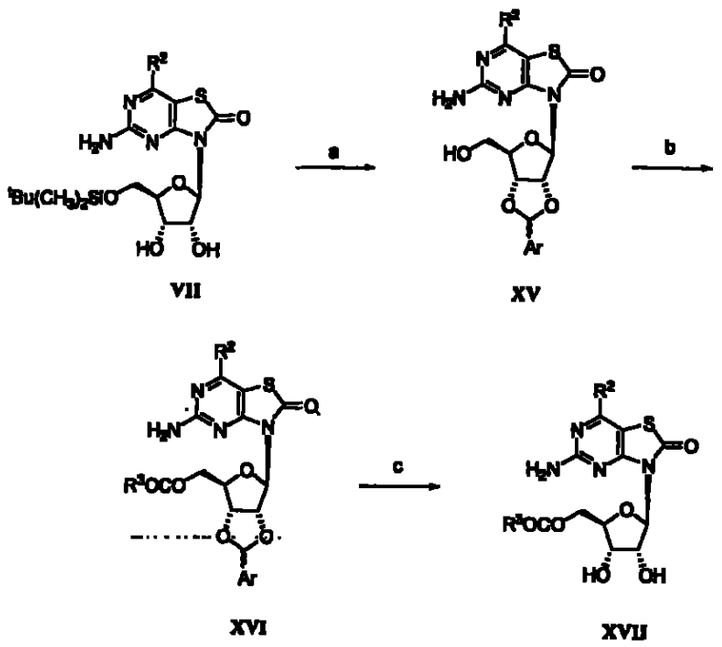
a) BOCNHCH(R^4)C(O)NHCH(R^4)CO_2H, EDC, DMAP, pyr. DCE, 0°C -rt

b) HCl, /PrOAc

En una ruta sintética típica, el grupo 5'-hidroxilo, una porción de β-D-ribosa protegida con 2',3'-hidroxi de 5-amino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidina, tal como **2**, se esterificó con un péptido de amina de terminal protegido-N (preferentemente un grupo alcoxi-carbonilo adecuado) para formar el éster de 5'-aminoácido **XIII**. Tanto la amina de terminal-N como los grupos 2',3'-hidroxi posteriormente se sometieron a condiciones de desprotección adecuadas, para producir **XIV**.

El esquema 10 muestra un procedimiento general para preparar 5'-ésteres de 3-β-D-ribofuranosil-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona substituido con 5-amino-7 y con 7.

Esquema 10



a) ArCHO, H_2SO_4, THF

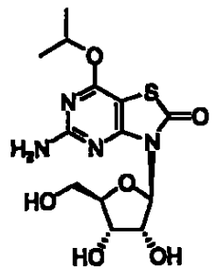
b) ácido anhídrido, Et_3N, CH_3CN

c) PPTS, CH_3OH

En una ruta sintética típica, los grupos 2'- y 3'-hidroxilo del 5-amino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidina protegida con 5'-hidroxilo, tal como VII, se protegieron. Idealmente, el grupo 5'-hidroxilo libre es desprotegido bajo condiciones para proteger los grupos 2'- y 3'-hidroxilo tal como se muestra en XV. El 5'-hidroxilo de la unidad de ribosa posteriormente se sometió a una variedad de

condiciones de esterificación con un ácido carboxílico adecuado, o derivado del mismo, para producir **XVI**. Los grupos 2',3'-hidroxilo de la unidad de ribosa se sometieron posteriormente a condiciones de desprotección adecuadas, para producir **XVII**. **XVII** se puede modificar adicionalmente en forma adecuada si así se desea.

Ejemplo 13: 5-amino-7-isopropoxi-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (28)



Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (16).

Se suspendieron anhidro 1 (8.17 g, 25.7 mmol) y DMAP (3.13 g, 25.7 mmol) en acetonitrilo seco (125 ml). Se agregó lentamente a la suspensión anhídrido acético (24.5 ml, 257 mmol). El frasco de reacción se equipó con un condensador de reflujo enfriado con agua y se sometió a reflujo durante 4.5 horas. La mezcla de reacción se vertió posteriormente en 600 ml de agua. El sólido se dejó precipitar durante 1 hora. El sólido se recolectó, se secó y trituró en éter etílico (80 ml) durante 18 horas. Esto produjo 10.3 g (82.5%) del compuesto **16** en la forma de un sólido color marrón: ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 12.19 (s, 1H), 11.81 (s, 1H), 5.95 (m, 2H), 5.49 (m, 1H),

253

4.38 (m, 1H), 4.25 (m, 1H), 4.07 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.00 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 485. R_f = 0.45 (75% acetato de etilo-$CHCl_3$). Análisis elemental para $C_{18}H_{20}N_4O_{10}S$: calculado: C, 44.63; H, 4.16; N, 11.57; S, 6.62. Encontrado: C, 44.40; H, 4.18; N, 11.58; S, 6.56.

Paso 2: Preparación de 5-acetilamino-7-isopropoxi-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (27).

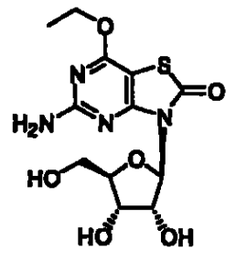
El compuesto 16 (650 mg, 1.34 mmol) y resina de Argonaut PS-trifenilfosfina (4.02 mmol, 1.86 g) se colocaron bajo una atmósfera de nitrógeno seco en un frasco secado con flama, y posteriormente se agregó THF seco (20 ml). Posteriormente el frasco se enfrió a una temperatura de 0°C en un baño con hielo. Se agregó isopropanol (IPA) (0.20 ml, 2.68 mmol) seguido de adición en forma de gotas de azodicarboxilato de dietilo (DEAD) (0.366 ml, 2.0 mmol). El frasco se eliminó del baño con hielo y se dejó templar a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se monitoreó para la desaparición del compuesto 16 mediante TLC. Al momento del consumo de 16, el material soportado sólido se filtró. la mezcla de reacción cruda se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 15 a 60% de gradiente de acetato de etilo en cloroformo. La eliminación del solvente produjo 460 mg (64.90%) de 27 en la forma de una espuma color blanco: MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 527. R_f = 0.7 (75% acetato de etilo-$CHCl_3$).

Paso 3: Preparación de 5-amino-7-isopropoxi-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (28).

Se disolvió el compuesto **27** (600 mg, 1.14 mmol) en metanol (15 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno seco. Se agregó K_2CO_3 (31.5 mg, 0.2 mmol) y la mezcla se agitó durante 18 horas en forma periódica o siendo monitoreado mediante TLC (1:1 THF:cloroformo). La mezcla de reacción se concentró bajo vacío y se purificó mediante cromatografía de columna instantánea (3% de metanol en cloroformo). El sólido aislado se trituró con éter etílico produciendo 210 mg (51%) de puro **28** en la forma de un sólido color blanco: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.83 (s, 2H), 5.86 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.34 (m, 1H), 5.26 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 4.95 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.77 (m, 1H), 4.67 (m, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.43 (m, 1H), 1.29 (d, J = 6.4 Hz, 6H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 359, $[2M+H]^+$ m/z 717.3. R_f = 0.2 (50% THF-$CHCl_3$).

Análisis elemental para $C_{13}H_{18}N_4O_{10}S$: calculado: C, 43.57; H, 5.06; N, 15.63; S, 8.95. Encontrado: C, 43.39; H, 5.07; N, 15.45; S, 8.82.

Ejemplo 14: 5-amino-7-etoxi-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (30).



Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-7-etoxi-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (29).

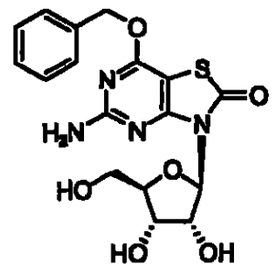
En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, se preparó **29** a

partir de 16 y etanol en una producción al 72% en la forma de una espuma color blanco: MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 513. R_f = 0.45 (75% acetato de etilo-$CHCl_3$).

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-etoxi-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (30).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, el compuesto del título se preparó a partir de 29 en una producción al 65% en la forma de un sólido color blanco: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.87 (s, 2H), 5.85 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.27 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.78 (m, 1H), 4.66 (m, 1H), 4.36 (m, 2H), 4.09 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.40 (m, 1H), 1.29 (m, 3H) ; MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 445, $[2M+H]^+$ m/z 689. R_f = 0.2 (50% THF-$CHCl_3$). Análisis elemental para $C_{12}H_{16}N_4O_6S \cdot 0.25\ H_2O$: calculado: C, 41.31; H, 4.77; N, 16.06; S, 9.19. Encontrado: C, 41.24; H, 4.71; N, 15.89; S, 9.06.

Ejemplo 15: 5-amino-7-benciloxi-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (32)



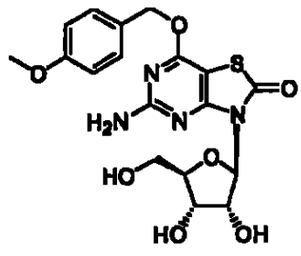
Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-7-benciloxi-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (31).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, se preparó **31** a partir de **16** y alcohol bencílico en una producción al 77% en la forma de una espuma color blanco: MS (+)-ES $[M+H]^+$ 575. R_f = 0.55 (75% acetato de etilo-$CHCl_3$).

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-benciloxi-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (**32**).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, se preparó el compuesto del título a partir de **31** en una producción al 62% en la forma de un sólido color blanco: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.39 (bm, 5H), 6.95 (s, 2H), 5.86 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.28 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.80 (m, 1H), 4.66 (m, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.42 (m, 1H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 407, [2M+H] 813. R_f = 0.15 (50% THF-$CHCl_3$). Análisis elemental para $C_{17}H_{18}N_4O_{16}S$: calculado: C, 50.24; H, 4.46; N, 13.79; S, 7.89. Encontrado: C, 49.97; H, 4.55; N, 13.44; S, 7.70.

Ejemplo 16: 5-amino-7-(4-metoxi-benciloxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (34)



Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-7-(4-metoxi-benciloxi)-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona.

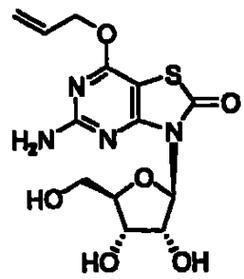
En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, se obtuvo **33** a

partir de 16 y alcohol 4-metoxi-bencílico en una producción al 72% en la forma de una espuma color blanco: $[M+H]^+$ 605. R_f = 0.5 (75% acetato de etilo-$CHCl_3$).

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-(4-metoxi-benciloxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (34).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, el compuesto se preparó a partir de 33 en una producción al 68% en la forma de un sólido color blanco: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.38 (dd, J = 8,4, 2.0 Hz, 2H), 6.93 (s, 2H), 6.91 (dd, J = 6.8, 2.0 Hz, 2H), 5.85 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.35 (s, 2H), 5.27 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 5.2, 1 H), 4.78 (m, 2H), 4.65 (m, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.74 (m, 3H), 3.55 (m, 1H), 3.41 (m, 1H); MS (+) -ES $[M+H]^+$ 437, $[2M+H]^+$ 873. R_f = 0.3 (50% THF-$CHCl_3$). Análisis elemental para $C_{18}H_{20}N_4O_7S \cdot 1.0\ H_2O$: calculado: C, 47.57; H, 4.88; N, 12.33; S, 7.06. Encontrado: C, 47.28; H, 4.91; N, 12.36; S, 7.10.

Ejemplo 17: 7-aliloxi-5-amino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (36)



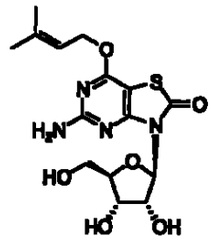
Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-7-aliloxi-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (35).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, se preparó **35** a partir de **16** y alcohol alílico en una producción al 73% en la forma de una espuma color blanco: $[M+H]^+$ 525. R_f= 0.6 (75% acetato de etilo/$CHCl_3$).

Paso 2: Preparación de 7-aliloxi-5-amino-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (**36**).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, el compuesto se preparó a partir de **35** en una producción al 69% en la forma de una espuma color blanco. ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.90 (s, 2H), 6.04 (m, 1H), 5.86 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.26 (m, 2H), 4.96 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.86 (m, 1H), 4.79 (m, 2H), 4.66 (m, 1H), 4.08 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.45 (m, 1H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 357, $[2M+H]^+$ 713. R_f= 0.3 (50%THF-$CHCl_3$). Análisis elemental para $C_{13}H_{16}N_4O_6S$: calculado: C, 43.82; H, 4.53; N, 15.72; S, 9.00. Encontrado: C, 43.65; H, 4.65; N, 15.64; S, 8.96.

Ejemplo 18: 5-amino-7-(3-metil-but-2-eniloxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (38).



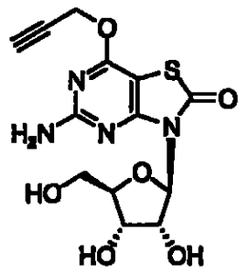
Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-7-(3-metil-but-2-eniloxi)-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (**37**).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, se preparó **37** a partir de **16** y 3-metil-but-2-en-1-ol en una producción al 76% en la forma de una espuma color blanco: MS (+)-ES $[M+H]^+$ 553. R_f= 0.8 (75% acetato de etilo-$CHCl_3$).

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-(3-metil-but-2-eniloxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (**38**).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, el compuesto del título se preparó a partir de **37** en una producción al 68% en la forma de un sólido color blanco: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ·6.86 (s, 1H), 5.85 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.41 (m, 1H), 5.27 (d, J = 5.6 Hz,1 H), 4.96 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.86 (d, J = 6.8 Hz,1H), 4.78 (m, 1H), 4.66 (m, 1H), 4.08 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.56 (m, 1H), 3.41 (m, 2H), 1.73 (s, 3H), 1.70 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 385. R_f= 0.35 (50% THF-$CHCl_3$). Análisis elemental para $C_{15}H_{20}N_4O_6S$: calculado: C, 46.87; H, 5.24; N, 14.57; S, 8.34. Encontrado: C, 46.86; H, 5.24; N, 14.62; S, 8.34.

Ejemplo 19: 5-amino-7-(prop-2-inil-oxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazol-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (40).



Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-7-(prop-2-inil-oxi)-3-(2',3',5'-

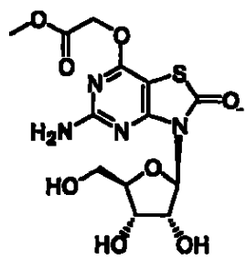
tri-O-acetil-3-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (**39**).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, se preparó **39** a partir de **16** y alcohol propargílico en una producción al 62% en la forma de una espuma color blanco: MS (+) -ES $[M+H]^+$ 523. R_f= 0.7 (75% acetato de etilo-$CHCl_3$).

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-(prop-2-inil-oxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (**40**).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, se preparó el compuesto del título a partir de **39** en una producción al 68% en la forma de un sólido color blanco: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.99 (s, 2H), 5.86 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.29 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.04 (s, 2H), 4.97 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.78 (m, 1H), 4.65 (m, 2H), 4.08 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.28 (m, 1H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 355. R_f= 0.25 (50% THF-$CHCl_3$). Análisis elemental para $C_{13}H_{14}N_4O_6S \cdot 0.5$ H_2O: calculado: C, 42.97; H, 4.16; N, 15.42; S, 9.82; encontrado: C, 43.22; H, 4.27; N, 14.80; S, 8.47.

Ejemplo 20: éster metílico de ácido (5-amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloxi)-acético (42).



Paso 1: Preparación de éster metílico de ácido [5-acetilamino-2-oxo-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-3-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-

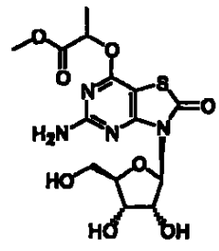
iloxi]-acético (41).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, se preparó 41 a partir de 16 y éster metílico de ácido hidroxil-acético en una producción al 58% en la forma de una espuma color blanco: MS (+)-ES $[M+H]^+$ 556. R_f= 0.45 (75% acetato de etilo-$CHCl_3$).

Paso 2: Preparación de éster metílico de ácido (5-amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]pirimidin-7-iloxi)-acético (42).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, el compuesto del título se preparó a partir de 41 en una producción al 57% en la forma de un sólido color blanco: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.93 (s, 3H), 5.86 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.28 (m, 1H), 4.99 (s, 2H), 4.95 (s, 1H), 4.80 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.55 (m, 1H), 3.42 (m, 1H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 389, $[2M+H]^+$ 777.3. R_f= 0.15 (75% THF-$CHCl_3$). Análisis elemental para $C_{13}H_{16}N_4O_8S$: calculado: C, 40.21; H, 4.15; N, 14.43; S, 8.26. Encontrado: C, 40.07; H, 4.25; N, 14.20; S, 8.11.

Ejemplo 21: éster metílico de ácido 2-(5-amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloxi)-propiónico (44).



Paso 1: éster metílico de ácido 2-[5-acetilamino-2-oxo-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-3-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloxi}-

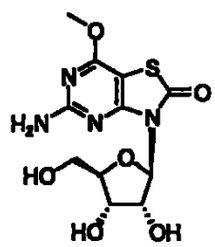
propiónico (43).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, preparó 43 a partir de 16 y (±)-éster metílico de ácido 2-hidroxi-propiónico en una producción al 55% en la forma de un sólido color blanco: MS (+)-ES $[M+H]^+$ 571. R_f= 0.4 (75% acetato de etilo-$CHCl_3$).

Paso 2: éster metílico de ácido 2-(5-amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloxi)-propiónico (44).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, se preparó el compuesto del título a partir de 43 en una producción al 63% en la forma de un sólido color blanco: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.88 (s, 2H), 5.84 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.39 (m, 1H), 5.29 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.97 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.80 (m, 1H), 4.66 (m, 1H), 4.10 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.56 (m, 1H), 3.43 (m, 1H), 1.51 (d, J = 6.8 Hz, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 403, $[2M+H]^+$ 805. R_f= 0.15 (50% THF-$CHCl_3$). Análisis elemental para $C_{14}H_{18}N_4O_6S$: calculado: C, 41.79; H, 4.51; N, 13.92; S, 7.97. Encontrado: C, 41.77; H, 4.50; N, 13.88; S, 7.94.

Ejemplo 22: 5-amino-7-metoxi-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (14).



Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-7-metoxi-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-

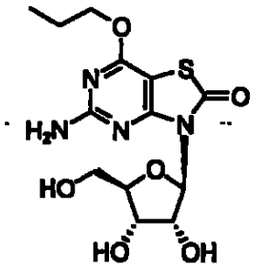
β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (45).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, se preparó el 45 a partir de 16 y metanol en una producción al 65% en la forma de una espuma color blanco: MS (+)-ES $[M+H]^+$ 499. R_f= 0.5 (75% acetato de etilo-$CHCl_3$).

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-metoxi-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (14).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, se preparó el compuesto del título a partir de 45 en una producción al 78% en la forma de un sólido color blanco: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.91 (s, 2H), 5.86 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.28 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.77 (m, 1H), 4.66 (m, 1 H), 4.09 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.75 (m, 1H), 3.56 (m, 1H), 3.43 (m, 1H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 331. R_f= 0.2 (50% THF-$CHCl_3$). Análisis elemental para $C_{11}H_{14}N_4O_6S \cdot 0.25$ H_2O: calculado: C, 39.46; H, 4.37; N, 16.73; S, 9.58. Encontrado: C, 39.59; H, 4.17; N, 16.55; S, 9.52.

Ejemplo 23: 5-amino-7-propoxi-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (47).



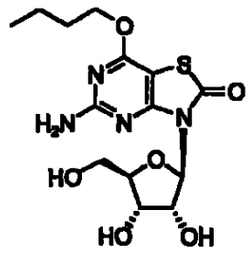
Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-7-propoxi-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (46).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, se preparó **46** a partir de **16** y n-propanol en una producción al 65% en la forma de una espuma color blanco: MS (+) -ES $[M+H]^+$ 527. R_f= 0.55 (75% acetato de etilo-$CHCl_3$).

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-propoxi-3-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (**47**).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, el compuesto del título se preparó a partir de **47** en una producción al 70% en la forma de un sólido color blanco: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.87 (s, 2H), 5.85 (J = 5.2 Hz, 1H), 5.28 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 4.80 (m, 1 H), 4.66 (m, 1H), 4.29 (m, 2H), 4.08 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.56 (m, 1 H), 3.42 (m, 1H), 1.71 (m, 2H), 0.92 (m, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 359. R_f= 0.3 (50% THF- $CHCl_3$). Análisis elemental para $C_{13}H_{18}N_4O_6S$: calculado: C, 43.57; H, 5.06; N, 15.63; S, 8.95. Encontrado: C, 43.77; H, 5.29; N, 15.39; S, 8.81.

Ejemplo 24: 5-amino-7-butoxi-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (49).



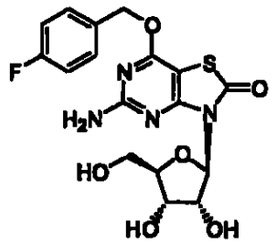
Paso 1: Preparación 5-acetilamino-7-butoxi-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (**48**).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, se preparó **48** a partir de **16** y n-butanol en una producción al 64% en la forma de una pasta color blanco: MS (+)-ES $[M+H]^+$ 541. R_f= 0.65 (75% acetato de etilo-$CHCl_3$).

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-butoxi-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (**49**).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, se preparó el compuesto del título a partir de **48** en una producción al 72% en la forma de un sólido color blanco: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.87 (s, 2H), 5.85 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.28 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.95 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.77 (m, 1H), 4.34 (m, 1H), 4.07 (m, 1H), 3 .74 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.41 (m, 1H), 1.63 (m, 2H), 1.31 (m, 2H), 0.92 (m, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 373. R_f= 0.25 (50% THF- $CHCl_3$). Análisis elemental para $C_{14}H_{20}N_4O_6S$: calculado: C,45.15; H, 5.41; N, 15.04; S, 8.61. Encontrado: C, 44.79; H, 5.34; N, 15.02; S, 8.60.

Ejemplo 25: 5-amino-7-(4-fluorobencilioxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (51).



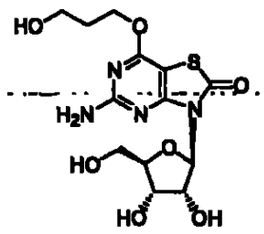
Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-7-(4-fluorobencilioxi)-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (**50**).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, se preparó **50** a partir de **16** y alcohol 4-fluorobencílico. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.20 (m, 1H), 7.44 (m, 1H), 7.06 (m, 1H), 6.10 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.02 (dd, J = 3.0,6.0 Hz, 1H), 5.92 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 5.48 (s, 2H), 4.51 (dd, J = 4.0, 6.0 Hz, 1H), 4.34 (m, 1), 4.23 (dd, J = 4.0, 8.0 Hz, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.04 (s, 3H).

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-(4-fluorobenciloxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (51).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, se preparó el compuesto del título a partir de **50**. ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.50 (m, 2H), 7.19 (m, 2H), 6.96 (s, 2H), 5.86 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.28 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.78 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 4.66 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.09 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.75 (q, J = 4.8 Hz, 1H), 3.57 (m, 1H), 3.42 (m, 1H).

Ejemplo 26: 5-amino-7-(3-hidroxi-1-propoxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (53).



Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-7-(3-acetoxi-1-propoxi)-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (**52**).

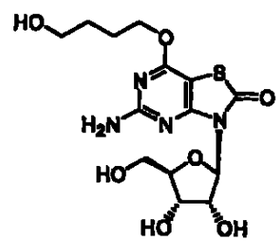
En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, se preparó **52** a

partir de 16 y monoacetato de 1,3-propanodiol (Dittmer, JACS, 79,4431-35) (1957)). ^{1}H RMN (400 MHz,$CDCl_3$) δ 8.17 (s, 1H), 6.10 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.02 (dd, J = 2.8, 6.0 Hz, 1H), 5.89 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 4.56-4.89 (m, 3H), 4.34 (m, 1H), 4.26-4.20 (m, 3H), 2.46 (s, 3H), 2.15 (m, 2H), 2.13 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2. 07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H).

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-(3-hidroxi-1-propoxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (53).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, se preparó el compuesto del título a partir de 53. ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.87 (s, 2), 5.86 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.28 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.78 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 4.67 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.53 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 4.40 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 4.09 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.75 (q, J = 4.8 Hz, 1H), 3 .57 (m, 1 H), 3.50 (q, J = 6.4 Hz, 2H), 3.42 (m, 1 H), 1.83 (m, 2H).

Ejemplo 27: 5-amino-7-(4-hidroxi-1-butoxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (55).



Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-7-(4-acetoxi-1-butoxi)-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (54).

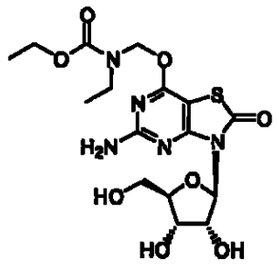
En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, se preparó 54 a

partir de 16 y monoacetato de 1,4-butanodiol (Clarke, Tet. Lett., 43(27), 4761-64 (2002)). 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.15 (s, 1H), 6.10 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.02 (dd, J = 3.2, 6.4 Hz, 1H), 5.89 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 4.50 (m, 3H), 4.32 (m, 1H), 4.24 (dd, J = 6.4, 12.0 Hz, 1H), 4.13 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 2.45 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.88 (s, 3H), 1.78 (m, 2H).

Paso 2: Preparación 5-amino-7-(4-hidroxi-1-butoxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (55).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, se preparó el compuesto del título a partir de 54. ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.87 (s, 2H), 5.85 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.29 (s, 1H), 4.98 (s, 1H), 4.79 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 4.67 (s, 1H), 4.43 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 4.35 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 4.09 (t, J = 5.2, Hz, 1H), 3.75 (q, J = 4.8 Hz, 1H), 3.57 (m, 1H), 3.42 (m, 3H), 1.72 (m, 2H), 1.50 (m, 2H).

Ejemplo 28: éster etílico de ácido (5-amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosil-2,3-dihidro-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloximetil)-etil-carbámico (58).



Paso 1: Preparación de N-etil-N-(hidroximetil)-uretano (56).

Bajo condiciones experimentales reportadas en la publicación de Kelper, JOC, 52,453-55 (1987), se agregó una pasta de $Ba(OH)_2$

(46.0 mg, 266 µmol) en agua (480 µl) se agregó a una mezcla de N-etiluretano (2.04 ml, 17.1 mmol) y una solución acuosa al 37% de formalina (1.28 ml, 17.1 mmol) en una porción con agitación. La mezcla se volvió fría y gradualmente se formó una solución nebulosa. Posteriormente la mezcla se agitó a temperatura ambiente y la desaparición de N-etiluretano se monitoreó mediante análisis TLC. Después de 2 horas, la reacción se extinguió agregando CO_2 sólido, se agitó durante 30 minutos y se filtró para eliminar el carbonato de bario precipitado. El solvente se eliminó bajo vacío para proporcionar un residuo aceitoso. Las cantidades de trazo de agua se eliminaron mediante destilación azeotrópica con benceno (3 x 100 ml) para proporcionar **56** en la forma de un aceite claro (2.50 g, cuant.): ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4.88 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.79 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 4.18 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 3.40 (q, J = 6.4 Hz, 2H), 1.30 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 1.19 (t, J = 7.6 Hz, 3H).

Paso 2: Preparación de éster etílico del ácido 5-acetilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-2,3-dihidro-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloximetil)-etil-carbámico (**57**).

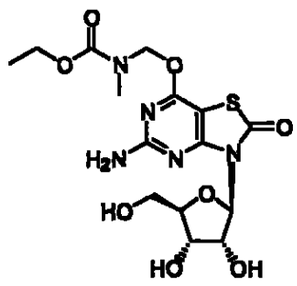
En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, se preparó el **57** a partir de **16** y **57** en la forma de un sólido color blanco en una producción al 24%: R_f= 0.4 (33% EtOAc-$CHCl_3$); 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 11.49 (br s, 1H), 6.08 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.75 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 5.53 (s, 2H), 4.49 (dd, J = 13.5, 8.4 Hz, 1H), 4.30 (m, 5H), 3.62 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 1.36 (t, J = 6.8 Hz, 3H),1.20 (t, J = 6.8 Hz, 3H); $[M+H]^+$

614.2.

Paso 3: Preparación de éster etílico de ácido (5-amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosil-2,3-dihidro-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloximetil)-etil-carbámico (58).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, se preparó el compuesto del título a partir de 57 en la forma de un sólido color blanco en una producción al 30%: ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.89 (br s, 2H), 5.82 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.49 (m, 3H), 5.32 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.01 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.82 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 4.69 (t, J = 5.6 Hz, 1 H), 4.20 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 4.11 (q, J = 5.6 Hz, 2H), 3 .78 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.45 (m, 1H), 1.27 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.09 (t, J = 6.0 Hz, 3H); $[M+H]^+$ 446.3.

Ejemplo 29: éster etílico de ácido (5-amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosil-2,3-dihidro-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloximetil)-metil-carbámico (61).



Paso 1: Preparación de N-metil-N-(hidroximetil)-uretano (59).

En una forma similar al ejemplo 28, paso 1, se preparó el compuesto 59 a partir de N-metiluretano y formalina en la forma de un aceite grueso en producción cuantitativa: (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5.02

(d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.79 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 4.18 (q, J = 4.4 Hz, 2H), 3.01 (s, 3H), 1.30 (t, J = 7.6 Hz, 3H).

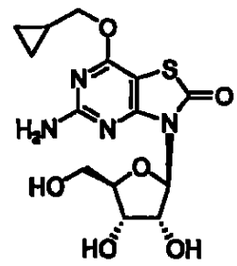
Paso 2: Preparación de éster etílico de ácido (5-amino-2-oxo-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-2,3-dihidro-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloximetil)-metil-carbámico (60).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, se preparó el compuesto 60 a partir de 16 y 59 en la forma de un sólido color blanco en una producción al 24%: R_f= 0.4 (33% EtOAc-$CHCl_3$); ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 11.49 (br s, 1H), 6.08 (d, J = 4:0 Hz, 1H), 5.75 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 5.53 (s, 2H), 4.49 (dd, J = 13.5, 8.4 Hz, 1H), 4.30 (m, 5H), 3.62 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 1.36 (t, J = 6.8 Hz, 3H), 1.20 (t, J = 6.8 Hz, 3H); $[M+H]^+$ 614.2.

Paso 3: Preparación de éster etílico de ácido (5-amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosil-2,3-dihidro-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloximetil)-metil-carbámico (61).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, se preparó el compuesto del título a partir de 60 en la forma de un sólido color blanco en una producción al 20%: ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.86 (br s, 2H), 5.82 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.47 (s, 2H), 5.31 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.00 (d, J = 5.6 Hz, 1 H), 4. 82 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 4.67 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 4.18 (q, J = 6.4 Hz, 2H), 4.12 (m, 1H), 3.78 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 3.30 (s, 3H), 1.27 (t, J = 6.8 Hz, 3H); $[M+H]^+$ 432.3.

Ejemplo 30: 5-amino-7-ciclopropilmetoxi-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (63).



Paso 1: Preparación de 5-amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (25).

A una suspensión de **1** (5.00 g, 15.8 mmol) en acetonitrilo (160 ml) a una temperatura de 0°C, se le agregó en forma sucesiva Et_3N (11.0 ml, 79.0 mmol), DMAP (195 mg, 1.59 mmol), y Ac_2O (4.47 ml, 47.4 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, mediante lo cual se concentró hasta obtener un jarabe color café. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna instantánea (sílice, MeOH/$CHCl_3$ = 1.10%) para producir 6.22 g (89%) de triacetato **25** en la forma de un sólido color blanco: p.f. 198-199°C; ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.34 (s, 1H), 7.02 (br s, 2H), 5.90 (m, 2H), 5.51 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.36 (dd, J = 12.4, 3.2 Hz, 1H), 4.21 (m, 1H), 4.08 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 2.06 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.00 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 443.3.

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-ciclopropilmetoxi-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (62).

A una mezcla heterogénea del triacetato d**25** anterior (1.49 g, 3.37 mmol), resina de trifenilfosfina soportada por polímero

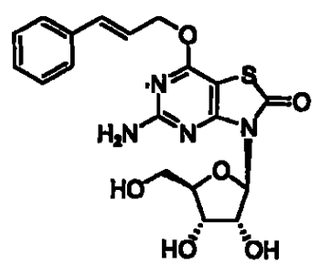
argonauta (5.98 g, 10.1 mmol) y carbinol de ciclopropilmetilo (546 µl, 6.74 mmol) en THF (70 ml) a una temperatura de 0°C, se le agregó DEAD (742 µl, 4.72 mmol). La mezcla de reacción se templó a temperatura ambiente, se agitó 16 horas, posteriormente se filtró a través de una almohadilla corta de SiO_2. El filtrado concentrado se cromatografió (SiO_2, elución de gradiente, 0-5% EtOAc-$CHCl_3$), produciendo 680 mg (42%) de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.95 (s, 2H), 5.99 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.91 (dd, J = 6.2, 4.0 Hz, 1H), 5.55 (dd, J = 6.6, 6.2 Hz, 1H), 4.37 (dd, J = 12.1, 3.7 Hz, 1H), 4.22-4.26 (m, 1H), 4.19 (d, J = 7.0 Hz, 2H), 4.09 (dd, J = 11.7, 5.9 Hz, 1H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.20-1.26 (m, 1H), 0.53-0.58 (m, 2H), 0.31-0.35 (m, 2H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 497. Análisis elemental calculado para $C_{20}H_{24}N_4O_9S$: C, 48.38; H, 4.87; N, 11.28; S, 6.46. Encontrado: C, 48.53; H, 4.99; N, 11.27; S, 6.18.

Paso 3: Preparación de 5-amino-7-ciclopropilmetoxi-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (63).

A una suspensión de **62** (570 mg, 1.18 mmol) en MeOH se le agregó K_2CO_3 (50 mg, 0.36 mmol) a una temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora, se concentró, dividió entre 20% IPA-$CHCl_3$ y agua, y posteriormente se trituró con Et_2O para producir 128 mg (29%) de **63** en la forma de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.86 (s, 2H), 5.85 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 5.27 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 5.5 Hz, 1 H), 4.77 (q, J = 5.5 Hz, 1 H), 4.66 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 4.18 (dd, J = 7.3, 1.1 Hz, 1H),

4.09 (q, J = 5.5 Hz, 1H), 3.75 (q, J = 5.1 Hz, 1H), 3.39-3.60 (m, 2H), 1.20-1.27 (m, 1H), 0.53-0.57 (m, 2H), 0.31-0.34 (m, 2H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 371. Análisis elemental calculado para $C_{14}H_{18}N_4O_6S$: C, 45.40; H, 4.90; N, 15.13; S, 8.66. Encontrado: C, 44.98; H, 4.92; N, 14.92; S, 8.49.

Ejemplo 31: 5-amino-7-(3-fenil-aliloxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (66).



Paso 1: Preparación de 5-amino-7-(3-fenil-aliloxi)-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,.5-d]-pirimidin-2-ona (64).

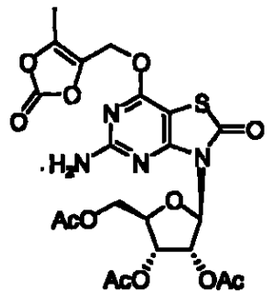
En una forma similar al paso 2 del ejemplo 25, se preparó el compuesto 64 a partir de 25 y alcohol cinamílico en una producción al 69%: MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 601.

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-(3-fenil-aliloxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (65).

En una forma similar al paso 3 del ejemplo 25, se preparó el compuesto del título a partir de 64 en una producción al 19% en la forma de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.46 (d, J = 7.0 Hz,1H), 7.34 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.23-7.27 (m, 1H), 6.93 (s, 2H), 6.74 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 6.45-6.53 (m, 1H), 5.86 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 5.28 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 5.04 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 4.96 (d, J =

5.5 Hz, 1H), 4.79 (q, J = 5.5 Hz, 1H), 4.67 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.09 (q, J = 5.1 Hz, 1H), 3.76 (q, J = 4.8 Hz, 1H), 3.30-3.60 (m,2H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 433. Análisis elemental calculado para $C_{18}H_{20}N_4O_8S$: C, 52.77; H, 4.66; N, 12.96; S, 7.41. Encontrado: C, 52.28; H, 4.66; N, 12.66; S, 7.27.

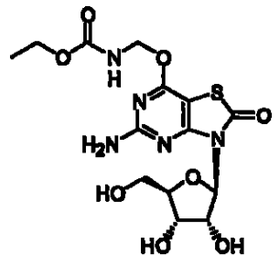
Ejemplo 32: 5-amino-7-(5-metil-2-oxo-[1,3]-dioxol-4-ilmetoxi)-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (66).



A una solución de triacetato 25 (1.55 g, 3.50 mmol) en THF (50 ml) a una temperatura de 0°C, se le agregó trifenilfosfina soportada con polímero (4.95 g, 10.50 mmol, Argonaut). A esta mezcla se le agregó 4-hidroximetil-5-metil-[1,3]-dioxol-2-ona (0.91 g, 7.00 mmol), preparada de acuerdo con el procedimiento de la publicación Alepegiani, *Syn. Comm.* , 22(9), 1277-82 (1992), posteriormente se agregó azodicarboxilato de dietilo (0.73 ml, 4.60 mmol) en forma de gotas. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas, se filtró y lavó con MeOH y $CHCl_3$. El filtrado se concentró y purificó mediante cromatografía de columna instantánea (sílice, acetona/$CHCl_3$ = 10-20%) para producir un derivado de dioxolona 66 (1.38 g, 71%) en la forma de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-

DMSO) 66; δ 7.06 (s, 2H), 6.00 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.92 (dd, J = 6.6, 4.4 Hz, 1H), 5.56 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 5.30 (s, 2H), 4.38 (dd, J =11.6, 3.6 Hz, 1H), 4.25 (t, J = 3.6 Hz, 1H), 4.10 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 2.23 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.00 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 555.3. Análisis elemental calculado para $C_{21}H_{22}N_4O_{12}S \cdot Me_2CO$: C, 47.06; H, 4.61; N, 9.15; S, 5.23. Encontrado: C, 47.25; H, 4.37; N, 9.53; S, 5.52.

Ejemplo 33: éster etílico de ácido (5-amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosil-2,3-dihidro-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloximetil)-carbámico (68).



Paso 1: Preparación de 5-amino-3-(2',3',5'-tris-O-trietilsilanil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (26).

A una suspensión de 1 (1.00 g, 3.16 mmol) en DMF (20 ml) a temperatura ambiente, se le agregó en forma sucesiva imidazole (753 mg, 11.06 mmol) DMAP (39 mg, 0.32 mmol), y clorotrietilsilano (1.64 ml, 9.80 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, mediante lo cual se extinguió mediante solución $NaHCO_3$ saturada (20 ml). La mezcla se extractó con $CHCl_3$ (3 x 20 ml), se secó sobre $MgSO_4$ y concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna instantánea (sílice, MeOH/$CHCl_3$

= 1-5%) para producir 1.91 g (92%) del compuesto **26** en la forma de un sólido color blanco: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 5.99 (s, 1H), 5.62 (br s, 2H), 5.19 (dd, J = 4.4, 6.0 Hz, 1H), 4.35 (dd, J = 2.8, 4.4 Hz, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.77 (dd, J = 7.6, 10.8 Hz, 1H), 3.68 (dd, J = 4.8, 10.4 Hz, 1H), 1.10 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 0.96 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 0.89 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 0.68 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 0.61 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 0.54 (m, 2H) ; MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 660.0.

Paso 2: Preparación de éster etílico de ácido 5-amino-3-(2',3',5'-tris-O-trietilsilanil-β-D-ribofuranosil)-2,3-dihidro-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloximetil)-carbámico (**67**).

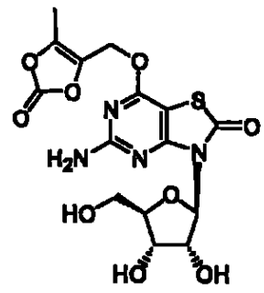
En una forma similar al paso 2 del ejemplo 13, se preparó el compuesto **67** a partir de **26** y N-etiluretano en la forma de un sólido color blanco en una producción al 31%: $[M+H]^+$ 760.5; ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.43 (br s, 2H), 6.09 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 5.94 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.31 (d, J = 4.8 Hz, 2H), 5.19 (dd, J = 6.0, 4.8 Hz, 1H), 4.3 5 (dd, J = 4.8, 2.8Hz, 1H), 4.19 (q, J = 6.4 Hz, 2H), 3.98 (m, 1H), 3.76 (dd, J = 10.8,7.6 Hz, 1H), 3.68 (dd, J = 10.4, 4.8 Hz, 1H), 1.29 (t, J = 6.8 Hz, 3H), 1.02 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.96 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 0.90 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.69 (q, J = 8.0 Hz, 2H), 0.61 (q, J = 8.0 Hz, 2H), 0.55 (m, 2H); $[M+H]^+$ 760.5.

Paso 3: Preparación de éster etílico de ácido (5-amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosil-2,3-dihidro-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloximetil)-carbámico (**68**).

Una solución de **67** (244 mg, 321 μmol), 5M HF en piridina (321 μl, 1.60 mmol) y THF (3.20 ml), se agitó a temperatura ambiente

durante 5 horas. La eliminación de los solventes bajo vacío dejó un residuo que fue purificado mediante cromatografía instantánea (SiO_2, 10% MeOH-$CHCl_3$) para producir 68 (119 mg, 90%) en la forma de un sólido color blanco: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.43 (br s, 1H), 7.76 (br s, 2H), 5.82 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.78 (s, 2H), 5.32 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.24 (dd, J = 6.0, 4.8 Hz, 1H), 5.00 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.82 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 4.68 (t, J = 6.0, 1 H), 4.11 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 4.09 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.78 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 1.21 (t, J = 7.2 Hz, 3H); $[M+H]^+$ 418.2.

Ejemplo 34: 5-amino-7-(5-metil-2-oxo-[1,3]-dioxol-4-ilmetoxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (70).



Paso 1: Preparación de 5-amino-7-(5-metil-2-oxo-[1,3]-dioxol-4-ilmetoxi)-3-(2',3',5'-tris-O-trietilsilanil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (69).

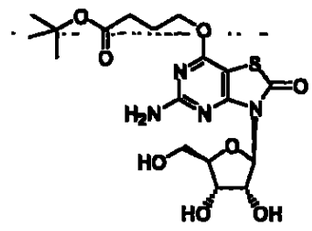
En una forma similar al ejemplo 32, se preparó el compuesto 69 a partir de 26 y 4-hidroximetil-5-metil-[1,3]-dioxol-2-ona en la forma de un sólido color blanco en una producción al 45%: ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.06 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.21 (dd, J = 6.0, 4.8 Hz, 1H), 5.18 (d, J = 3.2 Hz, 2H), 4.94 (br s, 2H), 4.3 8 (dd, J = 4.8,

2.8 Hz, 1H), 4.00 (m, 1H), 3.79 (dd, J = 11.2, 8.0 Hz, 1H), 3.69 (dd, J = 10.8,5.2 Hz, 1H), 2.23 (s, 3H), 1.02 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.96 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 0.89 (t, J = 8.4 Hz, 3H), 0.70 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 0.61 (q, J = 8.0 Hz, 2H), 0.53 (m, 2H); $[M+H]^+$ 771.5.

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-(5-metil-2-oxo-[1,3]-dioxol-4-ilmetoxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (70).

En una forma similar al paso 3 del ejemplo 33, el compuesto del título se preparó a partir de 69 en la forma de un sólido color blanco en una producción al 89%: ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 7.03 (br s, 2H), 5.90 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.33 (s, 2H), 5.02 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 4.83 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 4.71 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.14 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.80 (q, J = 4.8 Hz,1H), 3.62 (m, 1H), 3.47 (m,1 H), 2.27 (s, 3H); $[M+H]^+$ 429.2.

Ejemplo 35: éster terbutílico de ácido 4-(5-amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloxi)-butírico (72).



Paso 1: Preparación de éster terbutílico de ácido 4-(5-amino-2-oxo-3-(2',3',5'-tris-O-trietilsilanil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloxi)-butírico (71).

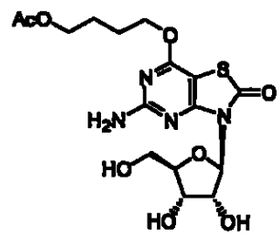
En una forma similar al paso 2 del ejemplo 13, se preparó el compuesto 71 a partir de 26, y éster terbutílico de ácido 4-hidroxi-

butírico (Lui, JOC, 68 (17), (2003)), en la forma de un sólido color blanco en una producción al 92%: ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.06 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 5.22 (dd, J = 6.0, 4.8 Hz, 1H), 4.98 (br s, 2H), 4.42 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 4.38 (dd, J = 6.0, 4.8 Hz, 1H), 4.00 (m, 1H), 3.80 (dd, J = 10.8, 7.6 Hz, 1H), 3.69 (dd, J = 10.8, 5.2 Hz, 1H), 2.38 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.06 (quint, J = 7.2 Hz, 3H), 1.47 (s, 9H), 1.02 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.96 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.88 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.70 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 0.61 (q, J = 8.0 Hz, 2H), 0.53 (m, 2H); $[M+H]^+$ 801.5.

Paso 2: Preparación de éster terbutílico de ácido 4-(5-amino-2-oxo-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-iloxi)-butírico (72).

En una forma similar al paso 3 del ejemplo 33, el compuesto del título se preparó a partir del 71 en la forma de un sólido color blanco en una producción al 66%: ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.93 (br s, 2H), 5.90 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.32 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.10 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.83 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 4.71 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.38 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.13 (q, J = 5.6 Hz,1 H), 3.80 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 3.62 (m, 1H), 3 .47 (m, 1H), 2.35 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.96 (quint, J = 6.8 Hz, 2H), 1.44 (s, 9H); $[M+H]^+$ 459.3.

Ejemplo 36: 5-amino-7-(4-acetoxi-1-butoxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (74).



Paso 1: Preparación de 5-amino-7-(4-acetoxi-1-butoxi)-3-(2',3',5'-tris-O-trietilsilanil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (73).

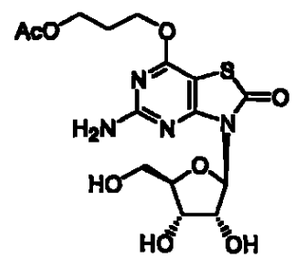
En una forma similar al ejemplo 13, paso 2, se preparó el 73 a partir de 26 y monoacetato de 1,4-butanodiol en la forma de un sólido color blanco en una producción al 81%: ^{1} RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.06 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.23 (dd, J = 5.6, 5.2 Hz, 1H), 4.93 (br s, 2H), 4.41 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.37 (dd, J = 4.8, 2.8 Hz, 1H), 4.14 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.00 (m, 1H), 3.80 (dd, J = 11.2, 7.6 Hz, 1H), 3.69 (dd, J = 10.8, 4.8 Hz, 1H), 2.07 (s, 3H), 1.85 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.02 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 0.96 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.88 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 0.70 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 0.61 (q, J = 8.0 Hz, 2H), 0.56 (m, 2H); $[M+H]^+$ 773.5.

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-(4-acetoxi-1-butoxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (74).

Se agitó a una temperatura ambiente durante 18 horas una solución de 73 (188 mg, 243 μmol) y 1M HF en acetonitrilo (1.22 ml, 1.22 mmol). La eliminación de los solventes bajo vacío dejó un residuo que fue purificado mediante cromatografía instantánea (SiO_2, 10% MeOH-$CHCl_3$) para producir 74 (91.1 mg, 88%) en la forma de

un sólido color blanco: ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.93 (br s, 2H), 5.90 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.32 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.01 (d, J = 5 . 6 Hz, 1H), 4.83 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 4.71 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.41 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 4.14 (q, J = 4.8 Hz, 1H), 4.07 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 3.80 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 3.62 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 2.04 (s, 3H), 1.80 (m, 2H), 1.71 (m, 2H); $[M+H]^+$ 431.3.

Ejemplo 37: 5-amino-7-(4-acetoxi-1-propoxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (76).



Paso 1: Preparación de 5-amino-7-(4-acetoxi-1-propoxi)-3-(2',3',5'-tris-O-trietilsilanil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (75).

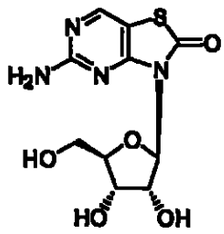
En una forma similar al paso 13, paso 2, se preparó 75 a partir de 26 y monoacetato de 1,3-propanodiol en la forma de un sólido color blanco en una producción al 70%: ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.06 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 5.23 (dd, J = 6.4, 4.8 Hz, 1H), 4.93 (br s, 2H), 4.46 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.38 (dd, J = 4.4, 2.4 Hz, 1H), 4.22 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.00 (m, 1H), 3.80 (dd, J = 10.8, 7.6 Hz, 1H), 3.69 (dd, J = 10.8, 5.2 Hz, 1H), 2.12 (quint, J = 6.4 Hz, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.02 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.96 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.88 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 0.70 (q, J = 8.4 Hz, 2H), 0.61 (q, J = 8.4 Hz, 2H), 0.54 (m; 2H);

$[M+H]^+$ 759.5.

Paso 2: Preparación de 5-amino-7-(4-acetoxi-1-propoxi)-3-β-D-ribofuranosil-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (76).

En una forma similar al ejemplo 36, paso 2, se preparó el **76** a partir de **75** en la forma de un sólido color blanco en una producción al 32%: ^{1}H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 6.94 (br s, 2H), 5.90 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 5.32 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.00 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 4.83 (q, J = 4.8 Hz,1H), 4.71 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.46 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.14 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.80 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.62 (dd, J = 11.2,8.0 Hz, 1H), 3.47 (dd, J = 11.2, 6.0 Hz, 1H), 2.06 (quint, J = 6.4 Hz, 2H), 2.04 (s, 3H); $[M+H]^+$ 417.2.

Ejemplo 38: 5-amino-3-β-D-ribofuranosil-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (79).



Paso 1: Preparación de 5-amino-7-tioxo-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (77).

A una solución de **25** (1 g, 2.26 mmol) en piridina (50 ml) se le agregó a temperatura ambiente P_2S_5 (2.13 g, 4.79 mmol). La solución se sometió suavemente a reflujo (temperatura de baño 130-140°C) durante 29 horas. La mezcla de reacción se evaporó hasta secarse in vacuo. El exceso de P_2S_5, se descompuso mediante la adición de

H_2O (40 ml) a una temperatura de 60°C. La mezcla se agitó durante 1 hora a una temperatura de 60°C y posteriormente se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla se extractó con $CHCl_3$ (3 x 40 ml). La capa orgánica ($MgSO_4$) seca se evaporó hasta obtener un jarabe, el cual se purificó mediante cromatografía de columna instantánea (sílice, acetona/$CHCl_3$ = 15%) para producir 0.93 g (90%) de 77 en la forma de un sólido color amarillo: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 12.50 (s, 1H), 7.35 (br s, 2H), 5.89 (m, 2H), 5.51 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 4.36 (dd, J = 12.0, 4.0 Hz, 1H), 4.24 (m, 1H), 4.10 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.01 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 459.3.

Paso 2: Preparación de 5-amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (78).

Una suspensión de níquel Raney® 2800 (3 espátulas grandes, lavadas previamente con H_2O, MeOH y acetona) en acetona (50 ml) a temperatura de reflujo durante 1 hora. Subsecuentemente se agregó triacetato 77 (0.93 g, 2.03 mmol) a la suspensión anterior a temperatura de reflujo. La mezcla se agitó durante 5 minutos, se enfrió a temperatura ambiente durante 30 minutos. La reacción se extinguió mediante burbujeo de H_2S (g) en la mezcla durante 2 horas. La mezcla resultante se filtró a través de una almohadilla corta de Celite® y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró y purificó mediante cromatografía de columna instantánea (sílice, MeOH/$CHCl_3$ = 1-2%) para producir 0.52 g (60%) de 78 en la forma de un sólido color blanco: p.f. 121-123°C; ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.38 (s, 1H), 6.93 (s, 2H), 6.03 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 5.93 (dd, J =

6.4,3.6 Hz, 1H), 5.58 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.38 (dd, J =11.6, 3.6 Hz, 1H), 4.26 (m, 1H), 4.11 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 2.08 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.00 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 427.2. Análisis elemental calculado para $C_{16}H_{18}N_4O_8S\delta0.5CH_3OH\cdot0.25\ H_2O$: C, 44.34; H, 4.62; N, 12.54; S 7.17. Encontrado: C, 44.54; H, 4.88; N, 12.16; S, 7.17.

Paso 3: Preparación de 5-amino-3-β-D-ribofuranosil-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (79).

A una solución de 78 (0.52 g, 1.22 mmol) en MeOH (20 ml) se le agregó K_2CO_3 (25 mg, 0.18 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche, posteriormente se neutralizó con AcOH (21 µl, 0.36 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos adicionales, se concentró y trituró con H_2O (2 ml) para producir 0.33 g del compuesto 79 (89%) en la forma de un sólido color blanco: p.f. 220°C (dec); ^1H (400 MHz; d_6-DMSO) δ 8.34 (s, 1H), 6.85 (s, 2H), 5.90 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.31 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.98 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.81 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 4.67 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.11 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3 .77 (dd, J = 10.8, 4.8 Hz, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.44 (m, 1H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 301.1. Análisis elemental calculado para $C_{10}H_{12}N_4O_5S\cdot0.3\ H_2O$: C, 39.29; H, 4.15; N, 18.33; S 10.49. Encontrado: C, 39.51; H, 4.18; N, 17.95; S, 10.27.

Ejemplo 39: 5-amino-3-β-D-ribofuranosil-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (79).

<u>Ruta sintética alternativa A</u>

Paso 1: Preparación de 5-amino-7-cloro-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-

ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (80).

A una solución de 25 (0.84 g, 1.90 mmol) en $CHCl_3$ (9 ml) se le agregó trietilamina (0.50 ml, 3.59 mmol) y $POCl_3$ (1.60 ml, 17.1 mmol). Después de calentar a reflujo durante 16 horas, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en hielo y $NaHCO_3$ acuoso saturado (150 ml). La mezcla resultante se extractó con CH_2Cl_3 (3 x 75 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron ($MgSO_4$). La concentración seguida de la cromatografía instantánea (9:1/CH_2Cl_2:EtOAc) produjo 708 mg (8%) del producto en la forma de un sólido color blanco, p.f. 101-103°C. ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.10 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 6.01 (dd, J = 5.6, 3.2 Hz, 1H), 5.92 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 5.42 (s, 2), 4.97 (dd, J = 11.6, 3.6 Hz, 1H), 4.32 (m, 1), 4.21 (dd, J = 12.0,5.2 Hz, 1H), 2.12 (s, 6H), 2.06 (s, 3H).

Paso 2: Preparación de 5-amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (78).

Se cargó un frasco de fondo redondo secado con flama con 80 (4.37 g, 9.48 mmol) y ácido acético glacial (61 ml). El frasco se selló con un septo y se enjuagó con nitrógeno. Se agregó un acoplamiento de zinc-cobre (6.07 g, Aldrich) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante un período de 21 horas. Posteriormente la reacción se calentó a una temperatura de 80°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de una almohadilla de Celite®, se lavó con EtOAc (200 ml) y concentró bajo vacío. El sólido blanco resultante (residuo) se dividió con CH_2Cl_2 (250 ml) y se lavó con 0.5M NaOH (500 ml). La capa acuosa se

extractó con CH_2Cl_2 (2 x 150 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron ($MgSO_4$), se filtraron y se concentraron. La purificación mediante cromatografía instantánea (SiO_2, 5% acetona-CH_2Cl_2), produjo 78 (3.64 g, 90%) en la forma de un polvo blanco idéntico en todos los aspectos al material aislado en el ejemplo 38, paso 2.

Paso 3: Preparación de 5-amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (79).

La preparación del compuesto del título se describe en el ejemplo 38, paso 3.

Ejemplo 40: 5-amino-3-β-D-ribofuranosil-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (79).

Ruta sintética alternativa B

Paso 1: Preparación de 5-acetilamino-7-cloro-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (81).

Se agregó en forma de gotas oxicloruro fosforoso (6.42 ml, 70.2 mmol) a una solución de 16 (3.40 g, 7.02 mmol), trietilamina (1.96 ml, 14.04 mmol) y cloroformo (14 ml) durante 30 minutos a temperatura ambiente bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó posteriormente a una temperatura de 70°C durante 30 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se agregó en forma de gotas durante 2 horas a una solución de $NaHCO_3$ (500 ml) a una temperatura de 0°C, y se agitó durante 1 hora adicional. Las capas se separaron, la capa acuosa se extractó nuevamente con cloruro de metileno (2 x 100 ml), las capas orgánicas combinadas se secaron ($MgSO_4$), se filtraron y concentraron hasta obtener un sólido color

amarillo. Se logró la purificación mediante cromatografía instantánea (SiO_2, 5% acetona-$CHCl_3$) para producir 81 (3.17 g, 90%) en la forma de un sólido color blanco: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.08 (s, 1H), 6.09 (d, J = 4.0 Hz, 1 H), 5 .99 (dd, J = 6.0, 4.0 Hz, 1 H), 5 .76 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 4.41 (dd, J = 11.2, 3.2 Hz, 1H), 4.32 (td, J = 7.2, 3.2 Hz, 1H), 4.24 (dd, J = 11.6, 6.8 Hz, 1H), 2.18 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.03 (s, 3H); $[M+H]^+$ 503.3.

Paso 2: Preparación de 5-acetilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (82).

Se agregó paladio sobre carbono al 10% (862 mg) a una solución de 81 (2.07 mg, 4.12 mmol), acetato de sodio (675 mg, 8.23 mmol) y etanol absoluto (100 ml) bajo nitrógeno. La mezcla se agitó bajo 250-300 psi H_2 (g) en una bomba durante un período de 48 horas. La mezcla se filtró a través de Celite®, se lavó con acetato de etilo (200 ml), y se concentró hasta obtener un sólido color amarillo. La mezcla se diluyó con H_2O (200 ml) y se extractó con CH_2Cl_2 (3 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron ($MgSO_4$), filtraron y concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea (SiO_2, 10% acetona-$CHCl_3$) para producir 82 (1.74 g, 90%) en la forma de un polvo color blanco: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 10.78 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 6.10 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 6.04 (dd, J = 6.0, 4.0 Hz, 1H), 5.77 (t, J = 6.0 Hz, 1 H), 4.41 (dd, J =11.6, 3.2 Hz, 1H), 4.30 (m, 1H), 4.23 (dd, J = 12.0, 6.8 Hz, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.03 (s, 3H); $[M+H]^+$ 469.4.

Paso 3: Preparación de 5-amino-3-β-D-ribofuranosil-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (79).

En una forma similar al ejemplo 13, paso 3, se preparó el compuesto del título a partir de 82.

Ejemplo 41: 5-amino-3-β-D-ribofuranosil-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (79).

Ruta sintética alternativa C

Paso 1: Preparación de N'-(7-cloro-2-oxo-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-2,3-dihidro-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-5-il)-N,N-dimetil-formamidina (83a).

Se agregó cloruro de tionilo (2.58 ml, 35.4 mmol) en forma de gotas durante 1 hora a una mezcla de 16 (500 mg, 1.03 mmol) y DMF (1.29 ml, 16.7 mmol) en $CHCl_3$ (28 ml) a temperatura ambiente bajo N_2. La mezcla de reacción se calentó a una temperatura de 60°C durante un periodo de 23 horas. La mezcla se vertió cuidadosamente en una solución de $NaHCO_3$ saturada enfriada con hielo y se agitó durante 30 minutos. Las capas se separaron, la capa acuosa se extractó con CH_2Cl_2 (2 x 80 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y concentraron para producir 83a (519 mg, cuant.) en la forma de una espuma color blanca: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.65 (s, 1H), 6.14 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.97 (dd, J = 6.4, 3 .6 Hz, 1H); 5.62 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 4.43 (dd, J = 12.0, 3.6 Hz, 1H), 4.32 (m, 1H), 4.16 (dd, J = 12.0, 5.2 Hz, 1H), 3.23 (s, 3H), 3.11 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.02 (s, 3H); $[M+H]^+$ 516.1.

Paso 1a: Preparación de N'-(7-bromo-2-oxo-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-2,3-dihidro-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-5-il)-N,N-dimetil-formamidina (83b).

Se agregó bromuro de tionilo (11.2 ml, 145 mmol) en forma de gotas durante 1 hora a una mezcla de **16** (2.34 g, 4.83 mmol), DMF (5.61 ml, 72.5 mmol), $CHCl_3$ (50 ml), y tolueno (55 ml) a temperatura ambiente bajo N_2. La mezcla de reacción se calentó a una temperatura de 110°C durante un período de 20 horas. La mezcla se vertió cuidadosamente en una solución saturada de $NaHCO_3$ enfriada con hielo y se agitó durante 1 hora. Las capas se separaron, la capa acuosa se extractó con CH_2Cl_2 (2 x 80 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y concentraron hasta obtener un residuo color amarillo. El producto se purificó mediante cromatografía instantánea (SiO_2, 20% acetona-$CHCl_3$) para producir **83b** (1.53 g, 57%) en la forma de una espuma color blanca: ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.64 (s, 1H), 6.12 (d, J = 3 .2 Hz, 1H), 5.96 (dd, J = 6.4, 3.2 Hz, 1H), 5.61 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 4.42 (dd, J = 8.8, 3.2 Hz, 1H), 4.31 (m, 1H), 4.16 (dd, J = 12.4, 5.6 Hz, 1H), 3.23 (s, 3H), 3.11 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.02 (s, 3H); $[M+H]^+$ 560.2.

Paso 2: Preparación de 5-amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (78).

Se cargó un frasco de fondo redondo secado con flama con **83a** (1.08 g, 2.11 mmol) y ácido acético glacial (21 ml). El frasco se selló con un septo y se enjuagó con nitrógeno. Se agregó polvo de zinc

(1.38 g, 21.1 mmol) y la reacción se calentó a una temperatura de 80°C durante 48 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de una almohadilla de Celite®, se lavó con EtOAc (100 ml) y concentró bajo vacío. El sólido blanco resultante (residuo) se diluyó con CH_2Cl_2 (100 ml) y lavó con $NaHCO_3$ acuoso saturado (500 ml). La capa acuosa se extractó con CH_2Cl_2 (2 x 50 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron ($MgSO_4$), filtraron y concentraron. La purificación mediante cromatografía instantánea (SiO_2, 5% acetona-CH_2Cl_2) produjo 78 (464 mg, 52%) en la forma de un polvo color blanco idéntico en todos los aspectos al material aislado en el ejemplo 38, paso 2.

Paso 3: Preparación de 5-amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (79).

La preparación del compuesto del título se describe en el ejemplo 38, paso 3.

Ejemplo 42: 5-amino-3-β-D-ribofuranosil-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (79).

Ruta sintética alternativa D

Paso 1: Preparación de 4-cloro-2-oxo-2,3-dihidro-tiazol-5-carbaldehído (85).

El compuesto 85, originalmente sintetizado por Baranov y Asociados, *Chem. Het. Compounds* (Engl. Trsl.), 1975, 11, p. 73, se preparó utilizando una modificación del procedimiento reportado. Se suspendió 2,4-tiazolidinadiona 84 (25.0 g, 213 mmol) comercialmente disponible, en $POCl_3$ (59 ml, 641 mmol), se enfrió a una temperatura

de 0°C con un baño con hielo hasta enfriarse. Se agregó en forma de gotas a la reacción DMF (24.8 ml, 320 mmol) durante 15 minutos. La reacción se calentó a una temperatura de 90°C durante 2 horas, posteriormente a una temperatura de 115°C durante 20 minutos. Después de 20 minutos, la reacción se enfrió a una temperatura de 90°C y se mantuvo durante 1 hora adicional. Después de 1 hora la mezcla se calentó a una temperatura de 115°C durante 15 minutos. La mezcla de reacción caliente se vertió en 1l de agua con agitación vigorosa. Después de 10 minutos, la mezcla se filtró. La fase acuosa se extractó cinco veces con éter etílico (600 ml) y la fase orgánica se separó y concentró bajo vacío. El residuo sólido se disolvió en un volumen mínimo de $NaHCO_3$ saturado acuoso. La mezcla se acidificó cuidadosamente con 6M HCl a un pH = 2, mediante lo cual se formó un precipitado después de aproximadamente 30 minutos. La filtración produjo 20.9 gm del compuesto **85** en una producción al 62%: R_f= 0.3 (2% H_2O, 8% metanol, 90% acetato de etilo); ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.79 (s, 1H), 8.95 (s, 1H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 164.

Paso 2: Preparación 5-amino-3H-tiazol-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (**86**).

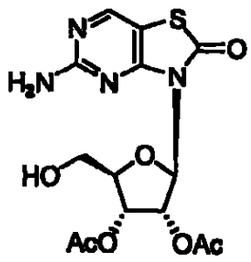
El compuesto **85** (1.22 g, 7.47 mmol), clorhidrato de guanidina (2.13 g, 22.4 mmol), K_2CO_3 (1.03 g, 7.47 mmol), y $NaHCO_3$ (1.88 g, 22.3 mmol) se suspendió en DMF y calentó durante 2 días a una temperatura de 110°C. Al momento del consumo del material de partida tal como se determinó mediante TLC, el solvente se eliminó bajo vacío. El residuo sólido se trituró con agua. Se obtuvo una muestra analíticamente pura de **86** mediante HPLC (ODS-A C18, 3-

97% CH_3CN/H_2O gradiente; 1.0 ml/min). Sólido color marrón: HPLC R_t = 1.63 min; R_f= 0.45 (2% H_2O, 8% metanol, 90% acetato de etilo); ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.11 (s, 1H), 6.67 (s, 2H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 169; Análisis elemental para $C_5H_4N_4OS \cdot 0.1CH_3CN \cdot 0.1\ H_2O$: calculado: C, 35.88; H, 2.61; N, 32.99; S, 18.42. Encontrado: C, 35.96; H, 2.75; N, 32.56; S, 18.42.

Paso 3: Preparación de 5-amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (79).

Se mezclaron y colocaron en un frasco de 500 ml el compuesto 86 (62 mg, 0.4 mmol), tetraacetato de 1,2,3,5-tetra-O-acetil-β-D-ribofuranosa (128 mg, 0.4 mmol), y fosfato de bis-(p-nitrofenil)-hidrógeno catalítico (13 mg, 0.04 mmol). El envase de reacción se colocó cuidadosamente bajo vacío (~5.0 mmHg) y se descendió en un baño de aceite calentado a una temperatura de 150°C durante 10 minutos. Después de enfriar a temperatura ambiente, los sólidos se lavaron con acetato de etilo. El producto crudo se purificó mediante cromatografía instantánea (silice, 5 a 35% de gradiente de acetato de etilo en cloroformo) para producir 68 mg del compuesto 79 (40%) en la forma de un sólido color blanco idéntico en todos los aspectos al material aislado en el ejemplo 38, paso 2.

Ejemplo 43: 5-amino-3-(2',3',5'-di-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (89).



Paso 1: Preparación de 5-amino-3-(5'-O-terbutil-dimetilsilanil-β-D-ribofuranosil)-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (87).

A una solución de 79 (0.68 g, 2.28 mmol) en DMF (10 ml), se le agregó imidazole (0.54 g, 7.93 mmol) y cloruro de terbutil-dimetilsililo (0.68 g, 4.56 mmol) en secuencias. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, punto en el cual se concentró y purificó mediante cromatografía de columna instantánea (sílice, MeOH/$CHCl_3$; gradiente = 5-20%) para producir 0.49 g (52%) 87 en la forma de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.33 (s, 1H), 6.87 (s, 2H), 5.90 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.33 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.00 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.79 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 4.16 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.77 (m, 2H), 3.64 (dd, J = 12.0, 7.2 Hz, 1H), 0.84 (s, 9H), 0.00 (s, 6H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 415.4.

Paso 2: Preparación de 5-amino-3-(2',3',5'-di-O-acetil-5',O-terbutil-dimetilsilanil-β-D-ribofuranosil)-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (88).

A una solución de 87 (0.20 g, 0.48 mmol) en acetonitrilo (5 ml) a una temperatura de 0°C, se agregó en forma sucesiva Et_3N (0.26 ml, 1.86 mmol) y Ac_2O (91 µl, 0.96 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas, mediante lo cual se

concentró y purificó mediante cromatografía de columna instantánea (sílice, acetona/$CHCl_3$: gradiente = 5-10%) para producir 0.22 g (92%) de **88** en la forma de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.36 (s, 1H), 6.90 (s, 2H), 6.00 (m, 2H), 5.57 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.07 (q, J = 5.2 Hz, 1H), 3.77 (m, 2H), 2.07 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 0.83 (s, 9H), 0.00 (d, J = 2.4 Hz, 6H) ; MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 499.5.

Paso 3: Preparación de 5-amino-3-(2',3'-di-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (**89**).

A una solución de **88** (0.22 g, 0.44 mmol) en THF (5 ml) en un frasco de plástico, se le agregó HF/piridina (0.70 ml). La reacción se agitó durante 2 horas, se concentró y purificó mediante cromatografía de columna instantánea (sílice, MeOH/$CHCl_3$: gradiente = 5-10%) para producir 0.17 g (100%) del compuesto del título en la forma de un sólido color blanco: p.f. 109-11°C; ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.37 (s, 1H), 6.91 (s, 2H), 6.00 (m, 2H), 5.48 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.91 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.04 (dd, J = 10.4, 6.0 Hz, 1H), 3 .64 (m, 1H), 3 .52 (m, 1H), 2.08 (s, 3H), 2.05 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 385.3. Análisis elemental calculado para $C_{14}H_{16}N_4O_7S \cdot 0.5\ CH_3OH \cdot 0.2\ CHCl_3$: C, 41.61; H, 4.32; N, 13.21; S 7.56: Encontrado: C, 41.73; H, 4.29; N, 12.86; S, 7.33.

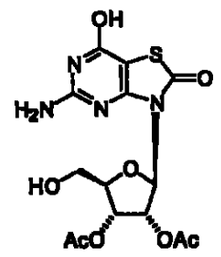
Ejemplo 44: 5-amino-3-(2',3'-di-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (89).

<u>Ruta sintética alternativa A</u>

Paso 1: Preparación de 5-amino-3-(2',3'-di-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-3H-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2-ona (**89**).

A una solución aclarada de 78 (500 mg) en acetona (5 ml), se le agregó regulador de fosfato de sodio (pH = 7.0, 0.1 m, 25 ml), mediante lo cual la solución se volvió nebulosa (precipitado blanco). Se agregó resina de lipasa *Candida antarctica* (250 mg) a la mezcla y la suspensión se agitó suavemente de manera subsecuente durante 10 horas a temperatura ambiente. Se filtró la mezcla clara resultante, y el solvente orgánico se elimino bajo vacío. Posteriormente se extractó la solución acuosa con acetato de etilo (3 x 25 ml) las capas orgánicas se combinaron, secaron sobre $MgSO_4$, y se concentraron. El sólido resultante puede ser purificado en forma adicional en una forma similar a la que se describe en el ejemplo 43; paso 3.

Ejemplo 45: 5-amino-3-(2',3'-di-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (92).



Paso 1: Preparación 5-amino-3-(5'-O-ter-butil-dimetilsilanil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (90).

A una mezcla de 1 (12.0 g, 37.9 mmol) e imidazole (7.75 g, 114 mmol) en DMF, se le agregó cloruro de ter-butil-dimetilsililo 1 (5.72 g, 37.9 mmol) en la forma de una solución en DMF (25 ml). El análisis TLC (20% MeOH-$CHCl_3$) indicó que la reacción procedió

hasta un término de ~60%. Se agregó en porciones cloruro de terbutil-dimetilsililo adicional (5.72 g, 37.9 mmol) hasta que la reacción se completó, mediante lo cual se extinguió con MeOH (10 ml), y posteriormente se concentró hasta obtener un residuo color café. El residuo se disolvió en EtOAc (800 ml), y posteriormente se lavó con agua (3 x 200 ml). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4-carbón anhidro, y posteriormente se filtró a través de una almohadilla corta de SiO_2 para producir una solución que se concentró hasta obtener un sólido color marrón. La titulación del producto crudo con Et_2O proporcionó **90** 12.41 g (76%) en la forma de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.16 (s, 1H), 6.92 (br s, 2H), 5.77 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 5 .27 (d, J = 5 .5 Hz, 1H), 4.95 (d, J = 5 .9 Hz, 1H), 4.73 (dd, J = 9.9, 5.1 Hz, 1H), 4.11 (dd, J = 10.6, 5.1 Hz, 1H), 3.70-3.76 (m, 2H), 3.59-3.64 (m, 1H), 0.84 (s, 9H), 0.0 (s, 6H).

Paso 2: Preparación de 5-amino-3-(2',3'-di-O-acetil-5'-O-terbutil-dimetilsilanil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (**91**).

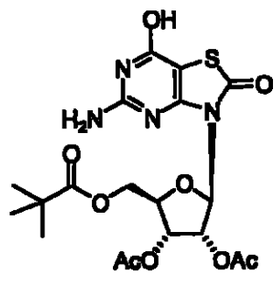
A una solución homogénea de diol **90** (2.44 g, 5.67 mmol) y Et_3N (2.37 ml, 17.0 mmol) en MeCN (40 ml) se le agregó en secuencias Ac_2O (1.06 ml, 11.3 mmol) y DMAP (69 mg, 0.57 mmol). La mezcla de reacción se agito 3 horas, posteriormente se concentró y cromatografió (SiO_2, elución de gradiente, 40-60% EtOAc-$CHCl_3$), produciendo 1.2 g (41%) de **91** en la forma de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.25 (s, 1H), 7.96-8.00 (m, 1H), 7.54-7.57 (m, 2H), 7.24-7.28 (m, 2H), 6.96 (br s, 2H), 6.12 (s, 1H), 5.96 (s, 1H),

5.39-5.41 (m, 1H), 5.01-5.04 (m, 1H), 4.12-4.17 (m, 1H), 3.48- 3.59 (m, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 515.

Paso 3: Preparación de 5-amino-3-(2',3'-di-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (92).

A una solución homogénea de 91 (1.2 g, 2.3mmol) en THF (20 ml) se le agregó fluoruro de tetrabutilamonio 1.0 M en THF (4.7 ml, 4.7 mmol). La mezcla de reacción se agitó 16 horas, posteriormente se concentró y cromatografió para producir 800 mg (86%) de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.25 (s, 1H), 6.97 (br s, 2H), 5.95 (dd, J = 5.9, 4.4 Hz, 1H), 5.89 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.41 (t, J = 6.2 Hz, 1H), 4.90 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 4.00 (q, J = 5.9 Hz, 1H), 3.48-3.64 (m, 2H), 2.06 (s, 3H), 2.04 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 401.

Ejemplo 46: 5-amino-3-(2',3'-di-O-acetil-5'-O-pivalil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (93).

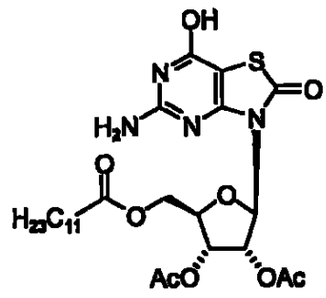


Paso 1: Preparación de 5-amino-3-(2',3'-di-O-acetil-5'-O-pivalil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (93).

En una forma similar al ejemplo 30, paso 1, se preparó el compuesto 93 a partir de 92 y anhídrido piválico en una producción al 21% en la forma de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-

DMSO) δ 11.27 (s, 1H), 6.98 (br s, 2H), 5.88-5.91 (m, 2H), 5.55 (dd, J = 7.0, 5.9 Hz, 1H), 4.29 (dd, J = 12.1, 4.0 Hz, 1H), 4.18-4.27 (m, 1H), 4.11 (dd, J = 12.1,5.1 Hz, 1H), 2.06 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.13 (s, 9H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 485. Análisis elemental calculado para $C_{19}H_{24}N_4O_9S \cdot 0.75\ H_2O$: C, 45.82; H, 5.16; N, 11.25; S, 6.44. Encontrado: C, 45.93; H, 5.20; N, 11.29; S, 6.44.

Ejemplo 47: 5-amino-3-(2',3'-di-O-acetil-5'-O-lauril-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (94).

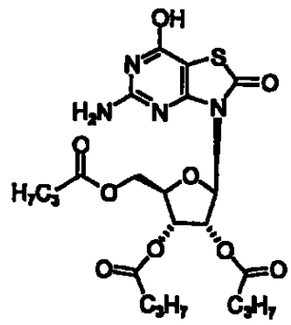


Paso 1: Preparación de 5-amino-3-(2',3'-di-O-acetil-5'-O-lauril-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (94).

En una forma similar al ejemplo 30, paso 1, se preparó el compuesto **94** a partir de **92** y anhidrido láurico en una producción al 59% en la forma de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.26 (s, 1H), 6.97 (br s, 2H), 5.87-5.91 (m, 2H), 5.51 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 4.36 (dd, J = 12.1, 3.5 Hz, 1H), 4.18-4.22 (m, 1H), 4.08 (dd, J = 12.1, 5.9 Hz, 1H), 2.27 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 2.06 (s, 6H), 1.46-1.50 (m, 1H), 1.17-1.28 (m, 16H), 0.85 (t, J = 6.0 Hz, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 583. Análisis elemental calculado para $C_{26}H_{38}N_4O_9S$: C, 52.55; H, 6.49; N, 9.25; S, 5.29. Encontrado: C, 52.58; H, 6.57; N, 9.49; S,

5.38.

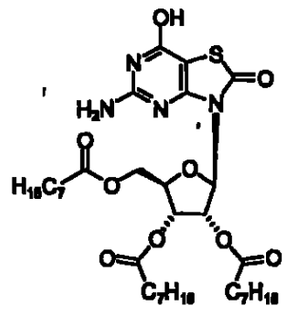
Ejemplo 48: 5-amino-3-(2',3',5'-tri-O-butiril-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (95).



Paso 1: Preparación de 5-amino-3-(2',3',5'-tri-O-butiril-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (95).

En una forma similar al ejemplo 30, paso 1, se preparó el compuesto **95** a partir de **1** y anhídrido butírico. La purificación mediante cromatografía de columna (SiO_2, 40% EtOAc-$CHCl_3$) y trituración con Et_2O-hexanos, produjo un sólido color blanco en una producción al 17%: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.27 (s, 1H), 6.97 (br s, 2H), 5.87-5.91 (m, 2H), 5.54 (dd, J = 12.8, 6.2 Hz, 1H), 4.37 (dd, J = 12.1, 3.7 Hz, 1H), 4.18-4.22 (m, 1H), 4.10 (dd, J = 12.1, 5.9 Hz, 1H), 2.25-2.38 (m, 6H), 1.47-1.59 (m, 6H), 0.84-0.91 (m, 9H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 527. Análisis elemental calculado para $C_{22}H_{30}N_4O_8S$: C, 50.18; H, 5.74; N, 10.64; S, 6.09. Encontrado: C, 50.18; H, 5.64; N, 10.56; S, 6.02.

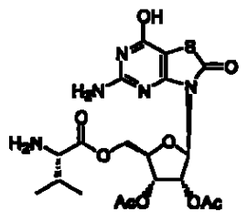
Ejemplo 49: 5-amino-3-(2',3',5'-tri-O-capril-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (96).



Paso 1: Preparación de 5-amino-3-(2',3',5'-tri-O-capril-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (96).

En una forma similar al ejemplo 30, paso 1, se preparó el compuesto 96 a partir de 1, y anhidrido caprílico en una producción al 30% en la forma de un sólido color blanco: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.28 (s, 1H), 6.96 (br s, 2H), 5.87-5.92 (m, 2H), 5.35 (dd, J = 12.8, 6.2 Hz, 1H), 4.35 (dd, J = 11.7, 3.3 Hz, 1H), 4.17-4.21 (m, 1H), 4.09 (dd, J = 11.7, 5.9 Hz, 1H), 2.24-2.39 (m, 6H), 1.48-1.53 (m, 6H), 1.22-1.25 (m, 2H), 0.82-0.87 (m, 9H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 695. Análisis elemental calculado para $C_{34}H_{54}N_4O_8S$: C, 58.77; H, 7.83; N, 8.06; S, 4.61. Encontrado: C, 58.65; N, 7.92; N, 7.98; S, 4.55.

Ejemplo 50: Clorhidrato de 5-amino-3-(2',3'-di-O-acetil-5'-O-L-valinil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (98).



Paso 1: Preparación de 5-amino-3-[2',3'-di-O-acetil-5'-O-(N-terbutoxicarbonil-L-valinil])-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (97).

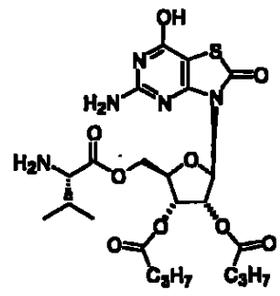
A una suspensión de 3 (2.00 g, 4.09 mmol) en MeCN (10 ml) a una temperatura ambiente, se le agregó Et_3N (1.14 ml, 8.19 mmol). La mezcla resultante se agitó 30 minutos, se trató con di-ter-butildicarbonato (894 mg, 4.09 mmol), y posteriormente se agitó durante 16 horas. A esta mezcla se le agregaron en secuencias Et_3N (1.40 ml, 10.0 mmol) y Ac_2O (950 µl, 10.0 mmol). Después de 3 horas, la mezcla se concentró, dividió entre EtOAc (200 ml) y agua (100 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se concentró y posteriormente se cromatografió (SiO_2, 80% EtOAc-$CHCl_3$), proporcionando una espuma color blanco. La espuma se trituró en $CHCl_3$-Et_2O-hexanos para producir 1.38 g de diacetato 97 en la forma de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.29 (s, 1H), 7.05 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.99 (br s, 2H), 5.91 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 5.50 (s, 1H), 4.34 (dd, J =11.0, 2.2 Hz, 1H), 4.13-4.23 (m, 2H), 3.84 (dd, J = 8.1, 6.6 Hz, 1H), 2.06 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.97-2.03 (m, 1H), 1.35 (s, 9H), 0.82 (d, J = 6.6 Hz, 6H); MS (-)-ES $[M-H]^+$ m/z 598.

Paso 2: Preparación de clorhidrato de 5-amino-3-(2',3'-di-O-acetil-5'-O-valinil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (98).

A una mezcla de 4M HCl en dioxano (50 ml) y i-PrOAc, se le agregó 97 sólido (1.35 g, 2.25 mmol). La solución resultante formó una mezcla heterogénea en algunos minutos. Después de 1 hora, la suspensión se filtró, se lavó con Et_2O, y posteriormente se secó bajo

alto vacío para producir 0.66 g (55%) de un sólido color blanco: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.46 (s, 1H), 8.40 (s, 3H), 7.19 (br s, 2H), 4.46 (dd, J = 12.5, 3.7 Hz, 1H), 4.28-4.44 (m, 2H), 3.85 (s, 1H), 3.68 (br s, 1H), 2.13-2.24 (m, 1H), 2.08 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 0.95 (d, J = 7.3 Hz, 3H), 0.91 (d, J = 6.6 Hz, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 498. Análisis elemental calculado para $C_{19}H_{25}N_5O_9S \cdot 1.0\ HCl \cdot 1.0\ H_2O$: C, 41.19; H, 5.09; Cl, 6.40; N, 12.64; S, 5.79. Encontrado: C, 41.52; H, 5.01; Cl, 6.64; N, 12.85; S, 5.85.

Ejemplo 51: Clorhidrato de 5-amino-3-(2',3'-di-O-butiril-5'- -L-valinil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (100).



Paso 1: Preparación de 5-amino-3-(2',3'-di-O-butiril-5'-N-terbutoxicarbonil-L-valinil)-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (99).

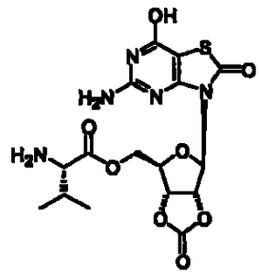
En una forma similar al ejemplo 49, paso 1, se preparó **99** a partir de **3** y anhídrido butírico en la forma de un sólido ceroso color blanco en una producción al 62%: ^{1}H (400 MHz, d_6- DMSO) δ 11.27 (s, 1H), 7.05 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.97 (br s, 2H), 5.92 (dd, J = 6.6, 3.7 Hz, 1H), 5.88 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 4.3 5 (dd, J = 11.7, 2.9 Hz, 1H), 4.13-4.23 (m, 2H), 3.84 (dd, J = 8.1, 6.6 Hz, 1H), 2.24-2.39 (m, 4H),

1.98-2.03 (m, 1H), 1.46-1.59 (m, 4H), 1.35 (s, 9H), 0.85-0.91 (m, 12H) ; MS (-)-ES $[M-H]^+$ m/z 654.

Paso 2: Preparación de clorhidrato 5-amino-3-(2',3'-di-O-butiril-5'-O-L-valinil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (100).

En una forma similar al paso 2 del ejemplo 49, se preparó el compuesto del título en una producción al 60% en la forma de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.48 (s, 1H), 8.42 (s, 3H), 7.19 (br s, 2H), 6.00 (dd, J = 6.6, 4.4 Hz, 1H), 5.92 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 5.57 (dd, J = 12.5, 5.9 Hz, 1H), 4.47 (dd, J = 12.5, 2.9 Hz, 1H), 4.35-4.40 (m, 1H), 4.27-4.31 (m, 1H), 3.83-3.85 (m, 1H), 2.28-2.40 (m, 4H), 2.14-2.25 (m, 1H), 1.46-1.60 (m, 4H), 0.83-0.96 (m, 12H); MS (-)-ES $[M-H]^+$ m/z 554. Análisis elemental calculado para $C_{23}H_{33}N_5O_8S \cdot 1.1\ HCl \cdot 0.5\ H_2O$: C, 45.68; H, 5.85; Cl, 6.45; N, 11.58; S, 5.30. Encontrado: C, 45.34; H, 5.70; Cl, 6.59; N, 11.62; S, 5.42.

Ejemplo 52: clorhidrato de 5-amino-3-(2',3'-O-carbonil-5'- -L-valinil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (102).



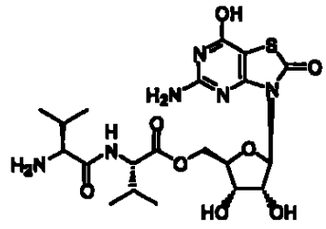
Paso 1: Preparación de 5-amino-3-[2',3'-O-carbonil-5'-O-(N-terbutoxicarbonil-L-valinil)-β-D-ribofuranosil)]-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (101).

En una forma similar al ejemplo 49, paso 1, se preparó **101** a partir de **3** y trifosgeno en la forma de un sólido color blanco en una producción al 54%: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.34 (s, 1H), 7.09 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.06 (br s, 2H), 6.12 (s, 1H), 5.83 (d, J = 8.1, 1H), 5.67-5.72 (m, 1H), 4.46-4.51 (m, 1H), 4.23-4.32 (m, 2H), 3.82 (dd, J = 13.9, 5.9 Hz, 1H), 1.94-1.99 (m, 1H), 1.34 (s, 9H), 0.81 (d, J = 6.6 Hz, 6H); MS (-)-ES $[M-H]^+$ m/z 540.

Paso 2: Preparación de clorhidrato de 5-amino-3-(2',3'-O-carbonil-5'-O-L-valinil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (**102**):

En una forma similar al ejemplo 49, paso 2, se preparó **102** en una producción al 65% en la forma de un sólido color blanco: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.51 (s, 1H), 8.36 (s, 3H), 7.25 (br s, 2H), 6.13 (s, 1H), 5.88 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 5.76-5.82 (m, 2H), 4.39 (dd, J = 10.3, 2.9 Hz, 1H), 3.86 (s, 1H), 3.41-3.54 (m, 1H), 2.01-2.32 (m, 1H), 0.91 (d, J = 7.3 Hz, 3H), 0.85 (d, J = 6.6 Hz, 3H); MS (-)-ES $[M-H]^+$ m/z 440. Análisis elemental calculado para $C_{16}H_{18}N_5O_6S \cdot 1.1\ HCl \cdot 0.5\ H20 \cdot 0.75\ Et_2O$: C, 40.21; H, 4.22; Cl, 7.42; N, 14.66; S, 6.71. Encontrado: C, 41.48; H, 5.08; Cl, 7.16; N, 12.75; S, 5.79.

Ejemplo 53: clorhidrato de 5-amino-3-(5'-O-L-valinil-L-valinil)-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (104).



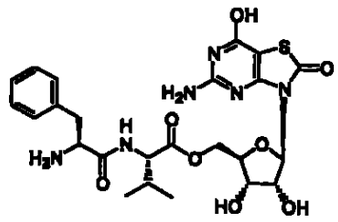
Paso 1: Preparación de 5-amino-3-[2',3'-O-isopropiliden-5'-O-(N-terbutoxicarbonil-L-valinil-L-valinil)-β-D-ribofuranosil]-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (103).

A una mezcla heterogénea de Boc-Val-Val-OH (3.00 g, 9.48 mmol) y EDC (1.82 g, 9.48 mmol) en DCE (22.5 ml) a temperatura ambiente, se le agregó piridina (7.5 ml). Al volverse homogénea, la mezcla se agitó 1 hora a temperatura ambiente, y posteriormente se enfrió a una temperatura de 0°C. A esta solución se le agregó en secuencias 2 (3.07 g, 8.62 mmol) y DMAP (1.16 g, 9.48 mmol). La mezcla de reacción se agitó 30 minutos a una temperatura de 0°C y posteriormente 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla se evaporó hasta secarse, y posteriormente se dividió entre EtOAc (200 ml) y agua (100 ml). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se concentró, cromatografió (SiO_2, elución de gradiente 60% EtOAc-$CHCl_3$ al 100% EtOAc), y concentró hasta obtener un sólido pegajoso. La trituración del sólido en Et_2O-$CHCl_3$, proporcionó 2.048 g (36%) de 103 en la forma de un sólido cristalino: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.63 (s, 1H), 11.37 (s, 1H), 11.25 (s, 1H), 7.92 (dd, J = 13.2, 8.1 Hz, 1H), 6.98 (br s, 2H), 6.61 (dd, J = 11.7, 8.8 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 5.23-5.27 (m, 1H), 5.05 (br s, 1H), 4.10-4.35 (m, 3H), 3.76-3.90 (m, 2H), 3.57-3.60 (m, 1H), 1.80-2.06 (m, 2H), 1.47 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.29 (s, 3H), 0.77-0.86 (m, 12 H); $[M-H]^+$ m/z 653.

Paso 2: Preparación de clorhidrato de 5-amino-3-(5'-O-[L-valinil-L-valinil]-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (104).

A una mezcla de 4M HCl en dioxano (50 ml) y i-PrOAc, se le agregó 103 sólido (1.48 g, 2.26 mmol). La solución resultante formó una mezcla heterogénea en varios minutos. Después de 1 hora, la suspensión se filtró, lavó con Et_2O, y posteriormente se secó bajo vacío para producir 948 g (74%) de 104 en la forma de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.29 (s, 1H), 8.52 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 8.06 (br s, 3H), 7.03 (br s, 2H), 5.79 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.42 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 5.13 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 4.71 (dd, J = 9.9, 5.5 Hz, 1H), 4.35 5 (dd, J = 11.7, 3.3 Hz, 1H), 4.18-4.22 (m, 2H), 4.06 (dd, J = 11.7, 8.0 Hz, 1H), 3.88-3.92 (m, 1H), 3.69 (s, 1H), 2.02-2.13 (m, 2H), 0.87-0.92 (m, 12H); MS (-)-ES $[M-H]^+$ m/z 513.

Ejemplo 54: clorhidrato de 5-amino-3-(5'-O-(L-fenilalinil-L-valinil)-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (106).



Paso 1: Preparación de 5-amino-3-[2',3'-O-isopropiliden-5'-O-(N-terbutoxicarbonil-L-fenilalinil-L-valinil)-β-D-ribofuranosil]-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (105).

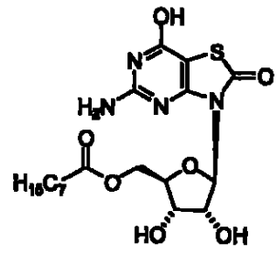
En una forma similar al paso 1 del ejemplo 52, se preparó el compuesto del título en una producción al 64% en la forma de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.24 (s, 1H), 8.00-8.08 (m, 1H), 7.22-7.23 (m, 4H), 7.13-7.16 (m, 1H), 6.98 (br s, 2H),

6.83- 6.87 (m, 1H), 6.02 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 5.25-5.28 (m, 1H), 5.06 (s, 1H), 4.12-4.34 (m, 4H), 2.88-2.94 (m, 1H), 2.66-2.75 (m, 1H), 1.97-2.04 (m, 1H), 1.46 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 1.17-1.28 (m, 14H), 0.77-0.85 (m, 6H); MS (-)-ES $[M-H]^+$ m/z 701.

Paso 2: Preparación de clorhidrato de 5-amino-3-(5'-O-[L-fenilalinil-L-valinil]-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (106).

En una forma similar al paso 2 del paso 52, se preparó el compuesto del título en una producción al 74% en la forma de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.32 (s, 1H), 8.72 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.16 (br s, 3H), 7.19-7.28 (m, 5H), 7.09 (br s, 2H), 5.79 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.20 (br s, 3H), 4.70 (dd, J = 5.5, 4.4 Hz, 1H), 4.36 (dd, J = 11.7, 3.3 Hz, 1H), 4.03-4.24 (m, 3H), 3.90-3.94 (m, 1H), 3.09 (dd, J = 14.0, 5.9 Hz, 1H), 2.92 (dd, J = 14.0, 7.7 Hz, 1H), 2.01-2.10 (m, 1H), 0.89 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.88 (d, J = 6.6 Hz, 3H); MS (-)-ES M^+ m/z 562.

Ejemplo 55: clorhidrato de 5-amino-3-(5'-O-capril-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (109).



Paso 1: Preparación de 5-amino-3-[2',3'-O-(4-fluorobenciliden)-β-D-ribofuranosil]-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (107).

A una solución homogénea de 90 (750 mg, 1.74 mmol) y 4-

fluorobenzaldehído (1.86 ml, 17.4 mmol) en THF, se le agregó H_2SO_4 (1 gota). La mezcla resultante se agitó durante 16 horas, tiempo en el cual se formó un precipitado. La filtración produjo 360 mg (49%) de acetal de bencilideno **107** en la forma de un sólido color amarillo: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.24 (s, 1H), 7.96-8.00 (m, 1H), 7.54-7.57 (m, 2H), 7.24-7.28 (m, 2H), 6.96 (br s, 2H), 6.12 (s, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.39-5.41 (m, 1H), 5.01-5.04 (m, 1H), 4.12-4.17 (m, 1H), 3.48-3.59 (m, 3H) ; MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 423.

Paso 2: Preparación de 5-amino-3-[2',3'-O-(4-fluorobenciliden)-5'-capriloxi-β-D-ribofuranosil]-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (**108**).

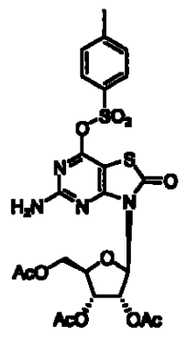
A una mezcla heterogénea de **107** (360 mg, 0.605 mmol), Et_3N (278 µl, 2.00 mmol), y DMAP (5 mg, 0.04 mmol) en MeCN (5 ml), se le agregó anhídrido caprílico (180 µl, 0.605 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas, tiempo en el cual se concentró y cromatografió (SiO_2, elución de gradiente 40-60% EtOAc-$CHCl_3$), produciendo 407 mg (87%) de **108** en la forma de un sólido color blanco: ^1H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.28 (s, 1H), 7.56 (dd, J = 8.4, 6.2 Hz, 2H), 7.25 (dd, J = 9.2, 8.8 Hz, 2H), 7.00 (br s, 2H), 6.14 (s, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.39 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 5.15-5.18 (m, 1H), 4.27-4.35 (m, 2H), 4.14 (dd, J = 11.4,7.7 Hz, 1H), 2.26 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 1.45-1.47 (m, 2H), 1.20-1.23 (m, 8H), 0.82 (t, J = 5.9 Hz, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 549.

Paso 4: Preparación de 5-amino-3-(5'-O-capril-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-2,7-diona (**109**).

Se calentó una mezcla de **108** (200 mg, 0.365 mmol) y PPTS (5

mg, 0.02 mmol) en MeOH (40 ml) a una temperatura de 45°C durante 20 minutos, se concentró y presentó para purificación HPLC produciendo 69 mg (43%) del compuesto del título en la forma de un sólido color blanco: ^{1}H (400 MHz, d_6-DMSO) δ 11.18 (s, 1H), 6.93 (br s, 2H), 5.77 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.35 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 5.08 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.67 (dd, J = 9.9, 5.3 Hz, 1H), 4.30 (dd, J = 11.9, 3.7 Hz, 1H), 4.21 (dd, J = 12.1, 6.4 Hz, 1H), 3.98 (dd, J = 11.9, 6.8 Hz, 1H), 3.84-3.88 (m, 1H), 2.27 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 1.47-1.50 (m, 2H), 1.19-1.25 (m, 8H), 0.84 (t, J = 6.8 Hz, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ m/z 443. Análisis elemental calculado para $C_{18}H_{26}N_4O_7S \cdot 1.0\ H_2O$: C, 46.71; H, 5.78; N, 11.47; S, 6.56. Encontrado: C, 46.62; H, 6.09; N, 12.01; S, 6.89.

Ejemplo 56: éster de ácido (5-amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-2,3-dihidro-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-il)-toluen-4-sulfónico (110).



Paso 1: 5-amino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo-[4,5-d]-pirimidin-7-(4-toluensulfoniloxi)-2-ona (110).

Se disolvió el compuesto 25 (250 mg, 0.56 mmol) en CH_2Cl_2 (10 ml) y se agregó DMAP (3.4 mg, 0.028 mmol) y TEA (0.24 ml, 1.70

mmol). A esta mezcla se le agregó cloruro p-toluenosulfonilo (21.5 mg, 113 mmol) en alícuotas de un quinto de un equivalente cada 40 minutos. El proceso de la reacción se monitoreó mediante TLC. Después de 3 horas la mayor parte del material de partida se consumió. La mezcla de reacción cruda se pasó a través de un tapón de sílice, se concentró y purificó mediante columna instantánea utilizando 25% de acetato de etilo en cloroformo. El producto se disolvió en éter etílico y al momento de la adición de hexanos, el compuesto 16 (190 mg, 0.32 mmol) se precipitó en la forma de un sólido color blanco: ^{1}H RMN (400MHz, d_6-DMSO) δ 8.00 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.47 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.35 (s, 2H), 5.97 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.86 (m, 1H), 5.52 (m,1H), 4.35 (in, 1H), 4.24 (m, 1H), 4.08 (m, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.97 (s, 3H); MS (+)-ES $[M+H]^+$ 597. R_f= 0.65 (75% acetato de etilo-$CHCl_3$). Análisis elemental para $C_{23}H_{24}N_4O_{11}S$: calculado: C, 46.30; H, 4.05; N, 9.39; S, 10.75. Encontrado: C, 46.54; H, 4.27; N, 9.19; S, 10.44.

PRUEBAS BIOLÓGICAS

La capacidad de los compuestos de la fórmula I para demostrar características de suministro oral favorables y para inducir respuestas inmune cuando se administran a través de una ruta seleccionada, se demostró fácilmente en experimentos en ratones y perros beagle. Los resultados de dichas medidas para los compuestos de la Fórmula I, se pueden comparar con los resultados de experimentos similares con compuestos descritos en la literatura referenciados en la presente descripción (por ejemplo, Patentes

Norteamericanas Nos. 5,041,426 y 4,880,784) para revelar las ventajas de los compuestos de la fórmula I con respecto a las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas.

Concentraciones de Interferón Alfa (Mu-IFN-α) en ratones

Los ratones normales proporcionan un sistema útil para la evaluación del grado en el cual las invenciones aquí descritas proporcionan mejoría de material en el suministro oral de 1 (isatoribina). No únicamente se pueden medir las concentraciones en plasma de isatoribina que surgen de la administración oral de dicho profármaco, sino también la investigación inmunológica extensa conducida en los ratones, ha proporcionado reactivos adecuados para medir los niveles de interferón alfa, una citosina de interés que refleja una de las actividad biológicas deseadas de isatoribina.

Hemos utilizado el sistema de múrido en una serie de experimentos que demuestran que 3, el éster de 5'-valina de 1 (val-isatoribina) provoca una respuesta de interferón substancialmente mejorada con respecto a la que resulta de la administración de la propia isatoribina.

La tabla 1 registra los resultados de un ensayo de interferón alfa de múrido en el plasma de ratones que fueron dosificados dos veces con isatoribina, formulada en bicarbonato, en un nivel de 50 mg/kg mediante ruta oral. Es evidente que no se fue medible el interferón, incluso cuando la dosis se repitió después de un intervalo de cuatro horas.

Tabla 1

Concentración en Plasma (pg/mL) de Interferon Alfa (Mu-IFN-α) en Ratones Después de dos Dosis Orales de 50mg/kg de Isatoribina con 4 horas de Diferencia

Tiempo, h	Valor Individual			Promedio	SD
Primer Dosis					
0.00	BQL^{50}	BQL^{125}	BQL^{50}	0.00	0.00
0.03	BQL^{25}	BQL^{250}	BQL^{25}	0.00	0.00
0.08	BQL^{25}	BQL^{25}	BQL^{25}	0.00	0.00
0.25	BQL^{50}	BQL^{25}	BQL^{25}	0.00	0.00
0.50	BQL^{25}	BQL^{25}	BQL^{25}	0.00	0.00
1.00	BQL^{25}	BQL^{25}	BQL^{25}	0.00	0.00
1.50	BQL^{100}	BQL^{25}	BQL^{25}	0.00	0.00
2.00	BQL^{25}	BQL^{75}	BQL^{25}	0.00	0.00
3.00	BQL^{25}	BQL^{25}	BQL^{25}	0.00	0.00
4.00	BQL^{25}	BQL^{25}	BQL^{25}	0.00	0.00
Segunda Dosis					
4.03	BQL^{25}	BQL^{25}	BQL^{25}	0.00	0.00
4.08	BQL^{25}	BQL^{25}	BQL^{25}	0.00	0.00.
4.25	BQL^{25}	BQL^{25}	BQL^{25}	0.00	0.00
4.50	BQL^{50}	$BQL^{37.5}$	BQL^{50}	0.00	0.00
5.00	BQL^{50}	BQL^{50}	BQL^{50}	0.00	0.00
5.50	$BQL^{37.5}$	$BQL^{37.5}$	$BQL^{37.5}$	0.00	0.00
6.00	BQL^{50}	$BQL^{41.3}$	$BQL^{37.5}$	0.00	0.00
7.00	BQL^{50}	BQL^{50}	BQL^{50}	0.00	0.00
8.00	BQL^{50}	BQL^{25}	BQL^{50}	0.00	0.00

BQL"- Debajo del Límite Cuantificable Elevado < n pg/mL.

La tabla 2 registra los resultados de los ensayos de interferón alfa de múrido en el plasma de ratones que fueron dosificados primero con bicarbonato y posteriormente a las cuatro horas fueron

dosificados oralmente con isatoribina, formulada en bicarbonato, en un nivel de 50 mg/kg. El interferón se reportó en el plasma de cuatro ratones, incluyendo dos que habían recibido la dosis de vehículo de bicarbonato. Todos los valores reportados en este experimento fueron bajos, y los niveles de interferón reportados no fueron reportados de manera consistente en los tres ratones evaluados en cada punto de tiempo, lo que sugiere que estas señales pueden ser artefactos que surgen de la medición cercana a los límites inferiores del ensayo.

Tabla 2

Concentración en Plasma (pg/mL) de Interferón Alfa (Mu-IFN-α) en Ratones Seguido de Una Dosis de Vehículo y Una Dosis de 50 mg/kg de Isatoribina 4 Horas Después

Tiempo, h	Valor Individual			Promedio	SD
Primera Dosis					
0.00	BQL[50]	BQL[100]	BQL[62.5]	0.00	0.00
0.03	BQL[50]	BQL[50]	BQL[37.5]	0.00	0.00
0.08	BQL[50]	BQL[50]	BQL[50]	0.00	0.00
0.25	BQL[50]	BQL[62.5]	BQL[50]	0.00	0.00
0.50	BQL[50]	BQL[50]	BQL[50]	0.00	0.00
1.00	BQL[50]	BQL[50]	BQL[100]	0.00	0.00
1.50	BQL[50]	BQL[100]	BQL[50]	0.00	0.00
2.00	34.9	BQL[25]	BQL[25]	11.6	20.15
3.00	BQL[25]	BQL[25]	BQL[25]	0.00	0.00
4.00	BQL[25]	35.4	BQL[100]	11.8	20.44
Segunda Dosis					
4.03	BQL[25]	BQL[25]	BQL[25]	0.00	0.00
4.08	BQL[25]	BQL[25]	BQL[25]	0.00	0.00
4.25	BQL[25]	BQL[25]	BQL[25]	0.00	0.00
4.50	BQL[100]	BQL[25]	133.2	44.4	76.90
5.00	74.9	BQL[50]	NR	37.5	52.96

5.50	BQL^{200}	BQL^{75}	BQL^{25}	0.00	0.00
6.00	BQL^{25}	BQL^{75}	BQL^{75}	0.00	0.00
7.00	BQL^{50}	BQL^{50}	BQL^{25}	0.00	0.00
8.00	BQL^{25}	BQL^{25}	BQL^{25}	0.00	0.00

BQL^n – Debajo del Límite Cuantificable Elevado < n pg/mL

NR – No se puede Reportar.

La tabla 3 registra los resultados de ensayos de interferón alfa de múrido en el plasma de los ratones que fueron dosificados oralmente con val-isatoribina, disuelto en bicarbonato, en una dosis que es equivalente a 50/mg/kg de isatoribina en una base molar. Es evidente que el interferón fue fácilmente medible a las 1.0 horas, 1.5 horas, y 2.0 horas después de la dosificación. Se detectó el interferón en todos los ratones ensayados en un punto de tiempo determinado, lo que indica la confiabilidad del efecto después de la administración de val-isatoribina. Por lo tanto, una sola administración de val-isatoribina fue superior ya sea a una dosis simple o a una dosis repetida de isatoribina.

Tabla 3

Concentración en Plasma (pg/mL) de Interferón Alfa (Mu-IFN-α) en Ratones Seguido de una Sola Dosis de 73.0 mg/kg de Val-Isatoribina.

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

BQL – Debajo del Límite Cuantificable <12.5 pg/mL

BQL^{n} – Debajo del Límite Cuantificable Elevado < n pg/mL

NR – No se puede Reportar.

Los datos tabulados en las Tablas 1, 2, y 3 también se consideraron desde el punto de vista de la incidencia de los niveles de interferón medible. El interferón se detectó en el plasma de únicamente de 4 de los 114 ratones utilizados en los estudios de isatoribina, en tanto que 10 de los 30 ratones dosificados con val-isatoribina tuvo interferón detectable en su plasma. Por lo tanto, el profármaco incrementó la proporción de ratones que exhiben una respuesta de interferón del 4% al 30% y la magnitud tanto del promedio como de la respuesta pico incrementó dos veces.

En otros experimentos, los niveles de plasma de isatoribina e

interferón alfa se midieron en ratones que fueron dosificados con isatoribina mediante ruta intravenosa, y estos niveles se compararon con los niveles de isatoribina e interferón alfa que surge después de la administración oral de val-isatoribina. Estos datos se resumen en la figura 1. En esta figura es evidente que los niveles de interferón alfa inducidos mediante val-isatoribina oral ("val-isator") (en un equivalente molar de isatoribina de 50 mg/kg) fue similar al de la isatoribina intravenosa ("isator") en 25 mg/kg. Por lo tanto, la val-isatoribina oral proporciona niveles de isatoribina e interferón que son aproximadamente 50% de los que se observan después de administración intravenosa de la propia isatoribina.

Perros Beagle

Se investigó el efecto de un profármaco (val-isatoribina, 3) en la exposición sistémica a isatoribina (1) después de la administración oral a perros beagle. Se preparó la isatoribina en solución de bicarbonato de sodio. La val-isatoribina y la isatoribina se prepararon tal como las siguientes formulaciones, las cuales se eligieron para asegurar la solubilidad:

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

Formulación 2: Val-isatoribina en solución salina regulada por fosfato, 1.62 y 6.48 mg/mL, equivalente a 1 y 4 mg/mL de isatoribina en una base molar.

Se utilizaron cuatro perros beagle adultos macho y cuatro hembras con un peso de 15 a 27 kg y aproximadamente de 1 a 2

años de edad en el comienzo del estudio. Los animales se dividieron en 2 grupos de 2 machos y 2 hembras cada uno. El material de prueba se administró mediante gavage los Días 1 y 8, permitiendo un período de lavado de 7-días entre las administraciones. Se recolectaron las muestras de sangre (2 mL) de cada animal en una dosis previa, 15, 30 minutos, 1, 2, 3, 4, 6, 8 y 10 horas en los tubos de heparina de litio después de cada dosificación. El plasma se congeló a una temperatura de –70°C hasta el análisis. El plasma se analizó para isatoribina mediante un ensayo HPLC-MS/MS.

Los parámetros farmacocinéticos de isatoribina que surgen de isatoribina o val-isatoribina en cada perro se resumen en las Tablas 4 y 5. Las proporciones de los parámetros farmacocinéticos clave que definen la concentración máxima (Cmax) y la exposición total tal como se mide a través del área bajo la curva de tiempo-concentración (AUC) para el profármaco y la solución de bicarbonato en la dosis de 50 mg/kg se resumen en la Tabla 6. Para el profármaco 3, la proporción Cmax de 2.98 ± 0.695 y la proporción de AUC fue de 2.38 ± 0.485. Estos resultados indican que en la dosis de 50 mg/kg, el profármaco val-isatoribina proporcionó substancialmente un mayor Cmax y mayor biodisponibilidad que isatoribina en solución de bicarbonato.

Las proporciones para el Cmax y AUC del profármaco a la solución de bicarbonato para la dosis de 10 mg/kg se resumen en la Tabla 7. Para el profármaco, la proporción Cmax fue de 2.24 ± 0.249 y la proporción AUC fue de 1.82 ± 0.529. Estos resultados indican

que en la dosis de 10 mg/kg, el profármaco de val-isatoribina proporcionó Cmax y mayor biodisponibilidad que isatoribina en solución de bicarbonato.

Por lo tanto, las concentraciones máximas de isatoribina logradas después de dosificación oral, son al menos duplicadas, y la exposición sistémica a isatoribina es aumentada aproximadamente 2-veces después de la administración oral del profármaco de val-isatoribina, en comparación con la propia isatoribina, en dosis tanto de 10 como de 50 mg/kg.

Tabla 4

Parámetros Farmacocinéticos de Isatoribina en Perros Dosificados en 50 mg/kg

	Periodo de Dosificación	1	2
	Formulación	Isatoribina	Val-isatoribina
Número de Animal	Dosis, mg/kg molar Isatoribina equivalente	50	50
Perro 3517322	Cmax, ng/mL	3038.7	11741.5
	Tmax, h	0.50	0.50
	AUC(0-inf), ng·h/mL	15227.0	33038.1
	$T_{1/2}$, h	6.4	2.4
Perro 3521451	Cmax, ng/mL	3354.0	10652.1
	Tmax, h	1.00	1.00
	AUC(0-inf), ng·h/mL	9422.2	26552.7
	$T_{1/2}$, h	1.9	1.6
Perro 3528707	Cmax, ng/mL	8915.3	20340.6
	Tmax, h	0.50	0.50
	AUC(0-inf), ng·h/mL	29701.7	53273.0
	$T_{1/2}$, h	2.2	2.3
Perro 3532828	Cmax, ng/mL	6134.7	15987.9
	Tmax, h	0.50	0.50
	AUC(0-inf), ng·h/mL	12069.7	32987.0
	$T_{1/2}$, h	1.4	1.6

321

Tabla 5

Parámetros Farmacocinéticos de Isatoribina en Perros Dosificados en 10 mg/kg.

	Período de Dosificación	1	2
	Formulación	Isatoribina	Val-isatoribina
Número de Animal	Dosis, mg/kg molar isatoribina equivalente	10	10
Perro 3524523	Cmax, ng/mL	4091.5	8594.6
	Tmax, h	1.00	0.50
	AUC(0-inf), ng·h/mL	13305.8	17166.2
	$T_{1/2}$, h	2.1	1.7
Perro 3526402	Cmax, ng/mL	1859.5	4047.0
	Tmax, h	1.00	1.00
	AUC(0-inf), ng·h/mL	5774.4	10548.9
	$T_{1/2}$, h	1.6	2.2
Perro 357450	Cmax, ng/mL	1620.3	4228.7
	Tmax, h	0.50	1.00
	AUC(0-inf), ng·h/mL	4387.3	11158.0
	$T_{1/2}$, h	1.5	2.3
Perro 354708	Cmax, ng/mL	2781.2	5784.8
	Tmax, h	0.50	0.50
	AUC(0-inf), ng·h/mL	7522.1	12259.1
	$T_{1/2}$, h	1.6	2.0

322

Tabla 6

Proporción de Parámetros Farmacocinéticos de Isatoribina en Perros Dosificados en 50 mg/kg.

Número de Animal	Formulación	Isatoribina	Val-isatoribina
Perro 3517322	Proporción Cmax	1.00	3.86
	Proporción AUC	1.00	2.17
Perro 3521451	Proporción Cmax	1.00	3.18
	Proporción AUC	1.00	2.82
Perro 3528707	Proporción Cmax	1.00	2.28
	Proporción AUC	1.00	1.79
Perro 3532828	Proporción Cmax	1.00	2.61
	Proporción AUC	1.00	2.73
	Proporción Promedio Cmax	N/A	2.98
	Proporción Cmax SD	N/A	0.695
	Proporción Promedio AUC	N/A	2.38
	Proporción AUC SD	N/A	0.485

Tabla 7

Proporción de Parámetros Farmacocinéticos de Isatoribina en Perros Dosificados en 10 mg/kg.

Número de Animal	Formulación	Isatoribina	Val-isatoribina
Perro 3524523	Proporción Cmax	1.00	2.10
	Proporción AUC	1.00	1.29
Perro 3526402	Proporción Cmax	1.00	2.18
	Proporción AUC	1.00	2.20
Perro 3527450	Proporción Cmax	1.00	2.61
	Proporción AUC	1.00	2.54
Perro 355708	Proporción Cmax	1.00	2.08
	Proporción AUC	1.00	1.63
	Proporción Promedio Cmax	N/A	2.24
	Proporción Cmax SD	N/A	0.249
	Proporción Promedio AUC	N/A	1.82
	Proporción AUC SD	N/A	0.529

El profármaco es preferido por varias razones. Primero, el profármaco se formula fácilmente para proporcionar una alta proporción de agente activo. Este da como resultado tamaños de cápsulas pequeñas para una dosis determinada, lo cual es una

ventaja para un producto oral. Segundo, los profármacos ofrecen el prospecto de cubrir la estructura activa conforme el agente pasa a través del tejido linfoide que cubre el intestino, lo cual debe minimizar la activación de este tejido y por lo tanto mejorar la capacidad de toleración oral. Finalmente, en las dosis probadas, valisatoribina proporciona niveles de plasma de isatoribina que están también dentro del rango deseable para los efectos biológicos después de la administración oral, lo cual no es el caso para la isatoribina sola.

Reducción de Irritación Gastrointestinal.

Los compuestos de la Fórmula I de la presente invención, también demuestran efectos toxicológicos inesperados y reducidos en gran parte, y en particular una irritación GI reducida. El tracto gastrointestinal ("GI") está cubierto con tejido inmune substancial (por ejemplo, parches de Peyer, etc.). Los compuestos de la Formula I ofrecen el prospecto de cubrir la estructura activa conforme el agente pasa a través del tejido linfoide que cubre el intestino, lo cual debe minimizar la activación de este tejido y por lo tanto reducir la irritación GI.

Robins y asociados han demostrado que la eliminación de 5'-hidroxilo de nucleósido de isatoribina elimina al actividad. Ver la publicación de Robins y asociados, *Adv. Enzyme Regul.*, 29, 97-121 (1989). Sin limitarse a teoría alguna en particular, se hipotetiza que el bloqueo de este sitio de hidroxilo a través de una substitución de éster, podría eliminar de manera similar la actividad, pero permitir el

transporte en la circulación sistémica, en donde el éster de valina puede ser disociado y dar como resultado la exposición a isatoribina.

Han descubierto que la hipótesis fue confirmada. Los estudios toxicológicos formales de isatoribina administrada en forma intravenosa e isatoribina y val-isatoribina administrada en forma oral, se llevaron a cabo en perros beagle. Los resultados de toxicología para isatoribina administrada en forma oral son de un estudio llevado a cabo por ICN/Nucleic Acid Research Institute.

Comparamos en los perros la toxicología oral de 1 y 3, y la toxicología intravenosa de 1. Observamos que la toxicología oral de 3, fue más parecida a la intravenosa 1 que a la oral 1. En particular, la dosis que limita la toxicología de oral 3, fue similar en naturaleza de la intravenosa 1, y ocurrió en exposiciones de sangre que fueron similares a las observadas después de intravenosa 1. En contraste, oral 1 tuvo diferente toxicidad limitante (lesiones gastrointestinales) y su toxicidad se observó en una dosis inferior a la dosis tóxica ya sea intravenosa 1 u oral 3. Así mismo, se observó emésis en perros tratados con oral 1 en dosis menores a la dosis de oral 3 que dio como resultado emésis. *Ver* Tabla 8. También se conocen otros sistemas para evaluación de emésis, tal como en ferretes, que permite la comparación de administración oral e intravenosa de los compuestos. *Ver* la publicación de Strominger N. et al., Brain Res. Bull, 5, 445-451 (2001).

En cada caso el compuesto se administró como una solución, mediante gavage o mediante infusión intravenosa. Se evaluaron

326

múltiples parámetros, como es lo acostumbrado en un estudio de toxicología. En los estudios que proporcionan una mayor exposición potencial a isatoribina, se evaluó la concentración de plasma de isatoribina mediante un método LC/MS. Los descubrimientos GI notables fueron clasificados y se describen en la Tabla 8.

Tabla 8

Efecto en Tolerancia en GI en Perros Después de la Dosificación de Isatoribina o Val-Isatoribina Clasificados por Exposición Sistémica (AUC) a Isatoribina en Estudios de Toxicología.

		Oral Isatoribina		IV Isatoribina		Oral Val-Isatoribina	
(mg/kg) de dosis aplicada equivalente a isatoribina	$AUC_{0\text{-}24\ hrs}$ (µg•hr/ml)	Emésis o excremento suelto	Lesiones GI o irritación	Emésis o excremento suelto	Lesiones GI o irritación	Emésis o excremento suelto	Lesiones GI o irritación
2.5	n.d	Neg.	Neg.				
5	n.d.	+	Neg.				
10	n.d.	++	++				
8.1	11.4					Neg.	Neg.
16	15.6					Neg.	Neg.
12.5	19.5			Neg.	Neg.		
32	31.7					Neg.	Neg.
25	42.8			Neg.	Neg.		
64	71					Neg.	Neg.
130	75.3					+	Neg.
50	87.8			+	Neg.		
260	127					++	Neg.
390	180					+++	Neg.
100	209			++	Neg.		

Para isatoribina administraron en forma oral los principales descubrimientos se relacionan con la capacidad de toleración GI tal como se mide mediante irritación GI. Los signos clínicos observados en la Tabla 8 fueron emésis y/o excremento suelto. Estos signos clínicos fueron más frecuentes en el grupo de 10 mg/kg, y en un animal en esta dosis se observó un excremento con sangre. La evaluación histopatológica burda del tracto GI observó múltiples lesiones rojas cicatrizadas en la mucosa intestinal en cuatro de ocho perros en una dosis de 10 mg/kg, la cual en evaluación microscópica reveló congestión celular y hemorragia, tal como se debe esperar de un proceso inflamatorio localizado entonces en progreso. Los efectos GI establecieron el NOAEL como de 5 mg/kg.

La isatoribina administrada en forma intravenosa dio como resultado emésis y/o excremento suelto como descubrimientos comunes en perros; este efecto ocurrió substancialmente en dosis aplicadas en forma superior, a la isatoribina administrada en forma oral. No se observaron lesiones en el tracto GI ya sea en evaluaciones de tejido por necropsia o histopatológicas. La toxicidad GI no afectó el NOAEL, el cual fue establecido como 12.5 mg/kg sobre las bases de otros descubrimientos.

La val-isatoribina administrada en forma oral demostró un perfil toxicológico similar a la isatoribina administrada en forma intravenosa. En dosis aplicadas en forma superior, se observaron emésis y excremento suelto. No se encontraron lesiones GI, aunque esto fue un foco de evaluación en este estudio. Como para la

isatoribina administrada en forma intravenosa, se estableció el NOAEL sobre las bases de otros descubrimientos. La correspondencia de toxicidad observada a exposiciones sistémicas de isatoribina es de interés en este estudio; el valor de umbral de AUC de isatoribina para observación de emésis y excremento suelto es similar para isatoribina administrada en forma intravenosa y val-isatoribina administrada en forma oral (Tabla 8).

Los datos en la Tabla 8 indican que la val-isatoribina administrada en forma oral proporciona una perfil de toxicidad mejorado con respecto a la isatoribina administrada en forma oral, y es consistente con la hipótesis de que se logra cubrir en forma química la actividad de isatoribina mediante substitución química de un éster de uno de los hidróxilos del nucleósido, preferentemente mediante substitución química de un éster en la posición 5'-hidróxilo del nucleósido. Elaborar esta substitución para ser disociable al entrar en el cuerpo, produce exposición sistémica para la actividad útil del compuesto sin la toxicidad GI limitante que surge de la estructura anatómica del tracto GI. Esto permite la administración de dosis que son substancialmente mayores que una base molar de lo que puede ser aceptable, con el resultado de una mayor eficacia y efectos secundarios reducidos en comparación con la administración del compuesto "no cubierto" parental solo.

<u>Evaluación de Exposición Sistémica a 1 (isatoribina) Después de Dosificación Oral de Compuestos de la Fórmula I.</u>

Tabla 9

Parámetros Farmacocinéticos de Compuestos de la Fórmula I

Cuando R^2=H

	Parámetros Farmacocinéticos		
Compuesto	Caco2 (nm/s)	(%) de Hepatocitos en los Monos	Mono PK ((ng/ml)*hr)/(mg/kg)
79	100	10	390
89	200	45	560
78	600	20	630

Ensayo Caco2

Se utilizaron ampliamente ensayos de transporte de fármaco *in vitro* que utilizan monocapas de célula Caco2 diferenciada y que expresan P-glucoproteína, para anticipar los rangos de absorción de los compuestos de fármaco candidatos a través de la barrera de célula epitelial intestinal. Ver, por ejemplo, la publicación de Hilgers, A. R. et al., *Pharm. Res.*, 20(8), 1149-55 (Agosto 2003).

Se crecieron células Caco-2 (obtenidas de ATCC) para confluencia en membranas permeables en cámaras que permiten el acceso tanto a las partes apicales como basolaterales de la membrana. La naturaleza intacta de la membrana celular resultante se evaluó utilizando resistencia eléctrica transepitelial. El compuesto de prueba se agrega en una concentración conocida para el lado apical de la membrana y el rango de aparición del compuesto sobre el lado basolateral de la membrana se evalúa mediante análisis

utilizando ya sea HPLC o LC-MS/MS. Los rangos de transporte mayores en células Caco-2 están asociados con absorción gastrointestinal mejorada.

El propósito de la evaluación de los compuestos 79, 89, y 78 en este sistema fue para determinar si 89 y 78 fueron transportados a un grado mayor que 79. Los descubrimientos confirman que 89 y 78 muestran un transporte significativamente mejorado con respecto a 79.

Hepatocitos Primarios

Los compuestos de la presente invención deben de ser convertidos a 1 en el cuerpo si son para servir como profármacos efectivos. Los hepatocitos con frecuencia se utilizan para evaluar el grado en el cual un compuesto puede ser transformado en el cuerpo de un animal, y se sabe que dichas transformaciones varían con hepatocitos de diferentes especies en una forma que refleje el metabolismo en el animal completo. Ver por ejemplo, la publicación de Seddon T. et al., *Biochem Pharmacol.*, 38(10), 1657-65 (Mayo 1989).

Se compraron hepatocitos de mono cinomolgus con un proveedor comercial y se utilizaron a las 48 horas de la preparación. Se prepararon compuestos en un medio de cultivo en una concentración de 10μM/ml y se incubaron en un sistema estándar con 1,000,000 de hepatocitos viables por ml durante 2 horas a una temperatura de 37 grados. El grado de conversión al final del período de incubación se evaluó midiendo 1 a través de LC-MS/MS.

El propósito de la evaluación de los compuestos **79**, **89**, y **78** en este sistema fue determinable el grado de su conversión a **1**. Los descubrimientos confirman que **89** y **78** se convierten de manera más extensa a **1** que lo que lo hace **79**.

Experimentos PK en Animales.

La evaluación de la disponibilidad de compuestos de la presente invención para suministrar **1** a la circulación sistémica después de dosis oral se evaluó a través métodos conocidos en la técnica. Para las Tablas 9 y 10, cada compuesto de prueba se formuló en una solución para dosis oral disolviendo el compuesto ya sea en un regulador acuoso tal como PBS en pH3 o en una solución que contiene un solubilizador tal como Cremaphor, Tween80, o PEG400. La solución del compuesto se dosificó mediante gavage oral para ratas Sprague-Dawley o para monos cinomolgus, utilizando generalmente un grupo de tres animales por cada experimento. Las muestras de plasma se recolectaron de los animales en varios puntos de tiempo (normalmente, de 6 a 12 puntos de tiempo fueron utilizados) dentro de 6 a 24 horas. Las muestras de plasma se congelaron rápidamente después de la recolección, y se descongelaron rápidamente antes de la preparación de la muestra para bioanálisis.

Se obtuvieron valores de referencia para el compuesto **1** mediante procedimientos similares después de la dosificación ya sea oral o intravenosa. La administración intravenosa de **1** dio como resultado la recuperación de la mayoría (>75%) de la dosis

administrada en la orina como intacto 1; por lo tanto, la medida de 1 en la orina proporcionó una medida conveniente de exposición sistémica a 1. Por esta razón, en algunos experimentos la cantidad de 1 en orina recolectada durante un período de 24 horas después de la dosificación, fue utilizada para evaluar los compuestos.

Bioanálisis

Se extinguió una alícuota (normalmente, 50 µL) de cada muestra recolectada en estudios PK de animales o estudios *in vitro*, con acetonitrilo (3:1 proporción acetonitrilo a plasma) que contiene un estándar interno (normalmente, nebularina). La suspensión se centrifugó en 14,000 rpm durante 5 a 10 minutos. Se transfirió una alícuota del supernadante resultante en un frasco limpio y se secó bajo nitrógeno. La muestra seca se reconstituyó y presentó para análisis LC-MS/MS a través del método MRM (monitoreo de reacción múltiple). Se prepararon estándares de calibración mediante dilución en serie de un estándar concentrado inicial del material para análisis ya sea con plasma de animal o un medio de cultivo celular. Los estándares de calibración se prepararon para análisis LC-MS/MS tal como se describió anteriormente para las muestras PK de animal. Se llevó a cabo el análisis LC-MS/MS en un modo de lote con al menos dos grupos de estándares de calibración, asociando las muestras de estudio. Se integró un trazo LC-MS/MS tanto para el material de análisis como para el estándar interno, y la proporción de sus áreas pico fue utilizada para calcular una respuesta relativa del material para análisis tanto en muestras de estudio como en el estándar de

calibración. Se desarrolló una curva de calibración combinada aplicando métodos de ajuste de curva para respuestas de los estándares de calibración. Se utilizó la curva de calibración ajustada para calcular la cantidad de material para análisis en las muestras. El rango dinámico útil de la curva de calibración fue de 1-5 ng/mL a 2,000-10,000 ng/mL.

Cálculos PK

La concentración en plasma – perfil de tiempo de 1 después de administración oral de una dosis conocida del compuesto fue utilizada para calcular un AUC (área-bajo-la-curva) de 1 en circulación sistémica. El AUC se normalizó de acuerdo con el contenido teórico total de 1 en el compuesto, con base en el peso molecular. Para la Tabla 8, el AUC se normalizó en forma adicional a una dosis de 1 mg/kg.

A partir de la Tabla 8, los datos AUC ilustran que los compuestos 89 y 78 suministran más de 1 (incremento 44% a 69%) a la circulación sistémica después de una dosis oral que lo que lo hace 79.

Tabla 10

Parámetros Farmacocinéticos para Compuestos de la Fórmula I en donde $R^2=OR^5$

Comp. No.		Rata SD, PO ANA245 AUC(0-24h)	Rata SD, PO ANA245 AUC(0-1h)	Mono Cino, PO ANA245 AUC(0-24h)
1	Dosis IV	341	256	740
	Dosis PO	23		15
14		16		
30		169; 136	73	205
28		156		153
62			34	

63			46	
32		157		
66			9	
38			6	
40			14	
36			16	
34			6	

66		130	81; 60	127
68				27
51			0	
72				0
70				0
61				104

Actividad Anti-Viral de Compuestos.

Se pueden emplear un número de ensayos de acuerdo con la presente invención, con el objeto de determinar el grado de actividad

anti-viral de un compuesto de la presente invención, tal como cultivo celular, modelos animales, y administración a sujetos humanos. Los ensayos aquí descritos, se pueden utilizar para ensayar crecimiento viral con el tiempo para determinar las características de crecimiento de un virus en la presencia de un compuesto de la presente invención.

En otra modalidad, se administra un virus y un compuesto de la presente invención a sujetos animales susceptibles a infección con el virus. La incidencia, severidad, longitud, carga de virus, rango de mortalidad de infección, etc. se pueden comparar con la incidencia, severidad, longitud, carga de virus, rango de mortalidad de infección, etc. observados con sujetos a los que se les administra el virus solo (en la ausencia de un compuesto de la presente invención). La actividad anti-virus del compuesto de la presente invención se demuestra mediante una disminución en la incidencia, severidad, longitud, carga de virus, rango de mortalidad de la infección, etc. en la presencia del compuesto de la presente invención. En una modalidad específica, el virus y el compuesto de la presente invención se administran al sujeto animal al mismo tiempo. En otra modalidad específica, el virus se administra al sujeto animal antes del compuesto de la presente invención. En otra modalidad específica, el compuesto de la presente invención se administra al sujeto animal antes del virus.

En otra modalidad, el rango de crecimiento del virus se puede probar muestreando los fluidos biológicos/muestras clínicas (por

ejemplo, aspirado nasal, restregado de garganta, esputo, lavado bronco-alveolar, orina, saliva, sangre, o suero) para sujetos humanos o animales en múltiples puntos de tiempo posterior a la infección ya sea, en la presencia o ausencia de un compuesto de la presente invención y medición de los niveles del virus. En modalidades específicas, el rango de crecimiento de un virus, se ensaya evaluando la presencia del virus en una muestra después del crecimiento en el cultivo celular, crecimiento en un medio de crecimiento permisible, o crecimiento en el sujeto utilizando cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo, pero sin limitarse a, Inmunoensayo (por ejemplo, ELISA para una descripción con respecto a ELISAs *ver, por ejemplo*, la publicación de Ausubel y asociados, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. I, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York en el 11.2.1), manchado inmunofluorescente, o análisis de Inmunomanchado utilizando un anticuerpo el cual reconoce de manera inmunoespecífica el virus que será ensayado o detección de un ácido nucleico específico del virus (por ejemplo, mediante manchado Southern o análisis RT-PCR, etc.).

En una modalidad específica, se pueden determinar los tituladores virales obteniendo fluidos biológicos/muestras clínicas a partir de células infectadas o en un sujeto infectado, preparando una dilución en serie de la muestra e infectando una monocapas de células que son susceptibles a infección con el virus (por ejemplo, células primarias, líneas celulares transformadas, muestras de tejido en paciente, etc.) en una dilución del virus que permite el

surgimiento de placas simples. Posteriormente, las placas pueden ser contadas y el titulador viral ser expresado como unidades que forman placas por mililitro de muestra.

En una modalidad específica, el rango de crecimiento de un virus en un sujeto se puede estimar mediante el titulador de anticuerpos contra el virus en el sujeto. El titulador del suero de anticuerpos puede ser determinado a través de cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo, pero sin limitarse a, la cantidad de anticuerpo o fragmento de anticuerpo en muestras de suero pueden ser cuantificadas, por ejemplo, mediante ELISA. Adicionalmente, se puede determinar la actividad *in vivo* de un compuesto de la Fórmula I, administrando directamente el compuesto a un animal de prueba, recolectando fluidos biológicos (por ejemplo, aspirado nasal, restregado de garganta, esputo, lavado bronco-alveolar, orina, saliva, sangre, o suero) y probar el fluido para actividad anti-virus.

En modalidades en donde las muestras que serán ensayadas para niveles de virus son fluidos biológicos/muestras clínicas (por ejemplo, aspirado nasal, restregado de garganta, esputo, lavado bronco-alveolar, orina, saliva, sangre, o suero), las muestras pueden contener o no células intactas. Las muestras de sujetos que contienen células intactas pueden ser procesadas directamente, en tanto que los aislados sin células intactas pueden o no ser cultivadas primero en una línea celular permisiva (por ejemplo, células primarias, líneas de células transformadas, muestras de tejido en

pacientes, etc.) o medio de crecimiento (por ejemplo, caldo LB/agar, caldo YT/agar, agar sanguíneo, etc.). Las suspensiones celulares se pueden despejar mediante centrifugación en, por ejemplo, en 300xg durante 5 minutos a temperatura ambiente, seguido de lavado PBS, pH 7.4 (Ca^{++} y Mg^{++} free) bajo las mismas condiciones. Se pueden suspender los pellets celulares en un pequeño volumen de PBS para análisis. Los aislados clínicos que contienen células intactas, pueden mezclarse con PBS y centrifugarse a 300xg durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se eliminó el moco de la interfase con una punta de pipeta estéril y los pellets celulares pueden ser lavados una vez más con PBS bajo las mismas condiciones. Posteriormente los pellets se resuspenden en un pequeño volumen de PBS para análisis.

En otra modalidad, un compuesto de la presente invención se administra a un sujeto humano infectado con un virus. La incidencia, severidad, longitud, carga viral, rango de mortalidad de infección, etc. se pueden comparar con la incidencia, severidad, longitud, carga viral, rango de mortalidad de infección, etc. observados en sujetos humanos infectados con un virus en la ausencia de un compuesto de la presente invención o en la presencia de un placebo. La actividad anti-viral del compuesto de la presente invención se demuestra a través de una disminución en la incidencia, severidad, longitud, carga viral, rango de mortalidad de infección, etc. en la presencia del compuesto de la presente invención. Se puede utilizar cualquier método conocido en la técnica para determinar la actividad anti-viral

en un sujeto tal como las descritas previamente.

Además, se puede determinar la actividad *in vivo* de un compuesto de la Fórmula I administrando directamente el compuesto a un animal o sujeto humano, recolectando fluidos biológicos/muestras clínicas (por ejemplo, aspirado nasal, restregado de garganta, esputo, lavado bronco-alveolar, orina, saliva, sangre, o suero) y probando los fluidos biológicos/muestras clínicas con respecto a la actividad anti-viral (por ejemplo, mediante la adición de células en cultivo en la presencia del virus).

Figura 2: Cambios de Carga Viral para Administración IV Una Vez al Día de Isatoribina.

Se suministró el producto de fármaco de isatoribina de investigación como una solución 1 mg/mL en solución salina normal estéril contenida en un frasco de 50 mL. Se administró la isatoribina mediante infusión intravenosa una vez al día durante 7 días, en rangos de 200, 400, 600 u 800 mg por dosis. Todas las dosis se administraron mediante infusión de rango constante durante un período de 60-minutos, excepto la dosis de 800 mg que se administró durante un período de 80-minutos. El rango de flujo para cada dosis fue del siguiente: 3.33 mL/min para la dosis de 200 mg; 6.67 mL/min para la dosis de 400 mg; 8.33 mL/min para la dosis de 500 mg; o 10.0 mL/min para la dosis de 600 mg y 800 mg.

Se inscribieron de cuatro a seis pacientes en cada uno de los grupos de dosis (200 mg, 400 mg, 600 mg, y 800 mg por dosis) y recibieron infusiones intravenosas una vez al día durante 7 días.

Antes de la dosis, se extrajo una muestra de sangre en cada paciente para evaluación del genotipo del virus HCV.

Se determinó el ARN HCV del plasma en la línea de base (se tomaron un promedio de 2 medidas antes del tratamiento el Día –1 o antes del tratamiento y en el Día 1) y una vez al día antes del inicio de la primera infusión intravenosa de isatoribina diaria los Días del 2 al 7 durante estos grupos de dosificación diaria (x 7 días). La carga viral se midió mediante métodos de ADN ramificado (Versant™ v3.0 bDNA ensayo, Bayer Diagnósticos). Para el ARN HCV de plasma, se estimó el cambio máximo de la línea de base de tratamiento previo utilizando valores transformados-log.

Ejemplo: Composición Oral.

La Tabla 11 ilustra una formulación de lote y una formulación de unidad de una sola dosis que contiene 100 mg de val-isatoribina.

Tabla 11: Formulación por tableta de 100 mg

Material	Porcentaje en Peso	Cantidad (mg/tableta)	Cantidad (kg/
val-isatoribina	40%	100.00	20.00
Celulosa Microcristalina, NF	53.5%	133.75	26.75
Tensioactivo Pluránico F-68	4.0%	10.00	2.00
Sodio de Croscarmelosa Tipo A, NF	2.0%	5.00	1.00
Estearato de Magnesio NF	0.5%	1.25	0.25
Total	100.0%	250.00 mg	50.00 kg

Los componentes de celulosa microcristalina, sodio de croscarmelosa, y val-isatoribina se pasaron a través de un colador de malla #30 (de aproximadamente 430μ a aproximadamente 655μ). El tensoactivo Pluronic F-68® (fabricado por JRH Biosciences, Inc. of Lenexa, KS) se pasó a través de un colador malla #20 (de aproximadamente 457μ a aproximadamente 1041μ). El tensoactivo Pluronic F-68® y los 0.5 kgs de sodio de croscarmelosa se cargaron en un mezclador de rebote de cubierta doble de 16 qt. y se mezclaron durante aproximadamente 5 minutos. Posteriormente la mezcla se transfirió a un mezclador de rebote de cubierta doble de 0.08495 m^3 (3 $pies^3$), en donde se agregó la celulosa microcristalina y se mezcló durante aproximadamente 5 minutos. El compuesto se agregó y mezcló durante 25 minutos adicionales. Esta pre-mezcla se pasó a través de un compactador de rodillo con un molino de martillo adherido a la descarga del compactador de rodillo y movido de regreso hacia el mezclador de rebote. El resto del sodio de croscarmelosa y el estearato de magnesio se agregó al mezclador de rebote y se mezcló durante aproximadamente 3 minutos. La mezcla final se comprimió en una prensa de tableta giratoria con 250 mg por tableta (tamaño de lote de 200,000 tabletas).

<u>Ejemplo: Composición de Mucosa.</u>

Se preparó un concentrado combinando isatoribina, y una parte de 12.6 kg del tricloromonofluorometano en un vaso de acero inoxidable sellado equipado con un mezclador de alto corte. Se llevó a cabo el mezclado durante aproximadamente 20 minutos. La

suspensión de volumen se preparó posteriormente en el envase sellado combinando el concentrado con el resto de los propulsores en un tanque de producto por volumen que está a una temperatura controlada de 21°C a 27°C, y una presión controlada de 2.8 a 4.0 BAR. Los contenedores de aerosol de 17 ml que tienen una válvula medida, están diseñados para proporcionar 100 inhalaciones de la composición de la presente invención. Cada contenedor se abastece con lo siguiente:

val-isatoribina	0.0120 g
tricloromonofluorometano	1.6960 g
diclorodifluorometano	3.7028 g
diclorotetrafluoroetano	1.5766 g
total	7.0000 g

Ejemplo: Composición Intravenosa

La formulación intravenosa se preparó reconstituyendo un compuesto de la presente invención con un medio líquido adecuado, tal como agua para inyección (WFI) o una solución de dextrosa al 5%. Se puede obtener una concentración deseada de la formulación intravenosa reconstituyendo una cantidad adecuada de un compuesto de la presente invención, con un volumen adecuado del medio líquido. Una concentración deseada de la formulación intravenosa proporciona una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención al paciente, preferentemente un mamífero, más preferentemente un humano, que necesita de la

formulación farmacéutica intravenosa y mantiene un nivel terapéuticamente efectivo de un compuesto de la presente invención en el paciente. La dosis, la cual es terapéuticamente efectiva dependerá del rango en el cual se suministra la formulación intravenosa al paciente y la concentración de la formulación intravenosa. Por ejemplo, se reconstituye un frasco que contiene una composición (por ejemplo, 50 mg de un compuesto de la presente invención por frasco) con una solución de dextrosa al 5% (14 ml de solución de dextrosa al 5% por frasco) produciendo un total de 25 mL de solución. La solución reconstituida se incorpora en una solución de dextrosa en una bolsa de infusión y un q.s. a 50 mL, dando como resultado una solución que contiene 1 mg/ml de un compuesto de la presente invención adecuado para administración de infusión intravenosa. La concentración preferida de un compuesto de la presente invención en el medio líquido, en la bolsa de infusión, es de aproximadamente 0.001 a aproximadamente 3 mg/ml, preferentemente a aproximadamente 0.75 a aproximadamente 1 mg/ml.

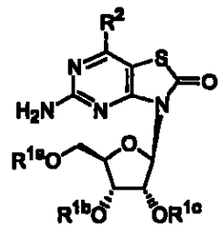
Quedará entendido que la descripción anterior es de ejemplo y explicatoria por naturaleza, y pretende ilustrar la presente invención y sus modalidades preferidas. A través de la experimentación de rutina, los expertos en la técnica reconocerán modificaciones y variaciones que pueden realizarse sin apartarse del espíritu de la presente invención. Por lo tanto, la presente invención está proyectada para quedar definida no por la descripción, sino por las

345
346

relvindicaciones que se encuentran a continuación y sus equivalentes.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la Fórmula I.



I

en donde:

R^{1a}, R^{1b} y R^{1c} son independientemente H, $-C(O)R^3$, un grupo de aminoácido racémico, L-, D- o $-C(O)CH_2NHR^4$, $-C(O)CH(C_{1-8}$ alquil$)NHR^4$, o R^{1b} y R^{1c} son colectivamente -C(O)-, los cuales junto con los átomos de oxígeno forman un anillo de carbonato de cinco miembros;

R^2 es H, OR^5 ó $N(R^6)_2$;

R^3 es un C_{1-16} alquilo;

R^4 es H, $-C(O)CH(C_{1-8}$ alquil$)NH_2$, ó $-C(O)CH(CH_2$-aril$)NH_2$;

R^5 es independientemente H, C_{1-8} alquilo, C_{3-7} alquenilo, C_{3-7} alquinilo, $-(CR^7R^8)_t(C_6$-C_{10} arilo), $-(CR^7R^8)_t(C_3$-C_{10} cicloalquilo), $-(CR^7R^8)_t(C_4$-C_{10} heterocíclico), $-(CR^7R^8)_{t>1}OH$, $-(CR^7R^8)_{t>0}CO_2C_{1-16}$ alquilo y $-(CR^7R^8)_{t>0}N(R^9)CO_2C_{1-16}$ alquilo y SO_2(arilo), en donde t es un entero de 0 a 6 a menos que se indique lo contrario, y en donde las porciones de alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo y heterocíclicas de los grupos anteriores son substituidos opcionalmente con substituyentes seleccionados independientemente de halo, ciano, nitro, trifluorometilo, trifluorometoxi, C_1-C_8 alquilo,

C_2-C_8 alquenilo, C_2-C_8 alquinilo, hidroxi, C_1-C_8 alcoxi, $-NH_2$, -NH-alquilo, $-N(alquil)_2$, -NH-arilo, -N(alquil)(arilo), $-N(aril)_2$, -NHCHO, -NHC(O)alquilo, -NHC(O)arilo, -N(alquil)C(O)H, -N(alquil)C(O)alquilo, -N(aril)C(O)H, -N(aril)C(O)alquilo, $-NHCO_2$alquilo, -N(alquil)CO_2alquilo, $-NHC(O)NH_2$, -N(alquil)$C(O)NH_2$, -NHC(O)NH-alquilo, -NHC(O) $N(alquil)_2$, -N(alquil)C(O)NH-alquilo, N(alquil)C(O) $N(alquil)_2$, $-NHSO_2$-alquilo, -N(alquil)SO_2-alquilo, -C(O)alquilo, -C(O)arilo, - OC(O)alquilo, -OC(O)arilo, $-CO_2$-alquilo, $-CO_2$-arilo, $-CO_2H$, $C(O)NH_2$, -C(O)NH-alquilo, $-C(O)N(alquil)_2$, -C(O)NH-arilo, $-C(O)N(aril)_2$, -C(O)N(alquil)(aril), -S(O)alquilo, -S(O)arilo, $-SO_2$alquilo, $-SO_2$arilo, $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2$NH-alquilo y $-SO_2N(alquil)_2$;

R^7 y R^8 son independientemente H, C_{1-6} alquilo, C_{2-6} alquenilo o C_{2-6} alquinilo; y

R^9 es H, C_{1-6} alquilo o CH_2-arilo;

Siempre que R^5 no sea $-CH_3$, y además, siempre que al menos uno de R^{1a}, R^{1b} y R^{1c} no sen H cuando R^2 es H.

2. El compuesto o sal o solvato farmacéuticamente aceptable tal y como se describe en la reivindicación 1, caracterizado porque R^2 es OR^5.

3. El compuesto o sal o solvato farmacéuticamente aceptable tal y como se describe en la reivindicación 1, caracterizado porque

R^{1a}, R^{1b}, y R^{1c} son independientemente H, $-C(O)R^3$, un grupo de aminoácido racémico L-, o D- $-C(O)CH(C_{1-6}$ alquil$)NH_2$;

R^2 es OR^5;

349

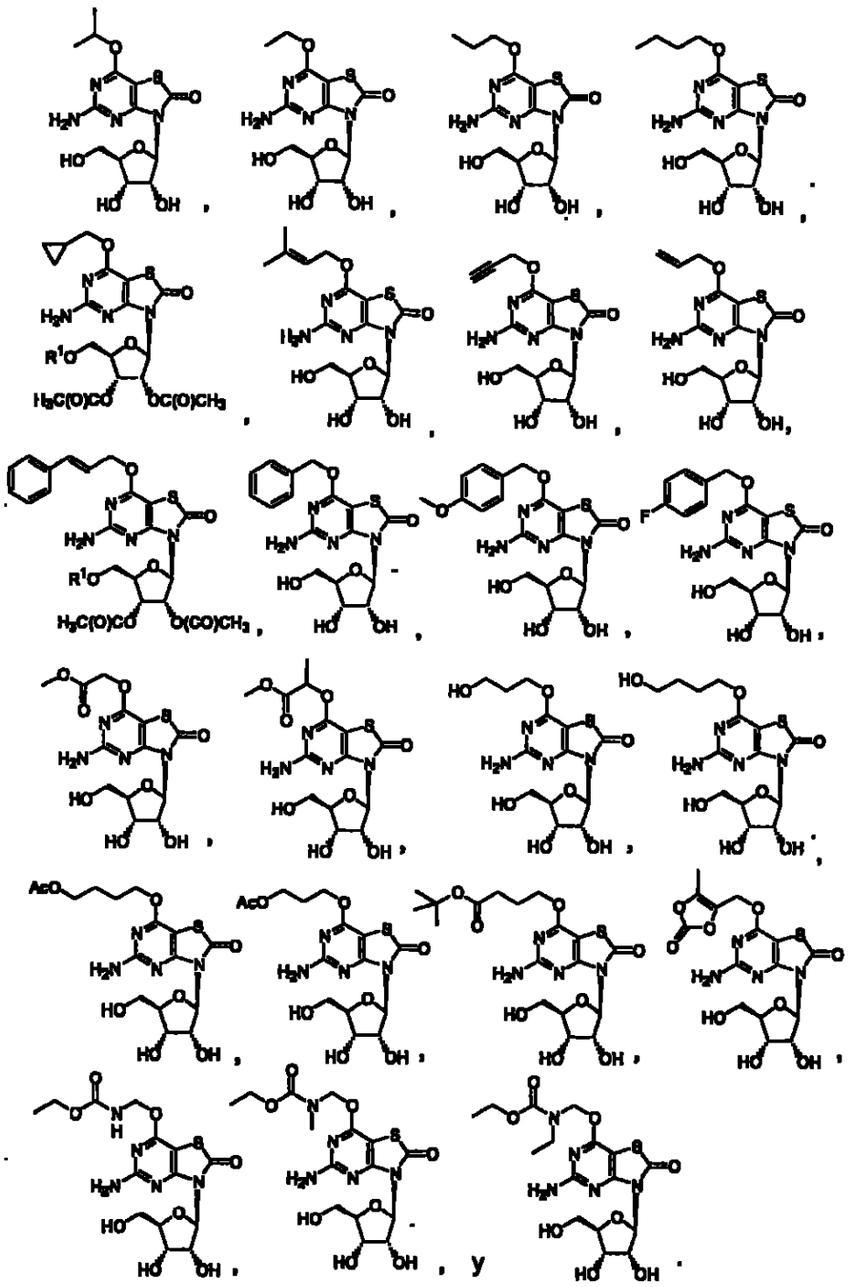
R^3 es un C_{1-18} alquilo;

R^5 es independientemente C_{1-8} alquilo, C_{3-7} alquenilo, C_{3-7} alquinilo, $-(CR^7R^8)_t(C_6-C_{10}$ arilo), $-(CR^7R^8)_t(C_4-C_{10}$ heterocíclico), y $-(CR^7R^8)_{t>0}N(R^9)CO_2C_{1-18}$ alquilo, en donde t es un entero de 0 a 4 a menos que se indique lo contrario, y en donde las porciones de alquilo, alquenilo, arilo, y heterocíclica de los grupos anteriores son opcionalmente substituidas con 1 a 3 substituyentes seleccionados independientemente de halo, ciano, nitro, trifluorometilo, trifluorometoxi, C_1-C_8 alquilo, C_2-C_8 alquenilo, C_2-C_8 alquinilo, hidroxi, C_1-C_8 alcoxi, $-CO_2-$alquilo, $-CO_2-$arilo, -OC(O)alquilo, y -OC(O)arilo;

R^7 y R^8 son independientemente H, C_{1-8} alquilo, o C_{2-8} alquenilo; y

R^9 es H, $-CH_3$, o $-CH_2CH_3$.

4. El compuesto o sal o solvato farmacéuticamente aceptable tal y como se describe en la reivindicación 2, caracterizado porque



5. El compuesto o sal o solvato farmacéuticamente aceptable tal y como se describe en la reivindicación 1, caracterizado porque R^2 es H.

6. El compuesto o sal o solvato farmacéuticamente aceptable tal y como se describe en la reivindicación 5, caracterizado porque

R^{1a}, R^{1b}, y R^{1c} son independientemente H, -C(O)R^3, un grupo de aminoácido racémico L- o D- -C(O)CH(C_{1-6} alquil)NH_2; y

R^3 es un C_{1-16} alquilo.

7. El compuesto o sal o solvato farmacéuticamente aceptable tal y como se describe en la reivindicación 5, caracterizado porque

R^{1a}, R^{1b}, y R^{1c} son independientemente H, -C(O)R^3, un grupo aminoácido racémico L-, o D- -C(O)CH($CH(CH_3)_2$)NH_2; y

R^3 es CH_3.

8. El compuesto o sal o solvato farmacéuticamente aceptable tal y como se describe en la reivindicación 5, caracterizado porque

R^{1a}, R^{1b}, y R^{1c} son independientemente H o –C(O)R^3; y

R^3 es CH_3.

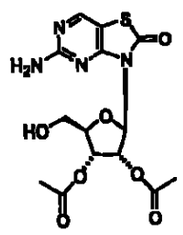
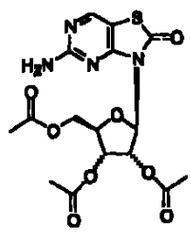
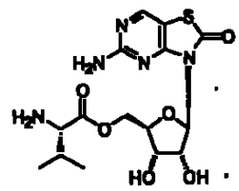
9. El compuesto o sal o solvato farmacéuticamente aceptable tal y como se describe en la reivindicación 5, caracterizado porque

R^{1a} es H y R^{1b} y R^{1c} son –C(O)R^3; y

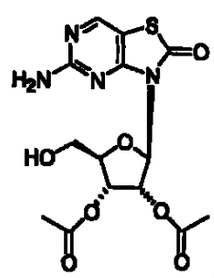
R^3 es CH_3.

10. Un compuesto o sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado de

352


,

, y

.

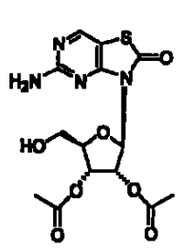
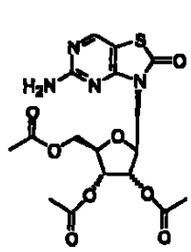
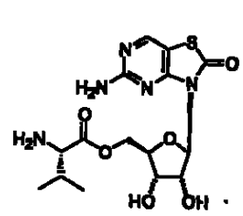
11. Un compuesto o sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, caracterizado porque comprende


.

12. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto tal y como se describe en la reivindicación 1;

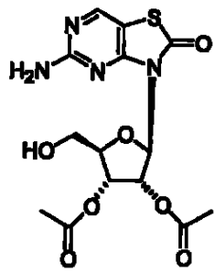
o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

13. La composición farmacéutica tal y como se describe en la reivindicación 12, caracterizada porque el compuesto es seleccionado de


,

, y

.

353

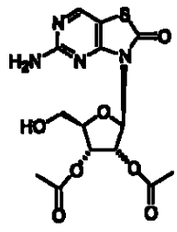
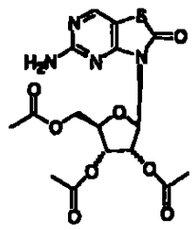
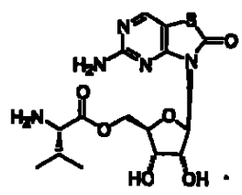
14. La composición farmacéutica tal y como se describe en la reivindicación 12, caracterizada porque el compuesto es



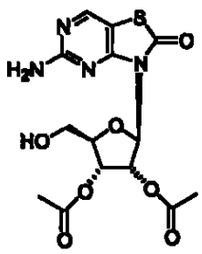
15. Un método para modular actividades de citocina inmune en un paciente, en donde el método comprende:

administrar al paciente una cantidad terapéuticamente o profilácticamente efectiva de un compuesto tal y como se describe en la reivindicación 1, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

16. El método tal y como se describe en la reivindicación 15, caracterizado porque el compuesto es seleccionado de


,

, y

.

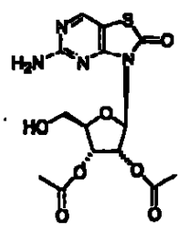
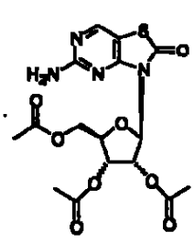
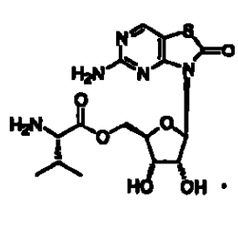
17. El método tal y como se describe en la reivindicación 15, caracterizado porque el compuesto es



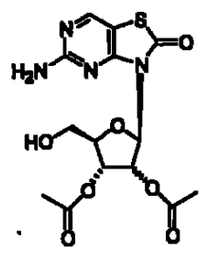
18. Un método para tratar una infección por virus de hepatitis C en un paciente, en donde el método comprende:

administrar al paciente una cantidad terapéuticamente o profilácticamente efectiva de un compuesto tal y como se describe en la reivindicación 1, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

19. El método tal y como se describe en la reivindicación 18, caracterizado porque el compuesto es seleccionado de:


,

, y

.

20. El método tal y como se describe en la reivindicación 18, caracterizado porque el compuesto es



25A
355

RESUMEN

La presente invención se dirige a nucleósidos de 3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]piridimina y composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos que tienen actividad inmunomoduladora. La presente invención también se dirige al uso terapéutico o profiláctico de dichos compuestos y composiciones, y a métodos para tratar enfermedades y padecimientos aquí descritos, a través de la administración de cantidades efectivas de dichos compuestos.

355
356

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference	FOR FURTHER ACTION	see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.
22222-00004-WO1		
International application No.	International filing date *(day/month/year)*	(Earliest) Priority Date *(day/month/year)*
PCT/US2004/018011	07/06/2004	
Applicant		
ANADYS PHARMACEUTICALS, INC.		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 4 sheets.

[X] It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report
   a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.
      [ ] The international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).
   b. [ ] With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.
2. [X] Certain claims were found unsearchable (See Box II).
3. [ ] Unity of invention is lacking (see Box III).
4. With regard to the title,
   [X] the text is approved as submitted by the applicant.
   [ ] the text has been established by this Authority to read as follows:
5. With regard to the abstract,
   [X] the text is approved as submitted by the applicant.
   [ ] the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.
6. With regard to the drawings,
   a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____
      [ ] as suggested by the applicant.
      [ ] as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.
      [ ] as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.
   b. [X] none of the figures is to be published with the abstract.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US2004/018011

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07H19/24 A61K31/7052 A61P37/02

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C07H A61K A61P

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/045968 A (ANADYS PHARMACEUTICALS, INC) 5 June 2003 (2003-06-05) the whole document	1-20
X	US 5 041 426 A (ROBINS ET AL) 20 August 1991 (1991-08-20) compounds 6,7,41,42	1,2,12

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
22 March 2005	31/03/2005

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	de Nooy, A

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2004)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2004/018011

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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

1. [X] Claims Nos.: 15-20 (in part)
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 15-20 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound.

2. [ ] Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.

2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/US2004/018011

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03045968 A	05-06-2003	AU 2002365412 A1	10-06-2003
		BR 0214407 A	19-10-2004
		CA 2468552 A1	05-06-2003
		EP 1451203 A1	01-09-2004
		HR 20040541 A2	31-10-2004
		WO 03045968 A1	05-06-2003
		US 2003151560 A1	14-08-2003
		US 2003199461 A1	23-10-2003
US 5041426 A	20-08-1991	US 4880784 A	14-11-1989
		AR 246104 A1	30-03-1994
		AT 126060 T	15-08-1995
		AT 173929 T	15-12-1998
		CA 1319931 C	06-07-1993
		DE 3854297 D1	14-09-1995
		DE 3854297 T2	28-03-1996
		DE 3856279 D1	14-01-1999
		DE 3856279 T2	20-05-1999
		DK 406389 A	04-10-1989
		EP 0348446 A1	03-01-1990
		EP 0636372 A1	01-02-1995
		ES 2010786 A6	01-12-1989
		JP 2590248 B2	12-03-1997
		JP 3504122 T	12-09-1991
		KR 9702611 B1	06-03-1997
		WO 8905649 A1	29-06-1989
		AU 2486088 A	19-07-1989
		NO 893343 A	23-10-1989

359
360

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43*bis*.1)

Date of mailing *(day/month/year)* see form PCT/ISA/210 (second sheet)	
Applicant's or agent's file reference see form PCT/ISA/220	FOR FURTHER ACTION See paragraph 2 below

International application No.	International filing date *(day/month/year)*	Priority date *(day/month/year)*
PCT/US2004/018011	07.06.2004	

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
C07H19/24, A61K31/7052, A61P37/02

Applicant
ANADYS PHARMACEUTICALS, INC.

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43*bis*.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA"). However, this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1*bis*(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of three months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:	Authorized Officer
European Patent Office - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016	Telephone No. +31 70 340-

361-358

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US2004/018011

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the language, this opinion has been established on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

   ☐ This opinion has been established on the basis of a translation from the original language into the following language , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rules 12.3 and 23.1(b)).

2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:

   a. type of material:

   ☐ a sequence listing

   ☐ table(s) related to the sequence listing

   b. format of material:

   ☐ in written format

   ☐ in computer readable form

   c. time of filing/furnishing:

   ☐ contained in the international application as filed.

   ☐ filed together with the international application in computer readable form.

   ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.

3. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

4. Additional comments:

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US2004/018011

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application,

☒ claims Nos. 15-20 (with respect to IA)

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 15-20 (with respect to IA) relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination *(specify)*:

see separate sheet

☐ the description, claims or drawings *(indicate particular elements below)* or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed *(specify)*:

☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

☐ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos.

☐ the nucleotide and/or amino acid sequence listing does not comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions in that:

the written form	☐	has not been furnished
	☐	does not comply with the standard
the computer readable form	☐	has not been furnished
	☐	does not comply with the standard

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in computer readable form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-*bis* of the Administrative Instructions.

☐ See separate sheet for further details

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No. PCT/US2004/018011

Box No. V Reasoned statement under Rule 43*bis*.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes:	Claims	3-11, 13-14, 16-17, 19-20
	No:	Claims	1,2,12,15,18
Inventive step (IS)	Yes:	Claims	
	No:	Claims	1-20
Industrial applicability (IA)	Yes:	Claims	1-14
	No:	Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATI NAL SEARCHING AUTHORITY (SEPARATE SHEET)

International application No. PCT/US2004/018011

Re Item III.

Claims 15-20 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject-matter of these claims (Article 34(4)(a)(I) PCT).

For the assessment of the present claims 15-20 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

Reference is made to the following documents:
D1: WO03/045968
D2: US5041426

Novelty
The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 1,2,12,15,18 is not new in the sense of Article 33(2) PCT.

The documents D1 (pages 5,12,24-38) and D2 (compounds 6,7,41,42) disclose compounds falling within claims 1 and 2. The compounds of D1 and D2 have immunomodulatory activity. Thus, claims 1,2,12,15,18 lack novelty.

Inventive step
The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 1-20 does not involve an inventive step in the sense of Article 33(3) PCT.

The document D1 is regarded as being the closest prior art to the subject-matter of claims 1-20 and discloses 3-beta-D-ribofuranosylthiazolo[4,5-d]pyridimine nucleosides where the 6-substituent on the base is amongst others H, OH or OCH3 and where the hydroxyls of the ribose may be substituted with acyl functions, e.g. amino acids.

The subject-matter of claims 1-20 therefore differs from this known subject matter in that either compounds are disclaimed or other possible variations between the substituents of D1 are chosen.

The problem to be solved by the present invention may therefore be regarded as the provision of further compounds with immunomodulatory activity.

The solution proposed in claims 1-20 of the present application cannot be considered as involving an inventive step (Article 33(3) PCT) for the following reasons:
Starting from D1 and wishing to solve the above problem, the skilled man would try different substituents on the base or sugar than in D1. Furthermore, there is an incentive in claim 1 of D1 to do so since for example R2 in this claim can also be -O-Alkyl.

OLARTERAISBECK

366

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-122667- -00000-0000
Fec: 2006-12-05 17:11:01 Dep: 2020 NUECREACIONES
Tra: 11 PATENTEIYII
Eva: 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios: 364

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

(21) [X] Patente de Invención. [ ] Patente de Modelo de Utilidad.

[X] Capítulo I. [ ] Capítulo II.

SOLICITANTE (71)

(72)

Nombre: ANADYS PHARMACEUTICALS, INC.
Dirección: 3115 Merryfield Row, San Diego, CA 92121, E.U.A.
Nacionalidad o Domicilio: Estadounidense
Lugar de Constitución: Estados Unidos de América
Teléfono: _____ **Fax:** _____
E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN
C.C. [ ] NIT [ ]
C.E. [ ] Otro [ ]
Cual _____
Número _____

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE
Dirección: World Trade Center Torre A, Calle 100 No. 8A-37 Piso 10
Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799
E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN
C.C. [X] NIT [ ]
C.E. [ ] Otro [ ]
Cual _____
Número 79.782.747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES) (72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA
Dirección: VER PAGINA ADJUNTA
Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

(86) **PCT (86)**

Solicitud Internacional No. PCT/US2004/018011 Fecha Junio 7, 2004

Publicación Internacional No. WO 2005/121162 Fecha Diciembre 22, 2005

(54) **Título (54)** NUCLEÓSIDOS DE 3-β-D-RIBOFURANOSILTIAZOLO[4,5-*d*]PIRIDIMINA Y USOS DE LOS MISMOS

Clasificación Internacional (51) C07H 19/24, A61K 31/7052, A61P 37/02.

Prioridad SI [X] N [ ]

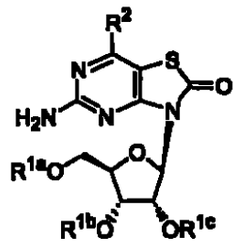
(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
US	Junio 7, 2004	PCT/US2004/018011

Recibo de pago No. 06 – 91.053 **Fecha** Noviembre 28, 2006

367

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la Fórmula I.



I

en donde:

R^{1a}, R^{1b} y R^{1c} son independientemente H, $-C(O)R^3$, un grupo de aminoácido racémico, L-, D- o $-C(O)CH_2NHR^4$, $-C(O)CH(C_{1-6}$ alquil$)NHR^4$, o R^{1b} y R^{1c} son colectivamente -C(O)-, los cuales junto con los átomos de oxigeno forman un anillo de carbonato de cinco miembros;

R^2 es H, OR^5 ó $N(R^6)_2$;

R^3 es un C_{1-16} alquilo;

R^4 es H, $-C(O)CH(C_{1-6}$ alquil$)NH_2$, ó $-C(O)CH(CH_2$-aril$)NH_2$;

R^5 es independientemente H, C_{1-6} alquilo, C_{3-7} alquenilo, C_{3-7} alquinilo, $-(CR^7R^8)_t(C_6$-C_{10} arilo), $-(CR^7R^8)_t(C_3$-C_{10} cicloalquilo), $-(CR^7R^8)_t(C_4$-C_{10} heterocíclico), $-(CR^7R^8)_{t>1}OH$, $-(CR^7R^8)_{t>0}CO_2C_{1-16}$ alquilo y $-(CR^7R^8)_{t>0}N(R^8)CO_2C_{1-16}$ alquilo y SO_2(arilo), en donde t es un entero de 0 a 6 a menos que se indique lo contrario, y en-donde las porciones de alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo y heterocíclicas de los grupos anteriores son substituidos opcionalmente con substituyentes seleccionados independientemente de halo, ciano, nitro, trifluorometilo, trifluorometoxi, C_1-C_6 alquilo,

C_2-C_6 alquenilo, C_2-C_6 alquinilo, hidroxi, C_1-C_6 alcoxi, $-NH_2$, -NH-alquilo, $-N(alquil)_2$, -NH-arilo, -N(alquil)(arilo), $-N(aril)_2$, -NHCHO, -NHC(O)alquilo, -NHC(O)arilo, -N(alquil)C(O)H, -N(alquil)C(O)alquilo, -N(aril)C(O)H, -N(aril)C(O)alquilo, $-NHCO_2$alquilo, -N(alquil)CO_2alquilo, $-NHC(O)NH_2$, -N(alquil)$C(O)NH_2$, -NHC(O)NH-alquilo, -NHC(O) $N(alquil)_2$, -N(alquil)C(O)NH-alquilo, N(alquil)C(O) $N(alquil)_2$, $-NHSO_2$-alquilo, $-N(alquil)SO_2$-alquilo, -C(O)alquilo, -C(O)arilo, - OC(O)alquilo, -OC(O)arilo, $-CO_2$-alquilo, $-CO_2$-arilo, $-CO_2H$, $C(O)NH_2$, -C(O)NH-alquilo, $-C(O)N(alquil)_2$, -C(O)NH-arilo, $-C(O)N(aril)_2$, -C(O)N(alquil)(aril), -S(O)alquilo, -S(O)arilo, $-SO_2$alquilo, $-SO_2$arilo, $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SO_2$NH-alquilo y $-SO_2N(alquil)_2$;

R^7 y R^8 son independientemente H, C_{1-6} alquilo, C_{2-6} alquenilo o C_{2-6} alquinilo; y

R^9 es H, C_{1-6} alquilo o CH_2-arilo;

Siempre que R^5 no sea $-CH_3$, y además, siempre que al menos uno de R^{1a}, R^{1b} y R^{1c} no sen H cuando R^2 es H.

2. El compuesto o sal o solvato farmacéuticamente aceptable tal y como se describe en la reivindicación 1, caracterizado porque R^2 es OR^5.

3. El compuesto o sal o solvato farmacéuticamente aceptable tal y como se describe en la reivindicación 1, caracterizado porque

R^{1a}, R^{1b}, y R^{1c} son independientemente H, $-C(O)R^3$, un grupo de aminoácido racémico L-, o D- $-C(O)CH(C_{1-6}$ alquil$)NH_2$;

R^2 es OR^5;

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-122667- -00000-0000
Fec: 2006-12-05 17:11:01 Dep: 2020 NUEGREACIONES
Tra: 11 PATENTES Y
Cue: 379 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios: 354

369

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT

PATENTE DE INVENCION [✓] MODELO DE UTILIDAD [ ]

- Indicación de que se solicita la concesión de una patente [✓]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [✓]
- Descripción de la invención [✓]
- Dibujos de ser estos pertinentes [NO]
- Comprobante de pago de las tasas establecidas [✓]

COMPLETA [ ] INCOMPLETA [ ]

DISEÑO INDUSTRIAL [ ]

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial [ ]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [ ]
- Representación gráfica 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 [ ]

Firma Responsable

05 DIC. 2006

Fecha

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

370

REPUBLICA DE COLOMBIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS REINALDO

REFERENCIA	Radicación No.	6 122667
	Solicitud internacional	PCT/US2004/018011
	Fecha inicio fase nacional	07/01/2007
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	1894

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

1. La traducciòn del Capitulo Descriptivo deberà estar acompañada de los respectivos dibujos.

2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.

3. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

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

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 09 FEB. 2007
lerazo