INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(11) Número de Publicação: **PT 1355916 E**

(51) Classificação Internacional:
C07H 19/14 (2006.01) ***A61K 31/7064*** (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)

(22) Data de pedido: **2002.01.18**

(30) Prioridade(s): **2001.01.22 US 263313**
2001.04.06 US 282069
2001.06.19 US 299320
2001.10.25 US 344528

(43) Data de publicação do pedido: **2003.10.29**

(45) Data e BPI da concessão: **2007.01.10**
004/2007

(73) Titular(es):
MERCK & CO. INC.
126 EAST LINCOLN AVENUE RAHWAY, NJ 07065-0907 **US**

(72) Inventor(es):
MALCOLM MACCOSS **US**
DAVID B. OLSEN **US**
STEVEN S. CARROLL **US**
BALKRISHEN BHAT **US**
NEELIMA BHAT **US**

(74) Mandatário:
ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS
RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA **PT**

(54) Epígrafe: **DERIVADOS DE NUCLEÓSIDOS QUE SÃO INIBIDORES DE ARN POLIMERASE VIRAL ARN-DEPENDENTE**

(57) Resumo:

RESUMO

"DERIVADOS DE NUCLEÓSIDOS QUE SÃO INIBIDORES DE ARN POLIMERASE VIRAL ARN-DEPENDENTE"

O presente invento proporciona derivados de nucleósidos que são inibidores da ARN polimerase viral ARN-dependente. Estes compostos são inibidores da replicação viral do ARN ARN-dependente e são úteis para o tratamento de uma infecção viral do ARN ARN-dependente. Eles são particularmente úteis como inibidores da polimerase NS5B do vírus C da hepatite (VCH), como inibidores da replicação do VCH, e/ou para tratamento da infecção da hepatite C. O invento também descreve composições farmacêuticas que contêm tais derivados de nucleósidos isoladamente ou em combinação com outros agentes activos que são eficazes contra uma infecção viral do ARN ARN-dependente, em particular a infecção do VCH. São também divulgados métodos de inibição da ARN polimerase ARN-dependente, inibição da replicação viral do ARN ARN-dependente, e/ou tratamento de uma infecção viral do ARN ARN-dependente com os derivados de nucleósidos do presente invento.

DESCRIÇÃO

"DERIVADOS DE NUCLEÓSIDOS QUE SÃO INIBIDORES DE ARN POLIMERASE VIRAL ARN-DEPENDENTE"

CAMPO DO INVENTO

O presente invento refere-se a compostos de nucleósido e a determinados derivados dos mesmos, à sua síntese e à sua utilização como inibidores da ARN polimerase viral ARN-dependente. Os compostos do presente invento são inibidores da replicação viral do ARN ARN-dependente e são úteis para o tratamento de uma infecção viral do ARN ARN-dependente. Eles são particularmente úteis como inibidores da polimerase NS5B do vírus C da hepatite (VCH), como inibidores da replicação de VCH, e para o tratamento da infecção da hepatite C.

ANTECEDENTES DO INVENTO

A infecção do vírus C da hepatite (VCH) é um problema de saúde muito importante que conduz a doença crónica do fígado, tal como cirrose e carcinoma hepato-celular, num número substancial de indivíduos infectados, estimados ser 2-15% da população do mundo. Só nos Estados Unidos estimam-se 4,5 milhões de pessoas, de acordo com o Centro Norte americano para Controlo da Doença. De acordo

com a Organização Mundial de Saúde, existem mais de 200 milhões de indivíduos infectados em todo o mundo, com pelo menos 3 a 4 milhões de pessoas infectadas todos os anos. Uma vez infectados, cerca de 20% das pessoas eliminam o vírus, mas o resto carrega o VCH para o resto das suas vidas. Dez a vinte por cento dos indivíduos infectados cronicamente vão desenvolver eventualmente cirrose destruidora do fígado ou câncro. A doença viral é transmitida parentericamente por sangue contaminado e produtos sanguíneos, agulhas contaminadas, ou sexualmente e verticalmente a partir de mães infectadas ou mães veículo para a sua descendência (off-spring). Os tratamentos correntes da infecção do VCH, que se limitam à imunoterapia com interferão-α isoladamente ou em combinação com a ribavirina do análogo do nucleósido, são de benefício clínico limitado. Por outro lado, não existe uma vacina contra o VCH. Consequentemente, há uma necessidade urgente para agentes terapêuticos aperfeiçoados que combatam eficazmente a infecção crónica provocada pelo VCH. O estado da técnica no tratamento da infecção do VCH tem sido revisto, e faz-se referência às seguintes publicações: B. Dymock, et al., "Novel approaches to the treatment of hepatitis C virus infection", Antiviral Chemistry & Chemotherapy, 11:79-96(2000); H.Rosen, et al., "Hepatitis C virus: current understanding and prospects for future therapies", Molecular medicine Today, 5:393-399 (1999); D. Moradpour, et al., "Current and evolving therapies for hepatitis C", European J. Gastroenterol. Hepatol., 11: 1189-1202 (1999); R. Bartenschlager, "Candidate Targets for Hepatitis C

Virus-Specific AntiviralTherapy", Intervirology, 40: 378-393 (1997); G.M. Lauer e B. D. Walker, "Hepatitis C Virus Infection", N. Engl. J. Med., 345: 41-52 (2001); B.W. Dymock, "Emerging therapies for hepatitis C virus infection", Emerging Drug, 6:13-42 (2001); e C. Crabb, "Hard-Won Advances Spark Excitement about Hepatitis C", Science: 506-507 (2001).

Têm sido feitas várias aproximações à terapia do VCH, as quais incluem a inibição da proteinase da serina viral (protease NS3), da helicase, e da ARN polimerase ARN-dependente (NS5B), e o desenvolvimento de uma vacina.

O virião (partícula de vírus desenvolvido e completo) do VCH é um vírus de hélice positiva envolvida de ARN com uma sequência genómica de oligoribonucleótido individual de cerca de 9600 bases que codifica uma poliproteína com cerca de 3.010 amino ácidos. Os produtos de proteínas do gene do VCH consistem nas proteínas estruturais C, E1 e E2, e nas proteínas não-estruturais NS2, NS3, NS4A e NS4B, e NS5A e NS5B. Acredita-se que as proteínas não estruturais (NS) proporcionam um mecanismo catalítico para replicação viral. A protease NS3 liberta a NS5B, a ARN polimerase ARN-dependente, da cadeia de poliproteína. A polimerase NS5B do VCH é requerida para a síntese de um ARN de dupla hélice a partir de um ARN viral de hélice individual que serve como padrão no ciclo de replicação do VCH. A polimerase NS5B é por isso considerada como um componente essencial para o complexo de replicação

do VCH [ver K. Ishi, et al., "Expression of Hepatites C Virus NS5B Protein: Characterization of Its RNA Polymerase Activity and RNA Binding", Hepatology, 29: 1227-1235 (1999) e V. Lohmann, et al., "Biochemical and Kinetic Analyses of NS5B RNA-Dependent RNA Polymerase of the Hepatites C Virus", Virology, 249: 108-118 (1998)]. A inibição da polimerase NS5B do VCH evita a formação do ARN do VCH de dupla hélice e por isso constitui uma aproximação atractiva para o desenvolvimento de terapias antivirais específicas para o VCH.

Descobriu-se agora que os compostos de nucleósido do presente invento e determinados derivados dos mesmos são inibidores potentes da replicação viral do ARN ARN-dependente e da replicação do VCH particular. Os derivados de 5'-trifosfato destes compostos de nucleósido são inibidores da ARN polimerase viral ARN-dependente e em particular da polimerase NS5B do VCH. Os presentes compostos de nucleósido e os seus derivados são úteis para tratar a infecção viral do ARN ARN-dependente e em particular a infecção de VCH.

É por isso um objectivo do presente invento proporcionar compostos de nucleósido e determinados derivados dos mesmos que são úteis como inibidores da ARN polimerase viral ARN-dependente e em particular como inibidores da polimerase NS5B do VCH.

É um outro objectivo do presente invento pro-

porcionar compostos de nucleósido e determinados derivados dos mesmos que são úteis como inibidores da replicação de um vírus do ARN ARN-dependente e em particular como inibidores da replicação do vírus C da hepatite.

É um outro objectivo do presente invento proporcionar compostos de nucleósido e determinados derivados dos mesmos que são úteis para o tratamento de uma infecção viral do ARN ARN-dependente e em particular para o tratamento da infecção do VCH.

É um outro objectivo do presente invento proporcionar composições farmacêuticas que compreendem os compostos de nucleósido do presente invento em associação com um veículo farmacêutico aceitável.

É um outro objectivo do presente invento proporcionar composições farmacêuticas que compreendem compostos de nucleósido e derivados dos mesmos do presente invento para utilização como inibidores da ARN polimerase viral ARN-dependente e em particular como inibidores da polimerase NS5B do VCH.

É um outro objectivo do presente invento proporcionar composições farmacêuticas que compreendem os compostos de nucleósido e derivados dos mesmos do presente invento para utilização como inibidores da replicação viral do ARN ARN-dependente e em particular como inibidores da replicação do VCH.

É um outro objectivo do presente invento proporcionar composições farmacêuticas que compreendem os compostos de nucleósido e derivados dos mesmos do presente invento para utilização no tratamento da infecção viral do ARN ARN-dependente e em particular no tratamento da infecção do VCH.

É um outro objectivo do presente invento proporcionar composições farmacêuticas que compreendem os compostos de nucleósido e derivados dos mesmos do presente invento em combinação com outros agentes activos contra o vírus do ARN ARN-dependente e em particular contra o VCH.

É um outro objectivo do presente invento proporcionar métodos para inibição da ARN polimerase viral ARN-dependente e em particular para inibição de polimerase NS5B do VCH.

É um outro objectivo do presente invento proporcionar métodos para a inibição da replicação viral do ARN ARN-dependente e em particular para a inibição da replicação do VCH.

É um outro objectivo do presente invento proporcionar métodos para o tratamento da infecção viral do ARN ARN-dependente e em particular para o tratamento da infecção do VCH.

É um outro objectivo do presente invento proporcionar métodos para o tratamento da infecção viral do ARN ARN-dependente em combinação com outros agentes activos contra o vírus do ARN ARN-dependente e em particular para o tratamento da infecção do VCH em combinação com outros agentes activos contra o VCH.

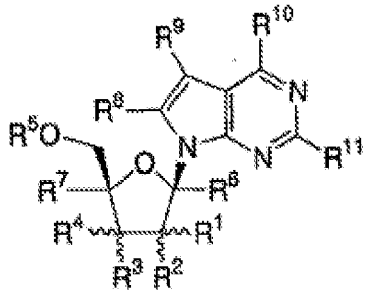
É um outro objectivo do presente invento proporcionar compostos de nucleósido e determinados derivados dos mesmos e as suas composições farmacêuticas para utilização como um medicamento para a inibição da replicação viral do ARN ARN-dependente e/ou para o tratamento da infecção viral do ARN ARN-dependente e em particular para a inibição da replicação do VCH e/ou para o tratamento da infecção do VCH.

É um outro objectivo do presente invento proporcionar a utilização de compostos de nucleósido e de determinados derivados dos mesmos do presente invento e das suas composições farmacêuticas para a manufactura de um medicamento para a inibição da replicação viral do ARN ARN-dependente e/ou para tratamento da infecção viral do ARN ARN-dependente e em particular para a inibição da replicação do VCH e/ou para o tratamento da infecção do VCH.

Estes e outros objectivos tornar-se-ão prontamente evidentes a partir da descrição detalhada que se segue.

SUMÁRIO DO INVENTO

O presente invento refere-se a compostos de fórmula estrutural I com a configuração estereoquímica indicada:



(I)

ou a um seu sal farmaceuticamente aceitável;

em que R^1 é alquenilo C_{2-4}, alquinilo C_{2-4}, ou alquilo C_{1-4}, em que alquilo é insubstituído ou substituído por hidroxi, amino, alcoxi C_{1-4}, alquil C_{1-4}-tio, ou um a três átomos de flúor;

R^2 é hidrogénio, flúor, hidroxi, mercapto, alcoxi C_{1-4}, e alquilo C_{1-4}; ou R^1 e R^2 em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados formam um sistema de anel monocíclico saturado de 3 a 6 membros que contem facultativamente um heteroátomo seleccionado entre O, S e NC_{0-4} alquilo;

R^3 e R^4 são cada um independentemente seleccionados dentro do grupo que consiste em hidrogénio, ciano, azido, halogénio, hidroxi, mercapto, amino, alcoxi C_{1-4}, alquenilo C_{2-4}, alquinilo C_{2-4}, e alquilo C_{1-4}, em que alquilo é insubstituído ou substituído por

hidroxi, amino, alcoxi C_{1-4}, alquil C_{1-4}-tio, ou um a três átomos de flúor;

R^5 é hidrogénio, alquil C_{1-10}-carbonilo, $P_3O_9H_4$, $P_2O_6H_3$, ou $P(O)R^{13}R^{14}$;

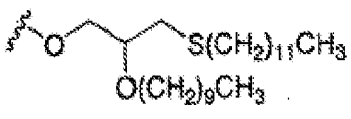
R^6 e R^7 são cada um independentemente hidrogénio, metilo, hidroximetilo, ou fluorometilo;

R^8 é hidrogénio, alquilo C_{1-4}, alquinilo C_{2-4}, halogénio, ciano, carboxi, alcoxi C_{1-4}-carbonilo, azido, amino, alquil C_{1-4}-amino, di(alquil C_{1-4})amino, hidroxi, alcoxi C_{1-6}, alquil C_{1-6}-tio, alquil C_{1-6}-sulfonilo, (alquil C_{1-4})$_{0-2}$aminometilo, ou ciclo-heteroalquilo C_{4-6}, insubstituído ou substituído por um a dois grupos seleccionados independentemente entre halogénio, hidroxi, amino, alquilo C_{1-4}, e alcoxi C_{1-4}; R^9 é hidrogénio, ciano, nitro, alquilo C_{1-3}, $NHCONH_2$, $CONR^{12}R^{12}$, $CSNR^{12}R^{12}$, $COOR^{12}$, $C(=NH)NH_2$, hidroxi, alcoxi C_{1-3}, amino, alquil C_{1-4}-amino, di(alquil C_{1-4})amino, halogénio, (1,3-oxazol-2-ilo), (1,3-tiazol-2-ilo), ou (imidazol-2-ilo); em que alquilo é insubstittuído ou substituído por um a três grupos seleccionados independentemente entre halogénio, amino, hidroxi, carboxi, e alcoxi C_{1-3};

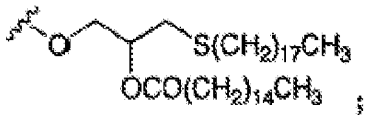
R^{10} e R^{11} são cada um independentemente hidrogénio, hidroxi, halogénio, alcoxi C_{1-4}, amino, alquil C_{1-4}-amino, di(alquil C_{1-4})amino, cicloalquil C_{3-6}-amino, di(cicloalquil C_{3-6})amino, ou ciclo-heteroalquilo C_{4-6}, insubstituído ou substituído por um ou dois grupos seleccionados independentemente entre halogénio, hidroxi, amino, alquilo C_{1-4}, e alcoxi C_{1-4}; cada R^{12} é

independentemente hidrogénio ou alquilo C_{1-6}; e

R^{13} e R^{14} são cada um independentemente hidroxi, $OCH_2CH_2SC(=O)$alquilo C_{1-4}, $OCH_2O(=O)O$alquilo C_{1-4}, $NHCHMeCO_2Me$, OCH(alquil C_{1-4})O(C=O)alquilo C_{1-4},



ou



;

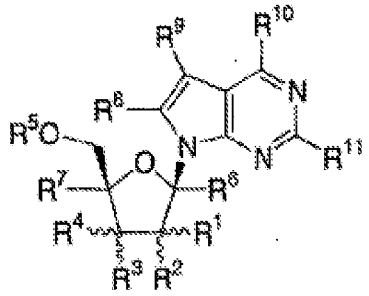
com a condição de quando R^1 é β-metilo e R^4 é hidrogénio ou R^4 é β-metilo e R^1 é hidrogénio, R^2 e R^3 são α-hidroxi, R^{10} é amino, e R^5, R^6, R^7, R^8 e R^{11} são hidrogénio, então R^9 não é ciano nem $CONH_2$.

Os compostos de fórmula I são úteis como inibidores da ARN polimerase viral ARN-dependente e em particular da polimerase NS5B do VCH. Eles são também inibidores da replicação viral do ARN ARN-dependente e em particular da replicação do VCH e são úteis para o tratamento da infecção viral do ARN ARN-dependente e em particular para o tratamento da infecção do VCH.

Também dentro do presente invento estão as composições farmacêuticas que contêm os compostos isoladamente ou em combinação com outros agentes activos contra o vírus do ARN ARN-dependente e em particular contra o VCH, bem como métodos de inibição da replicação viral do ARN ARN-dependente e para o tratamento da infecção viral do ARN ARN-dependente.

DESCRIÇÃO DETALHADA DO INVENTO

O presente invento refere-se a compostos de fórmula estrutural I com a configuração estereoquímica indicada:



(I)

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável;

em que R^1 é alquenilo C_{2-4}, alquinilo C_{2-4}, ou alquilo C_{1-4}, em que alquilo é insubstituído ou substituído por hidroxi, amino, alcoxi C_{1-4}, alquil C_{1-4}-tio, ou um a três átomos de flúor;

R^2 é hidrogénio, flúor, hidroxi, mercapto, alcoxi C_{1-4}, e alquilo C_{1-4}; ou R^1 e R^2 em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados formam um sistema de anel monocíclico saturado de 3 a 6 membros que contem facultativamente um heteroátomo seleccionado entre O, S e alquilo NC_{0-4};

R^3 e R^4 são cada um seleccionados independentemente dentro do grupo que consiste em hidrogénio, ciano, azido, halogénio, hidroxi, mercapto, amino, alcoxi C_{1-4}, alquenilo C_{2-4}, alquinilo C_{2-4}, e alquilo C_{1-4}, em

que alquilo é insubstituído ou substituído por hidroxi, amino, alcoxi C_{1-4}, alquil C_{1-4}-tio, ou um a três átomos de flúor;

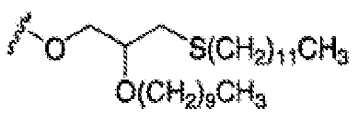
R^5 é hidrogénio, alquil C_{1-10}-carbonilo, $P_3O_9H_4$, $P_2O_6H_3$, ou $P(O)R^{13}R^{14}$;

R^6 e R^7 são cada um independentemente hidrogénio, metilo, hidroximetilo, fluorometilo; R^8 é hidrogénio, alquilo C_{1-4}, alquinilo C_{2-4}, halogénio, ciano, carboxi, alcoxi C_{1-4}-carbonilo, azido, amino, alquil C_{1-4}-amino, di(alquil C_{1-4})amino, hidroxi, alcoxi C_{1-6}, alquil C_{1-6}-tio, alquil C_{1-6}-sulfonilo, (alquil C_{1-4})$_{0-2}$ aminometilo, ou ciclo-heteroalquilo C_{4-6}, insubstituído ou substituído por um a dois grupos seleccionados independentemente entre halogénio, hidroxi, amino, alquilo C_{1-4}, e alcoxi C_{1-4}; R^9 é hidrogénio, ciano, nitro, alquilo C_{1-3}, $NHCONH_2$, $CONR^{12}R^{12}$, $CSNR^{12}R^{12}$, $COOR^{12}$, $C(=NH)NH_2$, hidroxi, alcoxi C_{1-3}, amino, alquilamino C_{1-4}, di(alquil C_{1-4})amino, halogénio, (1,3-oxazol-2-ilo), (1,3-tiazol-2-ilo), ou (imidazol-2-ilo); em que alquilo é insubstituído ou substituído por um a três grupos seleccionados independentemente entre halogénio, amino, hidroxi, carboxi, e alcoxi C_{1-3};

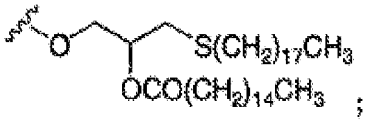
R^{10} e R^{11} são cada um independentemente hidrogénio, hidroxi, halogénio, alcoxi C_{1-4}, amino, alquil C_{1-4}-amino, di(alquil C_{1-4})amino, cicloalquil C_{3-6}-amino, di(cicloalquil C_{3-6})amino, ou ciclo-heteroalquilo C_{4-6}, insubstituído ou substituído por um ou dois grupos seleccionados independentemente entre halogénio, hidroxi, amino, alquilo C_{1-4}, e alcoxi C_{1-4}; cada R^{12} é

independentemente hidrogénio ou alquilo C_{1-6}; e

R^{13} e R^{14} são cada um independentemente hidroxi, $OCH_2CH_2SC(=O)$alquilo C_{1-4}, $OCH_2O(=O)O$alquilo C_{1-4}, $NHCHMeCO_2Me$, $OCH($alquil $C_{1-4})O(C=O)$alquilo C_{1-4},



ou

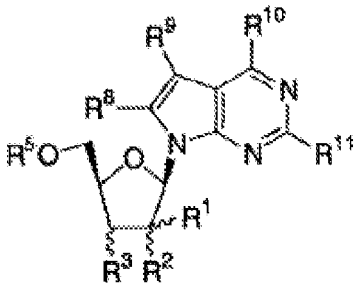


;

com a condição de quando R^1 é β-metilo e R^4 é hidrogénio ou R^4 é β-metilo e R^1 é hidrogénio, R^2 e R^3 são α-hidroxi, R^{10} é amino, e R^5, R^6, R^7, R^8 e R^{11} são hidrogénio, então R^9 não é ciano ou $CONH_2$.

Os compostos de fórmula I são úteis como inibidores da ARN polimerase viral ARN-dependente. Eles são também inibidores da replicação viral do ARN ARN-dependente e são úteis para o tratamento de uma infecção viral do ARN ARN-dependente.

Num modo de realização dos compostos de fórmula estrutural I encontram-se os compostos de fórmula estrutural II:



(II)

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável;

em que

R^1 é alquilo C_{1-3}, em que alquilo é insubstituído ou substituído por hidroxi, amino, alcoxi C_{1-3}, alquil C_{1-3}-tio, ou um a três átomos de flúor;

R^2 é hidroxi, flúor, ou alcoxi C_{1-3};

R^3 é hidrogénio, halogénio, hidroxi, amino, ou alcoxi C_{1-3};

R^5 é hidrogénio, $P_3O_9H_4$, $P_2O_6H_3$, ou PO_3H_2;

R^8 é hidrogénio, amino, ou alquil C_{1-4}-amino;

R^9 é hidrogénio, ciano, metilo, halogénio, ou $CONH_2$; e

R^{10} e R^{11} são cada um independentemente hidrogénio, halogénio, hidroxi, amino, alquil C_{1-4}-amino, di(alquil C_{1-4})amino, ou ciclo C_{3-6}-alquilamino;

com a condição de que quando R^1 é β-metilo, R^2 e R^3 são α-hidroxi, R^{10} é amino, e R^5, R^8 e R^{11} são hidrogénio, então R^9 não é ciano ou $CONH_2$.

Num segundo modo de realização dos compostos de fórmula estrutural I encontram-se os compostos de fórmula estrutural II, em que:

R^1 é metilo, fluorometilo, hidroximetilo, difluorometilo, trifluorometilo, ou aminometilo;

R^2 é hidroxi, flúor, ou metoxi;

R^3 é hidrogénio, flúor, hidroxi, amino, ou metoxi;

R^5 é hidrogénio ou $P_3O_9H_4$;

R^8 é hidrogénio ou amino;

R^9 é hidrogénio, ciano, metilo, halogénio, ou $CONH_2$; e

R^{10} e R^{11} são cada um independentemente hidrogénio, flúor, hidroxi, ou amino;

Com a condição de que quando R^1 é β-metilo, R^2 e R^3 são α-hidroxi, R^{10} é amino, e R^5, R^8, e R^{11} são hidrogénio, então R^9 não é ciano ou $CONH_2$.

Exemplos ilustrativos mas não limitativos de compostos do presente invento que são úteis como inibidores da ARN polimerase viral ARN-dependente são os seguintes:

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

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

4-metilamino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,

4-dimetilamino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,

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

4-amino-7-(2-*C*-vinil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,

4-amino-7-(2-*C*-hidroximetil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,

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

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

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

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

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

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

2,4-diamino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,

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

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

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

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

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

7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-4(3*H*)-one,

2-amino-5-metil-7-(2-*C*,2-O-dimetil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-4(3*H*)-one,

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

4-amino-7-(3-desoxi-2-*C*-metil-β-D-arabinofuranosil)-7*H*-

pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-2-fluor-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-7-(2,4-di-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina, e
4-amino-7-(3-desoxi-3-fluor-2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina;

e os 5'-trifosfatos correspondentes;
ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

Exemplos ilustrativos complementares do presente invento são os compostos seleccionados dentro do grupo que consiste em:

4-amino-7-(2-*C*-metil-β-D-arabinofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-7-(2-*C*-fluorometil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-5-metil-7-(2-*C*-metil-β-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-5-bromo-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-5-cloro-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-5-fluor-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina, e

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

e os 5'-trifosfatos correspondentes;
ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

De acordo com o modelo de realização do presente invento, os compostos de nucleósido do presente invento são úteis como inibidores da polimerase viral de ARN ARN-dependente de hélice simples e de sentido positivo, como inibidores da replicação viral de ARN ARN-dependente de hélice simples e de sentido positivo, e/ou para o tratamento de uma infecção viral de ARN ARN-dependente de hélice simples e de sentido positivo. De acordo com uma classe deste modo de realização, o vírus ARN ARN-dependente de hélice simples e de sentido positivo é um vírus de *Flaviviridae***** ou um vírus *Picornaviridae.* De acordo com uma subclasse desta classe, o vírus *Picornaviridae,* é um rinovirus, um polivirus, ou um vírus A da hepatite. De acordo com uma segunda subclasse desta classe, o vírus *Flaviviridae* é seleccionado dentro do grupo que consiste no vírus C da hepatite, no vírus da febre amarela, no vírus do dengue, no vírus do Nilo Ocidental, no vírus da encefalite Japonesa, no vírus Banzi, e no virs da diarreia viral bovina (VDVB). De acordo com uma subclasse destas subclasses, o vírus *Flaviviridae* é o vírus C da hepatite.

Um outro aspecto do presente invento diz respeito a um método para inibir a polimerase viral de ARN ARN-

dependente, a um método para inibição da replicação viral de ARN ARN-dependente, e/ou a um método para tratamento de uma infecção viral de ARN ARN-dependente num mamífero com necessidade do mesmo, que compreende a administração ao mamífero de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto com a fórmula estrutural I.

De acordo com um modo de realização deste aspecto do presente invento, a polimerase viral de ARN ARN-dependente é uma polimerase viral de ARN ARN-dependente de hélice simples e de sentido positivo. De acordo com uma classe deste modo de realização, a polimerase viral de ARN ARN-dependente de hélice simples e de sentido positivo é uma polimerase viral de *Flaviviridae* ou uma polimerase viral de *Picornaviridae*. De acordo com uma subclasse desta sublasse a polimerase viral de *Picornaviridae* é a polimerase do rinovirus, a polimerase do poliovirus, ou a polimerase do vírus A da hepatite. De acordo com uma subclasse desta classe, a polimerase viral de *Flaviviridae* é seleccionada dentro do grupo que consiste na polimerase do vírus C da hepatite, na polimerase do vírus da febre amarela, na polimerase do vírus dengue , na polimerase do vírus do Nilo Ocidental, na polimerase do vírus da encefalite Japonesa, na polimerase do vírus Banzi, e na polimerase do vírus da diarreia viral bovina (VDVB). De acordo com uma subclasse desta subclasse, a polimerase viral de *Flaviviridae* é a polimerase do vírus C da hepatite.

De acordo com o segundo modo de realização deste aspecto do presente invento, a replicação viral de ARN ARN-dependente é uma replicação viral de ARN ARN-dependente de hélice simples e de sentido positivo. De acordo com uma classe deste modo de realização, a replicação viral de ARN ARN-dependente de hélice simples e de sentido positivo é a replicação viral de *Flaviviridae* ou a replicação viral de *Picornaviridae*. De acordo com uma subclasse desta classe, a replicação viral de *Picornaviridae* é a replicação do rinovirus, replicação do polivirus, ou replicação do vírus A da hepatite. De acordo com uma segunda subclasse desta classe, a replicação viral de *Flaviviridae* é seleccionada dentro do grupo que consiste na replicação do vírus C da hepatite, na replicação do vírus da febre amarela, na replicação do vírus dengue, na replicação do vírus do Nilo Ocidental, na replicação do vírus da encefalite Japonesa, na replicação do vírus Banzi, e na replicação do vírus da diarreia viral bovina (VDVB). De acordo com uma subclasse desta subclasse, a replicação viral de *Flaviviridae* é a replicação do vírus C da hepatite.

De acordo com um terceiro modo de realização deste aspecto do presente invento, a infecção viral de ARN ARN-dependente é uma infecção viral de ARN ARN-dependente de hélice simples e de sentido positivo. De acordo com uma classe deste modo de realização, a infecção viral de ARN ARN-dependente de hélice simples e de sentido positivo é uma infecção viral de *Flaviviridae* ou uma infecção viral de *Picornaviridae.* De acordo com uma subclasse desta classe, a

infecção viral de *Picornaviridae* é a infecção do rinovirus, infecção do polivirus, ou infecção do vírus A da hepatite. De acordo com uma segunda subclasse desta classe, a infecção viral de *Flaviviridae* é seleccionada dentro do grupo que consiste na infecção do vírus C da hepatite, na infecção do vírus da febre amarela, na infecção do vírus dengue , na infecção do vírus do Nilo Ocidental, na infecção do vírus da encefalite Japonesa, na infecção do vírus Banzi, e na infecção do vírus da diarreia viral bovina (VDVB). De acordo com uma subclasse desta subclasse, a infecção viral de *Flaviviridae* é a infecção do vírus C da hepatite.

Ao longo do presente pedido de patente, os seguintes termos têm os significados indicados:

Os grupos alquilos referidos anteriormente destinam-se a incluir aqueles grupos alquilo com o cumprimento designado para configuração linear ou ramificada. Exemplificativos de tais grupos alquilo são metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, butilo terceário, pentilo, isopentilo, hexilo, iso-hexilo, etc.

O termo "alquenilo" significa alquenos de cadeia linear ou ramificada de dois a seis átomos de carbono no total, ou de qualquer número dentro desta gama (por exemplo, etenilo, propenilo, butenilo, pentinilo, etc.)

O termo "alquinilo" significa alquinos de cadeia

linear ou ramificada de dois a seis átomos de carbono no total, ou de qualquer número dentro desta gama (por exemplo, etinilo, propinilo, butinilo, pentinilo, etc.).

O termo "cicloalquilo" significa anéis cíclicos de alcanos de três a oito átomos de carbono no total, ou de qualquer número dentro desta gama (por exemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-heptilo, ou ciclooctilo).

O termo "ciclo-heteroalquilo" pretende incluir heterociclos não aromáticos que contêm um ou dois heteroatomos seleccionados entre azoto, oxigénio e enxofre. Exemplos de ciclo-heteroalquilo de quatro a seis membros incluem azetedinilo, pirrolidinilo, piperidinilo, morfolinilo, tiamorfolinilo, imidazolidinilo, tetra-hidrofuranilo, tetra-hidropiranilo, tetra-hidrotiofenilo, piperazinilo, etc.

O termo "alcoxi" refere-se a alcoxidos de cadeia linear ou ramificada com o número de átomos de carbono especificado (por exemplo alcoxi C_{1-4}) ou qualquer número dentro desta gama [*i.e.*, metoxi (MeO-), etoxi, isopropoxi, etc.].

O termo "alquiltio" refere-se a alquilsulforetos de cadeia linear ou ramificada com o número de átomos de carbono especificado (por exemplo alquiltio C_{1-4}) ou

qualquer número dentro desta gama [*i.e.*, metiltio (MeS-), etiltio, isopropiltio, etc.].

O termo "alquilamino" refere-se a alquilaminas lineares ou ramificadas com o número de átomos de carbono especificado (por exemplo alquilamino C_{1-4}) ou qualquer número dentro desta gama [*i.e.*, metilamino, etilamino, isopropilamino, t-butilamino, etc.].

O termo "alquilsulfonilo" refere-se a alquilsulfonas de cadeia linear ou ramificada com o número de átomos de carbono especificado (por exemplo alquilsulfonilo C_{1-6}) ou qualquer número dentro desta gama [*i.e.*, metilsulfonil ($MeSO_2$-), etilsulfonilo, isopropilsulfonilo, etc.].

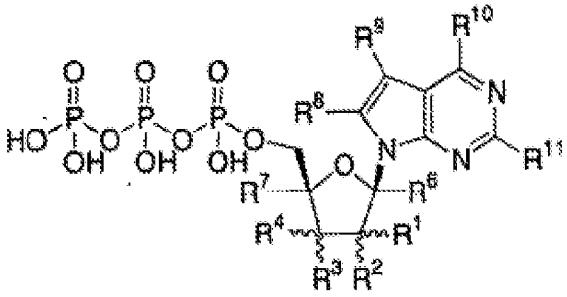
O termo "alquiloxicarbonilo" refere-se a ésteres de cadeia linear ou ramificada de um derivado de ácido carboxílico do presente invento com o número de átomos de carbono especificado (por exemplo alquil C_{1-4}-oxicarbonilo) ou qualquer número dentro desta gama [*i.e.*, metiloxicarbonilo (MeOCO-), etiloxicarbonilo, ou butiloxicarbonilo, etc.].

O termo "arilo" inclui fenilo, naftilo, e piridilo. O grupo arilo é facultativamente substituído por um a três grupos independentemente seleccionados entre alquilo C_{1-4}, halogéneo, ciano, nitro, trifluorometilo, alcoxi C_{1-4}, e alquil C_{1-4}-tio.

O termo "halogéneo" pretende incluir os átomos de halogéneo de flúor, cloro, bromo e iodo.

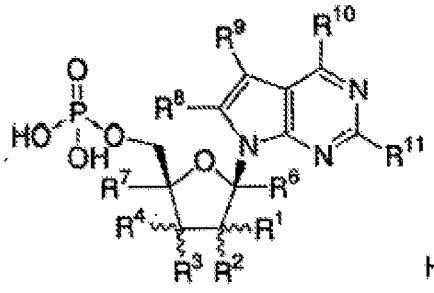
O termo "substituído" pretende incluir múltiplos graus de substituição por um substituinte designado. Quando porções substituintes múltiplas são divulgadas ou reinvindicadas, o composto substituído pode ser substituído independentemente por uma ou mais das porções substituintes divulgadas ou reivindicadas, individual ou pluralmente.

O termo "5'-trifosfato" refere-se a um derivado do éster do ácido trifosfórico do grupo 5'-hidroxilo de um composto nucleósido do presente invento com a seguinte fórmula estrutural geral III.

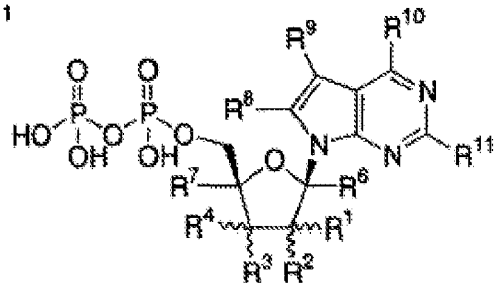


(III)

em que R^1-R^{11} são como definidos anteriormente. Os compostos do presente invento pretendem também incluir os sais farmaceuticamente aceitáveis do éster trisfosfato, bem como os sais farmaceuticamente aceitáveis dos derivados do éster 5'-monofosfato e 5'-difosfato das fórmulas estruturais IV e V, respectivamente,

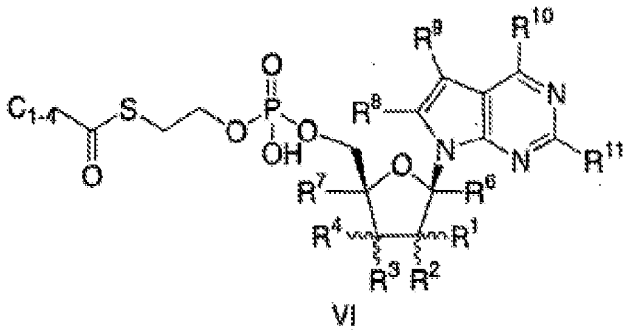


(IV)

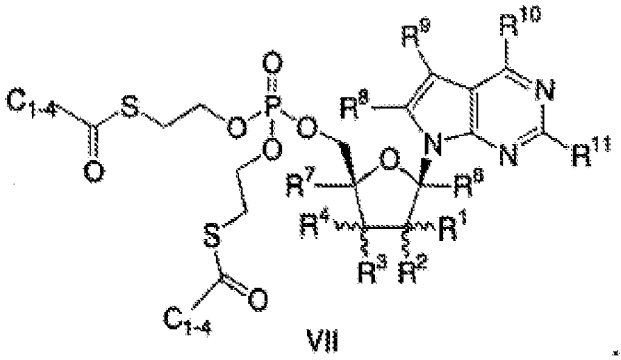


(V)

O termo "5'-(S-acil-2-tioetilo)fosfato" ou "SATE" refere-se a um derivado de mono- ou di-éster de um derivado de nucleósido de 5'-monofosfato do presente invento com as fórmulas estruturais VI e VII, respectivamente, bem como aos sais farmaceuticamente aceitáveis do mono-éster.



VI



VII

O termo "composição", bem como "composição farmacêutica", pretende abranger um produto que compreende o ingrediente activo e o ingrediente inerte que constitui o veículo, bem como qualquer produto que resulte, directa ou indirectamente, da combinação, complexação ou agregação de qualquer dois ou mais dos ingrediente, ou da dissociação de um ou mais dos ingredientes, ou a partir de outros tipos de reacções ou interacções de um ou mais dos ingredientes. Deste modo, as composições farmacêuticas do presente invento abrangem qualquer composição feita por mistura de um composto do presente invento com um veículo farmaceuticamente aceitável.

O termo "administração de" um composto deve ser entendido como significando proporcionar um composto do invento ou um pró-fármaco de um composto do invento a um indivíduo com necessidade do mesmo.

Um outro aspecto do presente invento refere-se a um método de inibição da polimerase NS5B do VCH, de inibição da replicação do VCH, ou de tratamento de uma infecção do VCH com um composto do presente invento em combinação com um ou mais agentes úteis para o tratamento de uma infecção do VCH. Estes agentes que são activos contra o VCH incluem, mas não estão limitados a, ribavirina, levovirina, viramidina, timosina alfa-1, interferão-α, interferão-α pegilado (peginterferão-α), uma combinação de interferão-α e ribavirina, uma combinação de

peginterferão-α e ribavirina, uma combinação de interferão-α e levovirina, e uma combinação de peginterferão-α e levovirina. O interferão-α inclui, mas não está limitado a, interferão-α2a recombinante (tal como interferão Roferon disponível na Hoffmann-LaRoche, Nutley, NJ), interferão-α2a pegilado (pegasys™), interferão-α2b (tal como interferão Intron-A disponível na Schering Corp., Kenilworth, NJ), interferão-α2b pegilado (Pegintron™), um interferão consensus recombinante (tal como interferão alfacon-1), e um produto de interferão-α purificado. O interferão consensus recombinante de Amgen tem a marca Infergen®. A levovirina é o L-enantiómero de ribavirina que mostrou actividade imunomodulatória similar à da ribavirina. A viramidina representa um análogo de ribavirina divulgado em WO 01/60379 (concedida à ICN Pharmaceuticals). De acordo com o método do presente invento, os componentes individuais da combinação podem ser administrados separadamente em alturas diferentes durante o curso da terapia ou concorrentemente em formas de combinação divididas ou individuais. O presente invento deve ser entendido como abrangendo todos estes regimes de tratamento simultâneos ou alternados, e o termo "administração" deve ser interpretado do mesmo modo. Entenda-se que o âmbito das combinações dos compostos deste invento com outros agentes úteis para o tratamento de uma infecção do VCH inclui em princípio qualquer combinação com qualquer composição farmacêutica para o tratamento de uma infecção de VCH. Quando um composto do presente invento ou um seu sal farmaceuticamente aceitável é utilizado em combinação com um segundo agente terapêutico

activo contra o VCH, a dose de cada composto pode ser a mesma que ou diferente da dose quando o composto é utilizado isoladamente.

Para o tratamento da infecção do VCH, os compostos do presente invento podem também ser administrados em combinação com um agente que seja um inibidor da protease serina NS3 do VCH. A protease serina NS3 do VCH é um enzima viral essencial e foi descrito como sendo um excelente alvo para inibição da replicação do VCH. Ambos os inibidores baseados no substrato e no não-substrato da protease NS3 do VCH são divulgados na WO 98/22496, WO 98/46630, WO 99/07733, WO 99/07734, WO 99/38888, WO 99/50230, WO 99/64442, WO 00/09543, WO 00/59929, e GB-2337262. A protease NS3 do VCH como um alvo para o desenvolvimento de inibidores da replicação do VCH e para o tratamento de uma infecção do VCH é divulgada em B.W. Dymock, "Emerging therapies for hepatitis C virus infection", Emerging Drugs, 6:13-42 (2001).

A ribavirina, a levovirina e a viramidina podem exercer os seus efeitos anti-VCH por modulação dos espaços intracelulares de nucleótidos de guanina via inibição da desidrogenase de monofosfato de inosina (DIMFI) do enzima intracelular. A DIMFI é o enzima limitador da velocidade na via biosintética da biosíntese do nucleótido de guanina *de novo*. A ribavirina é prontamente fosforilada intracelularmente e o derivado de monofosfato é um inibidor da DIMFI. Assim, a inibição da DIMFI representa um outro alvo útil

para a descoberta de inibidores da replicação do VCH. Por isso, os compostos do presente invento podem também ser administrados em combinação com um inibidor da DIMFI, tal como VX-497, o qual é divulgado na WO 97/41211 e WO 01/00622 (concedida a Vertex); com um outro inibidor da DIMFI, tal como divulgado na WO 00/25780 (concendida a Bristol-Myers Squibb); ou com mofetilo de micofenolato [ver A.C. Allison e E.M. Eugui, Agents Action, 44 (Suppl.): 165 (1993)].

Para o tratamento da infecção do VCH, os compostos do presente invento podem também ser administrados em combinação com amantadina do agente antiviral (1-aminoadamantano) [para uma descrição completa deste agente, ver J. Kirschbaum, Anal. Profiles Drug Subs. 12:1-36 (1983)].

Por "farmaceuticamente aceitável" pretende-se dizer que o veículo, diluente ou excipiente deve ser compatível com os outros ingredientes da formulação e não deve ser prejudicial para o respectivo recipiente.

Também incluído dentro do âmbito do presente invento estão as composições farmacêuticas que compreendem os compostos e os seus derivados de nucleósidos do presente invento em associação com um veículo farmaceuticamente aceitável. Um outro exemplo do invento é uma composição farmacêutica feita por combinação de qualquer um dos compostos descritos anteriormente com um veículo farmaceu-

ticamente aceitável. Uma outra forma ilustrativa do invento é um processo para preparar uma composição farmacêutica que compreende a combinação de qualquer um dos compostos descritos anteriormente com um veículo farmaceuticamente aceitável.

Também incluídas dentro do âmbito do presente invento estão as composições farmacêuticas úteis para inibir a ARN polimerase viral ARN-dependente, em particular polimerase NS5B do VCH, que compreendem uma quantidade eficaz de um composto do presente invento e um veículo farmaceuticamente aceitável. As composições farmacêuticas úteis para o tratamento de uma infecção viral do ARN ARN-dependente, em particular uma infecção do VCH, estão também abrangidas pelo presente invento, bem como um método de inibição da ARN polimerase viral ARN-dependente, em particular polimerase NS5B do VCH, e um método de tratamento de uma replicação viral do ARN ARN-dependente e em particular de uma replicação do VCH. Além disso, o presente invento refere-se a uma composição farmacêutica que compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto do presente invento em combinação com uma quantidade terapeuticamente eficaz de um outro agente activo contra o vírus do ARN ARN-dependente e em particular contra o VCH. Agentes activos contra o VCH incluem, sem estar limitados, a ribavirina, levovirina, viramidina, timosina alfa-1, um inibidor da protease serina NS3 do VCH, interferão-α, interferão-α pegilado (peginterferão-α), uma combinação de interferão-α e ribavirina, uma combinação de

peginterferão-α e ribavirina, uma combinação de interferão-α e levovirina, e uma combinação de peginterferão-α e levovirina. O interferão-α inclui, sem estar limitado, o interferão-α2a recombinante (tal como interferão Roferon disponível na Hoffmann-LaRoche, Nutley, NJ), interferão-α2b (tal como Intron-A interferão disponível na Schering Corp., Kenilworth, NJ, um interferão consensus, e um produto de interferão-α purificado. Para uma análise da ribavirina e da sua actividade contra o VCH, ver J.O. Saunders e S.A. Raybuck, "inosine Monophosphate Dehydrogenase: Consideration of structure, Kinetics, and Therapeutic Potential", Ann. Rep. DEM. Chem., 35: 201-210 (2000).

Um outro aspecto do presente invento proporciona a utilização dos compostos de nucleósido e seus derivados e as suas composições farmacêuticas para a manufactura de um medicamento para a inibição de uma replicação viral de ARN ARN-dependente em particular replicação do VCH, e/ou para o tratamento da infecção viral de ARN ARN-dependente, em particular a infecção do VCH. Ainda um outro aspecto do presente invento proporciona compostos de nucleósido e seus derivados e suas composições farmacêuticas para utilização como um medicamento para inibição da replicação viral de ARN ARN-dependente, em particular replicação do VCH, e/ou para o tratamento da infecção viral de ARN ARN-dependente, em particular a infecção do VCH.

As composições farmacêuticas do presente invento compreendem um composto com a fórmula estrutural I como

ingrediente activo ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e podem conter um veículo farmaceuticamente aceitável e facultativamente outros ingredientes terapêuticos.

As composições incluem composições adequadas para administração oral, rectal, tópica, parentérica (incluindo subcutânea, intramuscular, e intravenosa), ocular (oftálmica), pulmonar (inalação nasal ou bocal) ou nasal, embora a via mais adequada em qualquer caso esteja dependente da natureza e gravidade do estado a tratar e da natureza do ingrediente activo. Elas podem apresentar-se convenientemente na forma de dosagem unitária e ser preparadas por quaisquer dos métodos bem conhecidos na técnica da farmácia.

Em utilização práctica, os compostos de fórmula estrutural I podem ser combinados como o ingrediente activo numa mistura total com um veículo farmacêutico de acordo com as técnicas farmacêuticas convencionais de preparação de compostos. O veículo pode tomar uma variedade ampla de formas dependendo da forma de preparação desejada para a administração, por exemplo, oral ou parentérica (incluindo intravenosa). Na preparação das composições para a forma de dosagem oral, podem-se empregar quaisquer dos meios farmacêuticos correntes, tais como, por exemplo, água, glicóis, óleos, álcoois, agentes aromatizantes, preservativos, agentes corantes, etc., no caso de preparações líquidas orais, tais como, por exemplo, suspensões, elixires, e soluçoes; ou veículos, tais como amidos, açúcares, celulose

microcristalina, diluentes, agentes granuladores, lubrificantes, ligantes, agentes desintegrantes, etc., no caso de preparações sólidas orais tais como por exemplo pós, cápsulas rijas e macias e comprimidos, sendo as preparações orais sólidas preferidas em relação às preparações líquidas.

Devido à facilidade de administração, os comprimidos e cápsulas representam a forma unitária de dosagem oral mais vantajosa, em cujo caso os veículos farmacêuticos sólidos são obviamente empregues. Se desejado, os comprimidos podem ser revestidos por técnicas aquosas ou não aquosas correntes. Tais composições e preparações devem conter pelo menos 0,1% do composto activo. A percentagem do composto activo nestas composições pode, evidentemente, variar e podem estar convenientemente entre cerca de 2% e cerca de 60% do peso da unidade. A quantidade de composto activo em tais composições terapeuticamente úteis é tal que se obtém uma dosagem eficaz. Os compostos activos podem também ser administrados intranasalmente na forma, por exemplo, de pulverizações ou gotas líquidas.

Os comprimidos, pílulas, cápsulas, etc., podem também conter um ligante tal como goma de tragacanto, acácia, amido de milho ou gelatina; excipientes tais como fosfato de dicálcio; um agente desintegrante tal como amido de milho, amido de batata, ácido algínico; um lubrificante tal como estearato de magnésio; e um agente edulcorante tal como sacarose, lactose ou sacarina. Quando uma forma de

dosagem unitária é uma cápsula, ela pode conter, para além dos materiais do tipo anterior, um veículo líquido tal como óleo gordo.

Vários outros materiais podem estar presentes como revestimentos, ou para modificar a forma física da dosagem unitária. Por exemplo, os comprimidos podem ser revestidos com goma-laca, açúcar, ou ambos. Um xarope ou elixir pode conter, para além do ingrediente activo, sacarose, como agente edulcorante, metil e propilparabéns como preservativos, uma tinta e um aromatizante tal como cereja ou aroma de laranja.

Os compostos de fórmula estrutural I podem também ser administrados parentericamente. As soluções ou suspensões destes compostos activos podem ser preparadas em água adequadamente misturados com um agente tensioactivo tal como hidroxi-propilcelulose. As dispersões podem também ser preparadas em glicerol, polietilenoglicóis líquidos e suas misturas em óleos. Sob condições ordinárias de armazenagem e utilização, estas preparações contêm um preservativo para prevenir o crecimento de microorganismos.

As formas farmacêuticas adequadas para utilização injectável incluem soluções ou dispersões aquosas esterilizadas e pós ésterilizados para a prepareção extemporânea de soluções ou dispersões injectáveis e esterilizadas. Em todos os caso, a forma deve ser esterilizada e deve ser fluida de modo que exista seringabilidade fácil. Deve ser

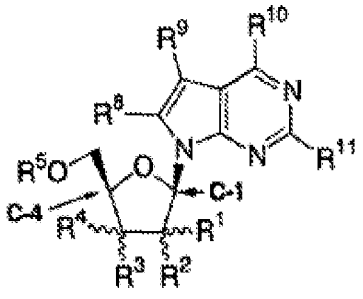
estável sob as condições de manufactura e armazenagem e deve ser preservada contra a acção contaminante de microorganismos tais como bactérias e fungos. O veículo pode ser um meio solvente ou dispersante que contenha, por exemplo, água, etanol, poliol (por exemplo glicerol, propilenoglicol e polietilenoglicol líquido), as suas misturas adequadas, e óleos vegetais.

Pode-se empregar qualquer via adequada de administração para fornecer a um mamífero, especialmente a um ser humano, uma dosagem eficaz de um composto do presente invento. Por exemplo, pode-se empregar a via oral, rectal, tópica, parentérica, ocular, pulmunar, nasal, etc. As formas de dosagem incluem comprimidos, trociscos, dispersões, suspensões, soluções, cápsulas, cremes, ungentos, aerosois, etc. De preferência, os compostos com a fórmula estrutural I são administrados oralmente.

Para admnistração oral a seres humanos, a dosagem varia entre 0,01 e 1.000 mg/kg de peso corporal em doses divididas. Num modo de realização, a dosagem varia entre 0,1 e 100 mg/Kg de peso corporal em doses divididas. Num outro modo de realização, a dosagem varia entre 0,5 e 20 mg/Kg de peso corporal em doses divididas. Para administração oral, as composições são de preferência proporcionadas na forma de comprimidos ou cápsulas que contêm 1,0 a 1000 mg do ingrediente activo, particularmente, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 750, 800, 900, e 1.000 mg do ingrediente activo para ajustamento sintomático da dosagem ao doente a ser tratado.

A dosagem eficaz do ingrediente activo empregue pode variar dependendo do composto particular empregue, do modo de administração, do estado a ser tratado e da gravidade do estado a tratar. Esta dosagem pode ser definida rapidamente por um especialista na técnica. Este regime de dosagem pode ser ajustado para proporcionar a resposta terapêutica óptima.

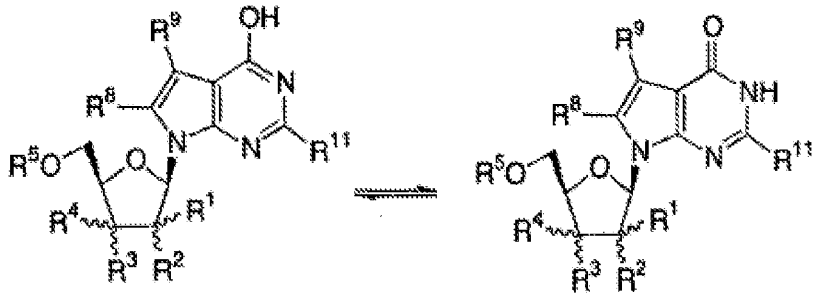
Os compostos do presente invento contêm um ou mais centro assimétricos e podem ocorrer como racematos e misturas racémicas, enantiómeros individuais, misturas diastereoméricas e diastereómeros individuais. O presente invento pretende compreender compostos de nucleósidos com a configuração estereoquímica β-D para o anel de furanose de cinco membros como definido na fórmula estrutural seguinte, isto é, compostos de nucleósidos em que o substituinte em C-1 e C-4 do anel de furanose de cinco membros possui a configuração β-estereoquímica (orientação "para cima" como indicado pela linha a cheio).



β-D-

Alguns dos compostos descritos aqui contêm ligações duplas ou olefínicas e, a menos que definido em contrário, pretendem incluir ambos os isómeros geométricos E e Z.

Alguns dos compostos descritos aqui podem existir como tautómeros tais como tautómeros de ceto-enol. Os tautómeros individuais, bem como misturas dos mesmos, são abrangidos pelos compostos de fórmula estrutural I. Um exemplo de tautómeros de ceto-enol que se pretende que estejam abrangidos pelos compostos do presente invento é ilustrado a seguir:

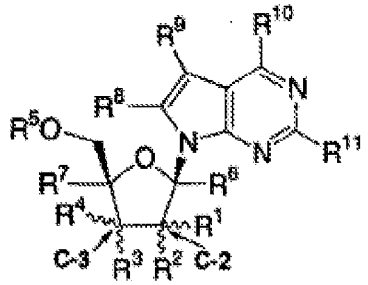


Os compostos de fórmula estrutural I podem ser separados nos seus diastereoisómeros individuais, por exemplo, por cristalização fraccionada a partir de um solvente adequado, por exemplo metanol ou acetato de etilo ou uma mistura dos mesmos, ou via cromatografia viral por utilização de uma fase estacionária opticamente activa.

Alternativamente, qualquer estereoisómero de um composto da fórmula estrutural I pode ser obtido por síntese estereoespecífica por utilização de materiais de

partida opticamente puros ou reagentes de configuração conhecida.

A éstereoquímica dos substituintes nas posições C-2 e C-3 do anel furanose dos compostos do presente invento de fórmula estrutural I é indentificada pelas linhas onduladas que significam que os substituintes R^1, R^2, R^3 e R^4 podem ter a configuração α (substituinte "em baixo") ou β (substituinte "em cima") independentemente um dos outros. A representação da estereoquímica por uma linha a cheio como em C-1 e C-4 do anel furanose significa que o substituinte tem uma configuração-β (substituinte "em cima").



(I)

Os compostos do presente invento podem ser administrados na forma de um sal farmaceuticamente aceitável. O termo sal "farmaceuticamente aceitável" refere-se a sais preparados a partir de bases ou ácidos não tóxicos farmaceuticamente aceitáveis incluindo bases inorgânicas ou orgânicas e ácidos inorgânicos ou orgânicos. Os sais de compostos básicos abrangidos pelo termo "sal farmaceuticamente aceitável" são sais não tóxicos dos compostos deste invento que são geralmente preparados por reacção da

base livre com um ácido inorgânico ou orgânico adequado. Os sais representativos de compostos básicos do presente invento incluem, sem lhes estar limitados, os seguintes: acetato, benzenossulfonato, benzoato, bicarbonato, bissulfato, bitartarato, borato, brometo, camsilato, carbonato, cloreto, clavulanato, citrato, bicloridrato, edetato, edissilato, estolato, esilato, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato, hexi-Iresorcinato, hidrabamina, bromidrato, cloridrato, hidroxinaftoato, iodeto, isotionato, lactato, lactobionato, laurato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilbrometo, metilnitrato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, sal de amónio de N-metilglucamine, oleato, oxalato, pamoato (embonato), palmitato, pantotenato, fosfato/bifosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, sulfato, subacetato, succinato, tanato, tartarato, teoclato, tosilato, trietiodeto e valerato. Por outro lado, quando os compostos do invento transportam uma porção ácida, os seus sais farmaceuticamente aceitáveis incluem, sem estar limitados, os sais derivados de bases inorgânicas tais como alumínio, amónio, cálcio, cobre, férrico, ferroso, lítio, magnésio, mangânico, mangamoso, potássio, sódio, zinco, etc. Particularmente preferidos são os sais de amónio, cálcio, magnésio, potássio e sódio. Os sais derivados de bases não tóxicas orgânicas farmaceuticamente aceitáveis incluem sais de aminas primárias, secundárias e terciárias, aminas cíclicas e resinas de permuta iónica básicas, tais como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N-dibenziletilenodiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilenodiamina, N-etilmorfolina, N-

etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaina, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina, etc.

Igualmente, no caso em que um ácido carboxílico (-COOH) ou um grupo alcoólico está presente nos compostos do presente invento, podem-se empregar os ésteres farmaceuticamente aceitáveis de derivados de ácido carboxílico, tal como metilo, etilo ou pivaloiloximetilo, ou derivados acilo de álcoois, tais como acetato ou maleato. Incluídos naqueles ésteres e grupos acilo conhecidos na técnica para modificação das características de solubilidade ou de hidrólise para utilização como fórmulações de libertação uniforme ou para um pró-fármaco.

Preparação dos Compostos de Nucleósido e Derivados do Invento

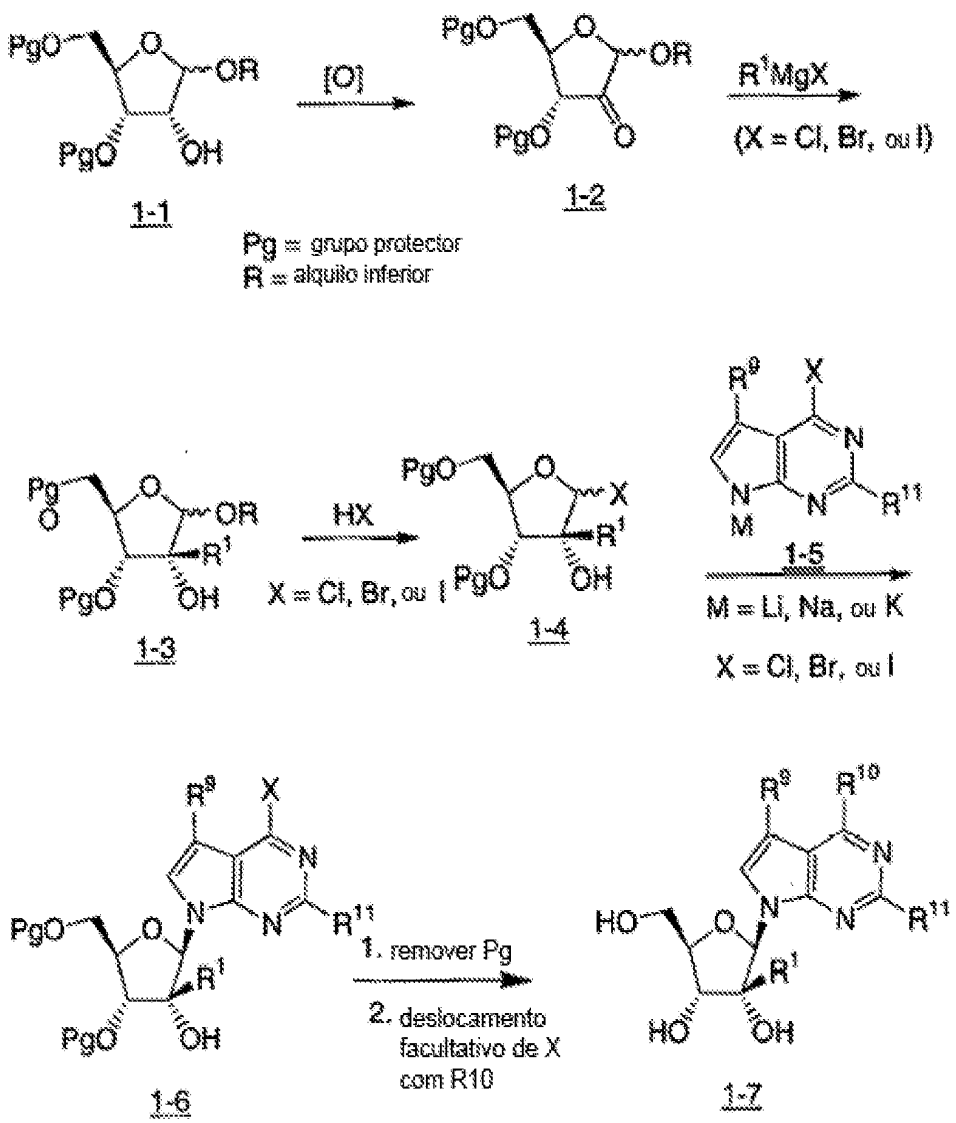
Os compostos de nucleósido e os seus derivados do presente invento podem ser preparados seguindo metodologias sintéticas bem estabelecidas na práctica da química dos nucleósidos e nucleótidos. É feita referência ao texto seguinte para a descrição de métodos sintéticos utilizados na preparação dos compostos do presente invento: "Chemistry of Nucleosides and Nucleotides", L.B. Townsend, ed., Vols. 1-3, Plenum Press, 1988, que é aqui incorporado por referência na sua totalidade.

Um método genérico representativo para a preparação de compostos do presente invento é apresentado no Esquema 1 seguinte. Este esquema ilustra a síntese de compostos do presente invento com a fórmula estrutural 1-7, em que o anel furanose tem a configuaçao β-D-ribo. O material de partida é um furanosido de alquilo 3,5-bis-O-protegido, tal como furanosido metílico, de fórmula estrutural 1-1. O grupo hidroxilo C-2 é então oxidado com um agente oxidante adequado, tal como trióxido de crómio ou um reagente de cromato, periodinano de Dess-Martin ou por oxidação de Swem, para produzir uma cetona C-2 com a fórmula estrutural 1-2. A adição de um reagente de Grinard, tal como um haleto de magnésio de alquilo, alquenilo ou alquinilo (por exemplo MeMgBr, EtMgBr, MgBr de vinilo, MgBr de alquilo, e MgBr de etinilo) ou um lítio de alquilo, de alquenilo ou de alquinilo, tal como MeLi, através da ligação dupla de carbonilo de 1-2 num solvente orgânico adequado, tal como tetra-hidrofurano, éter dietílico, etc., produz o álcool terciário C-2 de fórmula estrutural 1-3. Um grupo de partida adequado (tal como Cl, Br, e I) é a seguir introduzido na posição C-1 (anomérica) do derivado de açúcar de furanose por tratamento do furanosido de fórmula 1-3 com um haleto de hidrogénio num solvente orgânico adequado, tal como brometo de hidrogénio em ácido acético, para produzir o haleto de furanosilo intermediário 1-4. Um sulfonato C-1, tal como metanosulfonato ($MeSO_2O$-), um trifluorometanossulfonato (CF_3SO_2O-), ou um p-toluenossulfonato (-OTs), pode também servir como um grupo de partida útil para a reacção subsequente para produzir a ligação glicosídica (nucleosídica). A ligação nucleosídica

é construída por tratamento do intermediário de fórmula estrutural 1-4 com o sal metálico (tal como lítio, sódio ou potássio) de 1*H*-pirrolo[2,3-d]pirimidina substituída apropriadamente 1-5, tal como uma 4-halo-1*H*-pirrolo[2,3-d]pirimidina substituída apropriadamente que pode ser produzida *in sito* por tratamento com um hidreto alcalino (tal como hidreto de sódio), um hidroxido alcalino (tal como hidroxido de potássio), um carbonato alcalino (tal como carbonato de potássio), ou um hexametildisilazido alcalino (tal como NaHMDS) num solvente orgânico anidro, tal como acetonitrilo, tetra-hidrofurano, 1-metil-2-pirrolidinona, ou N,N-dimetilformamida (DMF). A reacção de deslocação pode ser catalizada por utilização de um catalizador de transferência de fase, tal como TDA-1 ou cloreto de trietilbenzilamónio, num sistema de duas fases (sólido-líquido ou líquido-líquido). Os grupos de protecção facultativos no nucleósido protegido de fórmula estrutural 1-6 são então clivados a seguir a metodologias de desprotecção estabelecidas, tais como aquelas descritas em T.W. Green e P.G.M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis," 3ª Ed., Jonh Wiley & Sons, 1999. A introdução facultativa de um grupo amino na posição-4 do núcleo pirrolo[2,3-d]pirimidina é efectuada por tratamento do intermediário 4-halo 1-6 com a amina apropriada, tal como amoníaco alcoólico ou amoníaco líquido, para produzir uma amina primária na posição C-4 ($-NH_2$), uma alquilamina para produzir uma amina secundária (-NHR), ou uma dialquilamina para produzir uma amina terciária (-NHRR'). Um composto 7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4(3H)ona pode ser derivado por hidrólise de 1-6 com uma base aquosa, tal como hidroxido de

sódio aquoso. A alcoólise (tal como metanólise) de 1-6 produz um alcoxi C-4 (-OR), em que o tratamento com um mercaptido de alquilo C-4 produz um derivado de alquiltio C-4 (-SR). As subsequentes manipulações químicas bem conhecidas dos practicantes da técnica da química orgânica/medicinal podem ser requeridas para obter os compostos desejados do presente invento.

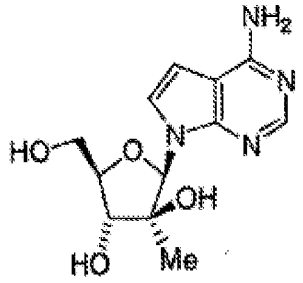
Esquema 1



Os exemplos seguintes contêm citações a publicações da literatura, que contêm pormenores para a preparação dos compostos finais ou intermediários empregues na preparação dos compostos finais do presente invento. Os compostos de nucleósido do presente invento foram preparados de acordo com os processos pormenorizados nos seguintes exemplos. Os exemplos não pretendem limitar o âmbito do presente invento por qualquer modo, e não devem ser entendidos desse modo. Os especialistas na técnica da síntese de nucleósidos e nucleótidos constatarão com facilidade que variações conhecidas das condições e processos dos seguintes procedimentos preparativos podem ser utilizadas para preparar estes e outros compostos do presente invento. Todas as temperaturas são em graus celcius, a menos que indicado de outro modo.

Exemplo 1

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



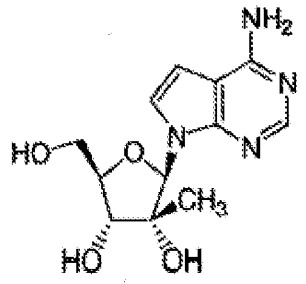
A trióxido de crómio (1,57 g, 1,57 mmoles) em diclorometano (DCM)(10 mL) a 0°C adicionou-se anidrido

acético (145 mg, 1,41 mmoles) e depois piridina (245 mg, 3,10 mmoles). A mistura foi agitada durante 15 minutos, depois adicionou-se uma solução de 7-[3,5-O-[1,1,3,3-tetrakis(1-metiletil)-1,3-disiloxanediil]-β-D-ribofurano-sil]-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4-amina [para a preparação, ver J. Am. Chem. Soc. 105; 4059 (1983)](508 mg, 1,00 mmole) em DCM (3 mL). A solução resultante foi agitada durante 2 horas e foi depois deitada em acetato de etilo (10 mL), e foi subsequentemente filtrada através de sílica gel por utilização de acetato de etilo como eluente. Os filtrados combinados foram evaporados *in vacuo*, foram recolhidos em éter dietílico/THF (1:1) (20 mL), foram arrefecidos até -78°C e adicionou-se gota a gota brometo de metilmagnésio (3M, em THF) (3,30 mL, 10 mmoles). A mistura foi agitada a -78 °C durante 10 minutos, depois foi deixada aquecer até à temperatura ambiente (ta) e foi temperada pela adição de cloreto de amónio aquoso (10 mL) e foi extraída com DCM (20 mL). A fase orgânica foi evaporada *in vacuo* e o produto em bruto foi purificado sobre sílica gel por utilização de 5% de metanol em diclorometano como eluente. As fracções que continham o produto foram reunidas e evaporadas *in vacuo*. O óleo resultante foi recolhido em THF (5 mL) e adicionou-se fluoreto de tetrabutilamónio (TBAF) sobre sílica (1,1 mmoles/g sobre sílica) (156 mg). A mistura foi agitada à ta durante 30 minutos, foi filtrada, e evaporada *in vacuo*. O produto em bruto foi purificado sobre sílica gel por utilização de metanol a 10% em diclorometano como eluente. As fracções que continham o produto foram reunidas e evaporadas *in vacuo* para produzir o composto desejado (49 mg) sob a forma de um sólido incolor.

1H RMN(DMSO-d_6): δ 1,08(s, 3H), 3,67(m, 2H), 3,74(m, 1H), 3,83(m,1H), 5,19(m,1H), 5,23(m,1H), 5,48(m,1H), 6,08(1H,s), 6,50(m,1H), 6,93(bs,2H), 7,33(m,1H), 8,02(s,1H).

EXEMPLO 2

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



Etapa A: 3,5-Bis-O-(2,4-diclorofenilmetil)-1-*O*-metil-α-D-ribofuranose

Uma mistura de 2-*O*-acetil-3,5-bis-*O*-(2,4-diclorofenilmetil)-1-*O*-metil-α-D-ribofuranose [para preparação, ver: Helv. Chim. Acta 78:486 (1995)] (52,4 g, 0,10 mole) em K_2CO_3 metanólico (500 ml, saturado à ta) foi agitada à temperatura ambiente durante 45 minutos, e depois foi concentrada sob pressão reduzida. O resíduo oleoso foi suspenso em CH_2Cl_2 (500 ml), foi lavado com água (300 mL + 5 x 200 mL) e salmoura (200 mL), foi seco em (Na_2SO_4), filtrado, e concentrado para proteger o composto do título (49,0 g) sob a forma de um óleo incolor, que foi utilizado

sem purificação adicional na etapa B seguinte.

^{1}H RMN (DMSO-d_6):δ 3,28 (s, 3H, OCH_3), 3,53 (d, 2H, $J_{5,4}$ = 4,5 Hz, H-5a, H-5b), 3,72 (dd, 1H, $J_{3,4}$ = 3,6 Hz, $J_{3,2}$ = 6,6 Hz, H-3), 3,99 (ddd, 1H, $J_{2,1}$ =4,5 Hz, $J_{2,OH-2}$ = 9,6 Hz, H-2), 4,07 (m, 1H, H-4), 4,50 (s, 2H, CH_2Ph), 4,52, 4,60 (2d, 2H, J_{gem} = 13,6 Hz, CH_2Ph), 4,54 (d, 1H, OH-2), 4,75 (d, 1H, H-1), 7,32-7,45, 7,52-7,57 (2m, 10H, 2Ph).

^{13}C RMN (DMSO-d_6):δ 55,40, 69,05, 69,74, 71,29, 72,02, 78,41, 81,45, 103,44, 127,83, 127,95, 129,05, 129,28, 131,27, 131,30, 133,22, 133,26, 133,55, 133,67, 135,45, 135,92.

Etapa B: 3,5-Bis-*O*-(2,4-diclorofenilmetil)-1-*O*-metil-α-D-*eritro*-pentofuranos-2-ulose

A uma suspensão arrefecida em gelo de periodinato de Dess-Martin (50,0 g, 118 mmoles) em CH_2Cl_2 anidro(350 mL) sob árgon (Ar) adicionou-se uma solução do composto da Etapa A (36,2 g, 75 mmoles) em CH_2Cl_2 anidro (200 mL) gota a gota durante 0,5 h. A mistura de reacção foi agitada a 0°C durante 0,5 h e depois à temperatura ambiente durante 3 dias. A mistura foi diluída com Et_2O anidro (600 mL) e foi deitada numa mistura arrefecida em gelo de $Na_2S_2O_3.5H_2O$ (180 g) em $NaHCO_3$ aquoso saturado (1400 mL). As camadas foram separadas e a camada orgânica foi lavada com $NaHCO_3$ aquoso saturado (600 mL), água (600 mL), e salmoura (600 mL), foi seca ($MgSO_4$), filtrada e evaporada para produzir o composto do título (34,2 g) sob a forma de um óleo incolor, que foi utilizado sem purificação adicional na Etapa C seguinte.

^{1}H RMN ($CDCl_3$):δ 3,50 (s, 3H, OCH_3), 3,79 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ = 11,3 Hz, $J_{5a,4}$ = 3,5 Hz, H-5a), 3,94 (dd, 1H, $J_{5b,4}$ = 2,3 Hz, H-5b), 4,20 (dd, 1H, $J_{3,1}$ = 1,3 Hz, $J_{3,4}$ = 8,4 Hz, H-3), 4,37 (ddd, 1H, H-4), 4,58, 4,69 (2d, 2H, J_{gem} = 13,0 Hz, CH_2Ph), 4,87 (d, 1H, H-1), 4,78, 5,03 (2d, 2H, J_{gem} = 12,5 Hz, CH_2Ph), 7,19-7,26, 7,31-7,42 (2m, 10H, 2Ph).

^{13}C RMN (DMSO-d_6):δ 55,72, 69,41, 69,81, 69,98, 77,49, 78,00, 98,54, 127,99, 128,06, 129,33, 129,38, 131,36, 131,72, 133,61, 133,63, 133,85, 133,97, 134,72, 135,32, 208,21.

Etapa C: 3,5-Bis-*O*-(2,4-diclorofenilmetil)-2-*C*-metil-1-*O*-metil-α-D-ribofuranose

A uma solução de MeMgBr em Et_2O anidro (0,48 M, 300 mL) a -55°C adicionou-se gota a gota uma solução do composto da Etapa B (17,40 g, 36,2 mmoles) em Et_2O anidro (125 mL). A mistura da reacção foi deixada aquecer até -30°C e foi agitada durante 7 h de -30°C a -15°C, depois foi deitada em água arrefecida em gelo (500 mL) e a mistura foi vigorosamente agitada à temperatura ambiente durante 0,5 h. A mistura foi filtrada através de uma almofada de Celite (10 x 5 cm) que foi totalmente lavada com Et_2O. A camada orgânica foi seca ($MgSO_4$), foi filtrada e concentrada. O resíduo foi dissolvido em hexanos (~30 mL), foi aplicado sobre uma coluna de sílica gel (10 x 7 cm, pré-embalada em hexanos) e eluido com hexanos e hexanos/EtOAc (9/1) para produzir o composto do título (16,7 g) sob a forma de um xarope incolor.

^{1}H RMN ($CDCl_3$):δ 1,36 (d, 3H, J_{MeOH} = 0,9 Hz, 2C-Me), 3,33 (q, 1H, OH), 3,41 (d, 1H, $J_{3,4}$ = 3,3 Hz), 3,46 (s, 3H, OCH_3), 3,66 (d, 2H, $J_{5,4}$ = 3,7 Hz, H-5a, H-5b), 4,18 (q aparente, 1H, H-4), 4,52 (s, 1H, H-1), 4,60 (s, 2H, CH_2Ph), 4,63, 4,81 (2d, 2H, J_{gem} = 13,2 Hz, CH_2Ph), 7,19-7,26, 7,34-7,43 (2m, 10H, 2Ph).

^{13}C RMN ($CDCl_3$):δ 24,88, 55,45, 69,95, 70,24, 70,88, 77,06, 82,18, 83,01, 107,63, 127,32, 129,36, 130,01, 130,32, 133,68, 133,78, 134,13, 134,18, 134,45, 134,58.

Etapa D: 4-Cloro-7-[3,5-bis-*O*-(2,4-diclorofenilmetil)-2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil]-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma solução do composto da Etapa C (9,42 g, 19 mmoles)em diclorometano anidro (285 mL) a 0°C adicionou-se HBr (5,7 M em ácido acético, 20 mL, 114 mmoles) gota a gota. A solução resultante foi agitada a 0°C durante 1 h e depois à ta durante 3 h, evaporada *in vacuo* e co-evaporada com tolueno anidro (3 x 40 mL). O resíduo oleoso foi dissolvido em acetonitrilo anidro (50 mL) e foi adicionado a uma solução do sal de sódio de 4-cloro-1*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina em acetonitrilo [gerado *in situ* a partir de 4-cloro-1*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina [para preparação, ver J. Chem.Soc. : 131 (1960)] (8,76 g, 57 mmole) em acetonitrilo anidro (1000 mL), e NaH (60% em óleo mineral, 2,28 g, 57 mmole), após 4 h de agitação vigorosa à ta]. A mistura combinada foi agitada à ta durante 24 h, e depois foi evaporada até à secura. O resíduo foi suspenso em água (250 mL) e foi extraído com EtOAc (2 x 500 mL). Os extractos

combinados foram lavados com salmoura (300 mL), foram secos com Na_2SO_4, filtrados e evaporados. O produto em bruto foi purificado sobre uma coluna de sílica gel (10cm x 10cm) por utilização de acetato de etilo/hexano (1:3 e 1:2) como eluente. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas no vácuo para produzir o produto desejado (5,05 g) sob a forma de uma espuma incolor.

^{1}H RMN ($CDCl_3$):δ 0,93 (s, 3H, CH_3), 3,09 (s, 1H, OH), 3,78 (dd, 1H, $J_{5',5''}$ = 10,9 Hz, $J_{5',4}$ = 2,5 Hz, H-5'), 3,99 (dd, 1H, $J_{5'',4}$ = 2,2 Hz, H-5''), 4,23-4,34 (m, 2H, H-3', H-4'), 4,63, 4,70 (2d, 2H, J_{gem} = 12,7 Hz, CH_2Ph), 4,71, 4,80 (2d, 2H, J_{gem} = 12,1 Hz, CH_2Ph), 6,54 (d, 1H, $J_{5,6}$ =3,8 Hz, H-5), 7,23-7,44 (m, 10H, 2Ph).

^{13}C RMN ($CDCl_3$):δ 21,31, 69,10, 70,41, 70,77, 79,56, 80,41, 81,05, 91,11, 100,57, 118,21, 127,04, 127,46, 127,57, 129,73, 129,77, 130,57, 130,99, 133,51, 133,99,134,33, 134,38, 134,74, 135,21, 151,07, 151,15, 152,47.

Etapa E: 4-Cloro-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma solução do composto da etapa D (5,42 g, 8,8 mmoles) em diclorometano (175 mL) a -78°C adicionou-se tricloreto de boro (1M em diclorometano, 88 mL, 88 mmoles) gota a gota. A mistura foi agitada a -78°C durante 2,5 h, e depois de -30°C a -20°C durante 3 h. A reacção foi temperada por adição de metanol/diclorometano (1:1) (90 mL) e a mistura resultante foi agitada a -15° durante 30 min., depois foi neutralizada com amoníaco aquoso a 0°C e agitada

à ta durante 15 minutos. O sólido foi filtrado e lavado com CH_2Cl_2/MeOH (1/1, 250 mL). O filtrado combinado foi evaporado e o resíduo foi purificado por cromatografia de relâmpago sobre sílica gel por utilização de gradiente CH_2Cl_2:MeOH (99:1, 98:2, 95:5 e 90:10) como o eluente para fornecer o composto desejado (1,73 g) sob a forma de uma espuma incolor, que foi transformada num sólido amorfo após tratamento com MeCN.

^{1}H RMN (DMSO-d_6):δ 0,64 (s, 3H, CH_3), 3,61-3,71 (m, 1H, H-5'), 3,79, 3,88 (m, 1H, H-5"), 3,89, 4,01 (m, 2H, H-3', H-4'), 5,15-5,23 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 6,24 (s, 1H, H-1'), 6,72 (d, 1H, $J_{5,6}$ = 3,8 Hz, H-5), 8,13 (d, 1H, H-6), 8,65 (s, 1H, H-2).
^{13}C RMN (DMSO-d_6):δ 20,20, 59,95, 72,29, 79,37, 83,16, 91,53, 100,17, 117,63, 128,86, 151,13, 151,19, 151,45.

Etapa F: 4-Amino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

Ao composto da etapa E (154 g, 5,1 mmoles) adicionou-se amoníaco metanólico (saturada a 0°C; 150 mL). A mistura foi aquecida num autoclave de aço inoxidável a 85°C durante 14 h, depois foi arrefecida e evaporada *in vacuo*. A mistura em bruto foi purificada sobre uma coluna de sílica gel com CH_2Cl_2/MeOH (9/1) como eluente para produzir o composto do título sobre a forma de uma espuma incolor (0,8 g), que se separou como um sólido amorfo após tratamento com MeCN. O sólido amorfo foi recristalizado a partir de metanol/acetonitrilo; p.f. 222°C.

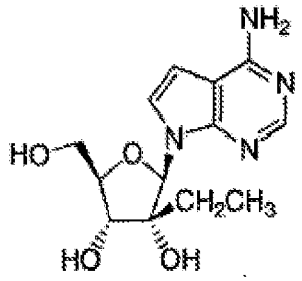
^{1}H RMN (DMSO-d_6):δ 0,62 (s, 3H, CH_3), 3,57-3,67 (m, 1H, H-5'), 3,75, 3,97 (m, 3H, H-5",H-4', H-3'), 5,00 (s, 1H, 2'-OH), 5,04 (d, 1H, $J_{3'OH,3'}$ = 6,8 Hz, 3'-OH), 5,06 (t, 1H, $J_{5'OH,5',5"}$ = 5,1 Hz, 5-OH), 6,11 (s, 1H, H-1'), 6,54 (d, 1H, $J_{5,6}$ = 3,6 Hz, H-5), 6,97 (br s, 2H, NH_2), 7,44 (d, 1H, H-6), 8,02 (s, 1H, H-2).

^{13}C RMN (DMSO-d_6):δ 20,26, 60,42, 72,72, 79,30, 82,75, 91,20, 100,13, 103,08, 121,96, 150,37, 152,33, 158,15.

LC-EM: Encontrado: 279,10 ($M-H^+$); calculo para $C_{12}H_{16}N_4O_4+H^+$: 279,11.

EXEMPLO 3

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



Etapa A: 3,5-Bis-*O*-(2,4-diclorofenilmetil)-2-*C*-etil-1-*O*-metil-α-D-ribofuranose

A éter dietílico (300 mL) a -78°C adicionou-se lentamente EtMgBr (3,0 M, 16,6 mL) e depois, gota a gota, o composto da etapa B do Exemplo 2 (4,80 g, 10,0 mmole) em Et_2O anidro (100 mL). A mistura da reacção foi agitada a

-78°C durante 15 minutos, foi deixada aquecer até -15°C e foi agitada durante mais 2 h, e depois foi deitada numa mistura agitada de água (300 mL) e Et_2O (600 mL). A fase orgânica foi separada, foi seca ($MgSO_4$) e evaporada *in vacuo*. O produto em bruto foi purificado sobre sílica gel utilizando-se acetato de etilo/hexano (1:2) como eluente. As fracções que continham o produto foram reunidas e evaporadas *in vacuo* para produzir o produto desejado (3,87 g) sob a forma de um óleo incolor.

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

A uma solução do composto da Etapa A (1,02 mg, 2,0 mmoles) em diclorometano (40 mL) adicionouo-se HBr (5,7 M em ácido acético)(1,75 mL, 10,0 mmoles) gota a gota a 0°C. A solução resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h, foi evaporada *in vacuo* e co-evaporada duas vezes com tolueno (10 mL). O resíduo oleoso foi dissolvido em acetonitrilo (10 mL) e foi adicionado a uma mistura agitada vigorosamente de 4-cloro-1*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina (307 mg, 2,0 mmoles), hidroxido de potássio (337 mg, 6,0 mmoles) e tris[2-(2-metoxietoxi)etil]amina (130 mg, 0,4 mmole) em acetonitrilo (10 mL). A mistura resultante foi agitada à ta durante a noite, e depois foi deitada numa mistura agitada de cloreto de amónio saturado (100 mL) e acetato de etilo (100 mL). A camada orgânica foi separada, lavada com salmoura (100 mL), foi seca sobre $MgSO_4$, filtrada e evaporada *in vacuo*. O produto em bruto

foi purificado sobre sílica gel por utilização acetato de etilo/hexano (1:2) como eluente para produzir o produto desejado (307 mg) sob a forma de uma espuma incolor.

Etapa C: 4-Cloro-7-(2-*C*-etil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma solução do composto da Etapa B (307 mg, 0,45 mmole) em diclorometano (8 mL) adicionou-se tricloreto de boro (1 M em diclorometano) (4,50 mL, 4,50 mmole) a -78°C. A mistura foi agitada a -78°C durante 1 h, e depois a -10°C durante 3 h. A reacção foi temperada por adição de metanol/diclorometano (1:1)(10 mL), foi agitada a -15°C durante 30 minutos, e neutralizada pela adição de hidroxido de amónio aquoso. A mistura foi evaporada sob pressão reduzida e o óleo resultante foi purificado sobre sílica gel por utilização de metanol/diclorometano (1:9) como eluente. As fracções contendo o produto foram reunidas e evaporadas *in vacuo* para produzir o produto desejado (112 mg) sob a forma de uma espuma incolor.

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

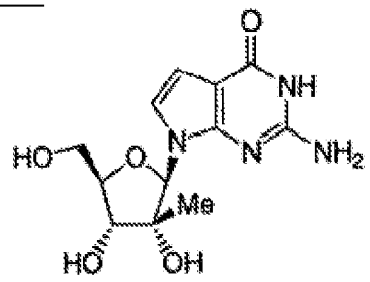
Ao composto da Etapa C (50 mg, 0,16 mmole) adicionou-se amoníaco saturado em metanol (4 mL). A mistura foi agitada a 75°C durante 72 h num contentor fechado, foi arrefecida e evaporada *in vacuo*. A mistura em bruto foi purificada sobre sílica gel por utilização de metanol/di-

clorometano (1:9) como eluente. As facções que continham o produto foram reunidas e evaporadas *in vacuo* para produzir o produto desejado (29 mg) sob a forma de um pó incolor.

^{1}H RMN (200 MHz, DMSO-d_6): δ 0,52 (t, 3H), 1,02 (m, 2H), 4,01-3,24 (m, 6H), 5,06 (m, 1H), 6,01 (s, 1H), 6,51 (d, 1H), 6,95 (s, br, 2H), 6,70 (d, 1H), 7,99 (s, 1H).
LC-EM: Encontrado: 295,2 ($M+H^+$); calculo para $C_{13}H_{18}N_4O_4+H^+$: 295,14.

EXEMPLO 4

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



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

A uma solução arrefecida em gelo do produto da Etapa C do Exemplo 2 (1,27 g, 2,57 mmoles) em CH_2Cl_2 (30 mL) adicionou-se HBr (5,7 M em ácido acético; 3 mL) gota a gota. A mistura da reacção foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h, foi concentrada sob pressão reduzida

e co-evaporada com tolueno (2 x 15 mL). O óleo resultante foi dissolvido em acetonitrilo (MeCN)(15 mL) e adicionado gota a gota a uma mistura bem agitada de 2-amino-4-cloro-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina [para preparação, ver Heterocycles 35:825 (1993)](433 mg, 2,57 mmole), KOH(85%, em pó)(0,51 g, 7,7 mmoles) e tris-[2-(2-metoxietoxi)-etil]amina (165 µL, 0,51 mmole) em acetonitrilo (30 mL). A mistura resultante foi agitada à ta durante 1 h, foi filtrada e evaporada. O resíduo foi purificado sobre uma coluna de sílica gel por utilização de hexanos/EtOAc, 5/1, 3/1 e 2/1, como eluente, para produzir o composto do título sob a forma de uma espuma incolor (0,65 g).

Etapa B: 2-Amino-4-cloro-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma solução do produto da Etapa A (630 mL, 1,0 mmole) em CH_2Cl_2 (20 mL) a -78°C adicionou-se tricloreto de boro (1 M em CH_2Cl_2)(10 mL, 10 mmoles). A mistura foi agitada a -78°C durante 2 h, e depois a -20°C durante 2,5 h. A reacção foi temperada com CH_2Cl_2/MeOH (1:1)(10 mL), foi agitada a -20°C durante 0,5 h, e neutralizada a 0°C com amoníaco aquoso. O sólido foi filtrado, lavado com CH_2Cl_2/MeOH (1:1) e o filtrado combinado foi filtrado *in vacuo*. O resíduo foi purificado sobre uma coluna de sílica gel com CH_2Cl_2/MeOH, 50/1 e 20/1, como eluente, para produzir o composto do título sob a forma de uma espuma incolor (250 mg).

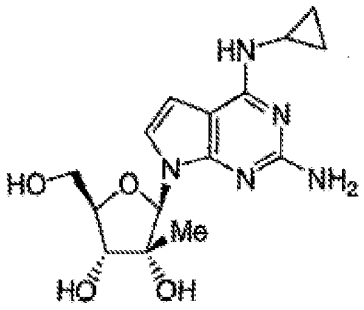
Etapa C: 2-Amino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4(3H)-ona

Uma mistura do produto da Etapa B (90 mg, 0,3 mmole) em NaOH aquoso (2N, 9 mL) foi aquecida à temperatura de refluxo durante 5 h, depois foi neutralizada a 0°C com HCl aquoso 2 N e evaporada até à secura. A purificação sobre uma coluna de sílica gel com CH_2Cl_2/MeOH, 5/1, como eluente, produziu o composto do título sob a forma de um sólido branco (70 mg).

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

EXEMPLO 5

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



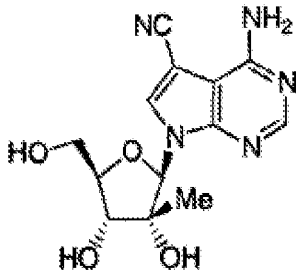
Uma solução de 2-Amino-4-cloro-7-(2-*C*-metil-β-D-

ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina (Exemplo 4, Etapa B)(21 mg, 0,07 mmole) em ciclopropilamina (0,5 mL) foi aquecida a 70°C durante dois dias, depois foi evaporada para se obter um resíduo oleoso e foi purificada sobre uma coluna de sílica gel com CH_2Cl_2/MeOH, 20/1, como eluente, para produzir o composto do título sobre a forma de um sólido branco (17 mg).

^{1}H RMN (200 MHz, CD_3CN): δ 0,61 (m, 2H), 0,81 (m, 2H), 0,85 (s, 3H), 2,83 (m, 1H), 3,74-3,86 (m, 1H), 3,93-4,03 (m, 2H), 4,11 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 6,02 (s, 1H), 6,49 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 7,00 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H).

EXEMPLO 6

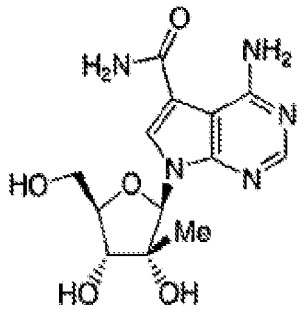
4-Amino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-5-carbonitrilo



Este composto foi preparado seguindo os processos descritos por Y. Murai et al. em Heterocycles 33:391-404 (1992).

EXEMPLO 7

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



Este composto foi preparado seguindo os processos descritos por Y. Murai et al. em Heterocycles 33:391-404 (1992).

EXEMPLO 8

Processo geral para a porção do pró-fármaco SATE

Os pronucleótidos S-Acil-2-tioetilo (SATE) são analisados em C.R.Wagner, V.V.Iyer, e E.J.McItee, "Pronucleotides: Toward the in Vivo Delivery of Antiviral and Anticancer Nucleotides," Med. Res. Ver., 20:1-35 (2000), que é aqui incorporado na sua totalidade por referência. Os derivados SATE de nucleótidos são também divulgados nas patentes Norte Americanas 5,770,725; 5,849,905; e 6,020,482, cujos conteúdos são aqui incorporados por referência na sua totalidade.

Bis(S-acetil-2-tioetil)-*N,N*-diisopropilfosforamidite

2-Mercaptoetanol (5 g, 64 mmoles) foi dissolvido em CH_2Cl_2 (50 mL). A esta solução adicionou-se trietilamina (7,67 mL, 57,6 mmoles), e a mistura da reacção foi arrefecida num banho de gelo até 0°C. O anidrido acético (4,64 mL, 48 mmoles) foi adicionado gota a gota durante 10 minutos, e a mistura da reacção foi agitada durante 1 h a 0°C. A mistura da reacção foi então deixada aquecer até à temperatura ambiente durante um período de 2 h. A mistura da reacção foi diluída (CH_2Cl_2) e foi lavada com água (75 mL), $NaHCO_3$ aquoso (75 mL) e salmoura (75 mL). A fase orgânica foi seca sobre Na_2SO_4 anidro e foi concentrada *in vacuo* para produzir um óleo. O óleo foi então dissolvido em THF anidro (40 mL) e adicionou-se trietilamina anidra (7,76 mL). A esta mistura adicionaram-se crivos moleculares activados (4Å), a qual foi mantida à temperatura ambiente durante 10 minutos. A mistura da reacção foi arrefecida num banho de gelo a 0°C e adicionou-se bicloreto diisopropilofosforamidoso (6,47 g, 32,03 mmoles). A mistura da reacção foi agitada a 0°C durante 2 h sob atmosfera inerte. Adicionou-se hexano (40 mL) à mistura da reacção e o precipitado formado foi filtrado. O filtrado foi concentrado para um quarto do volume, foi purificado por cromatografia de coluna de sílica gel carregada e foi eluido com hexano contendo trietilamina a 3% e uma quantidade incremental de acetato de etilo (0 a 7%), para produzir o composto do título sob a forma de um óleo (2,36 g).

^{1}H RMN ($CDCl_3$): δ 1,17 (s, 6H), 1,21 (s, 6H), 2,36 (s, 6H), 3,14 (t, *J* = 6,44 Hz), 3,51-3,84 (m, 6H), ^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ 24,47, 24,61, 30,48, 42,85, 43,1, 61,88, 62,23, 195,26; ^{13}P NMR ($CDCl_3$): δ 146,96.

EXEMPLO 9

Derivados de 5'-Trifosfato

Os 5'-trifosfatos de nucleósido do presente invento foram preparados seguindo os procedimentos gerais descritos em *Chem. Rev.*100:2047 (2000).

EXEMPLO 10

Purificação e Análise da Pureza dos Derivados de 5'-Trifosfato

Os derivados de trisfosfato foram purificados por cromatografia de permuta aniónica (AX) utilizando uma coluna Mono Q de 30 x 100 mm (Pharmacia) com um sistema tampão de 50 mM Tris, pH 8. Os gradiantes de eluiçao foram tipicamente desde 40 mM de NaCl até 0,8 M de NaCl em dois volumes de coluna a 6,5 mL/min. As fracções apropriadas da cromatografia de permuta aniónica foram recolhidas e dessalificadas por cromatografia de fase invertida (RP) utilizando uma coluna C de 18250 x 21 mm (Phenomenex) com um caudal de 10 mL/min. Os gradiantes de eluição variaram geralmente entre 1% e 95% de metanol durante 14 minutos a

uma concentração constante de 5 mM de acetato de trietilamónio (ATEA).

Os espectros de massa dos trifosfatos purificados foram determinados por utilização de espectrometria de massa de CLAR on-line num Hewllet-Packard (Palo Alto, CA) MSD 1100. Uma coluna de protecção Phenomenex Luna (C18(2)), 150 x 2 mm, plus 30 x 2 mm, com uma granulometria de 3 µm foi utilizada RP CLAR. Um gradiente linear de 0 a 50% (15 min) de acetonitrilo em 20 mM de ATEA (acetato de trietilamónio) pH 7 foi levado a cabo em séries com detecção espectral de massa no modo de ionização negativo. Utilizaram-se gás de azoto e um nebulizador pneumático para produzir a electropulverização. Amostrou-se a gama de massas de 150-900. As massas moleculares foram determinadas por utilização de um pacote de análise HP Chemstation.

A pureza dos trifosfatos purificados foi determinada por RP analítica e AX CLAR. RP CLAR com uma coluna Phenomenex Luna ou Jupiter (250 x 4,6 mm), granulometria de 5 µm foi posta a trabalhar com um gradiente de acetonitrilo de 2-70% durante 15 min em 100 mM de ATEA, pH 7. AX CLAR foi efectuada numa coluna Mono Q (Pharmacia) de 1,6 x 5 mm. Os trifosfatos foram eluídos com um gradiente de NaCl de 0 a 0,4 M a uma concentração constante de 50 mM Tris, pH 8. A pureza dos trifosfatos foi geralmente > 80%.

EXEMPLO 11

Derivados de 5'-Monofosfato

Os nucleósidos 5'-monofosfatos do presente invento foram preparados seguindo os procedimentos gerais descritos em *Tetrahedron Lett.* 50: 5065 (1967).

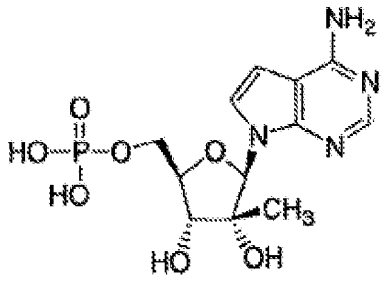
EXEMPLO 12

Os espectros de massa de 5'-trifosfatos dos compostos do presente invento foram determinados como descrito no Exemplo 10. Listados no quadro seguinte encontram-se as massas calculadas e determinadas experimentalmente para 5'-trifosfatos representativos preparados de acordo com os procedimentos do Exemplo 9. Os números de exemplo correspondem ao composto de origem do 5'-trifosfato.

Exemplo	Calculado	Encontrado
1	520,0	519,9
2	520,0	520,0
3	534,0	534,0
4	536,0	536,0

EXEMPLO 13

[4-Amino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina]-5'-monofosfato

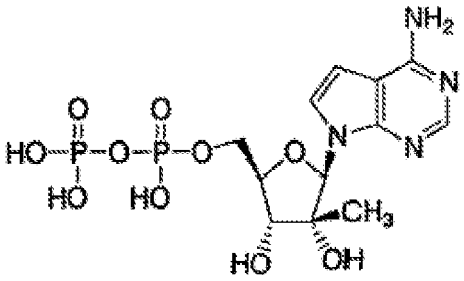


Ao composto da Etapa F do Exemplo 2 (14 mg, 0,05 mmole)(seco por co-evaporação com piridina e várias vezes com tolueno) adicionou-se fosfato de trimetilo (0,5 mL). A mistura foi agitada durante a noite num contentor fechado. Foi então arrefecida até 0°C e adicionou-se oxicloreto fosforoso (0,0070 mL, 0,075 mmole) por meio de uma seringa. A mistura foi agitada durante 3 h a 0°C, depois a reacção foi temperada por adição de bicarbonato de tetraetilamónio (BTEA) (1M) (0,5 mL) e água (5 mL). A mistura da reacção foi purificada e analisada de acordo com o processo descrito no exemplo 10.

Espectro de massa por pulverização electrónica (EM-PE): encontrado: 359,2 ($M-H^+$), calc. para $C_{12}H_{17}N_4O_7P-H^+$: 359,1.

EXEMPLO 14

[4-Amino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina]-5'-difosfato

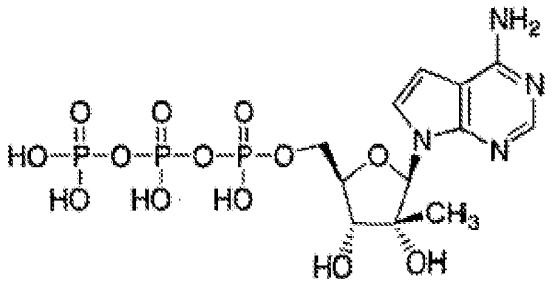


Ao composto da Etapa F do exemplo 2 (56 mg, 0,20 mmole) (seco por co-evaporação com piridina e várias vezes com tolueno) adicionou-se fosfato de trimetilo (armazenado sobre crivos) (1,0 mL). A mistura foi agitada durante a noite num contentor fechado. Foi então arrefecida até 0°C e adicionou-se oxicloreto fosforoso (0,023 mL, 0,25 mmole) por meio de uma seringa. A mistura foi agitada durante 2 h a 0°C, depois adicionou-se tributilamina (0,238 mL, 1,00 mmole) e fosfato de tributilamónio (produzido a partir de ácido fosfórico e tributilamina em piridina, seguida por evaporação azeotrópica repetida com piridina e acetonitrilo) (1,0 mmol em 3,30 mL de acetonitrilo). A mistura foi agitada durante mais 30 minutos a 0°C, o frasco fechado foi então aberto e a reacção foi temperada por adição de BTEA (1M) (1,0 mL) e água (5 mL). A mistura da reacção foi purificada e analisada de acordo com o processo descrito no exemplo 10.

EM-PE: Encontrado: 439,0 ($M+H^+$), calc. para $C_{12}H_{18}N_4O_{10}P-H^+$: 315,09.

EXEMPLO 15

[4-Amino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina]-5'-trifosfato

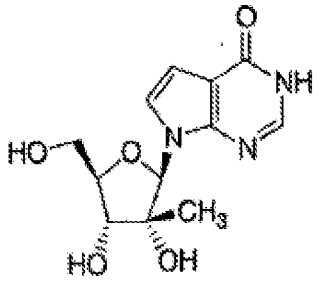


Ao composto da Etapa F do exemplo 2 (20 mg, 0,07 mmole) (seco por co-evaporação com piridina e várias vezes com tolueno) adicionou-se fosfato de trimetilo (armazenado sobre crivos) (0,4 mL). A mistura foi agitada durante a noite num contentor fechado. Foi então arrefecida até 0°C e adicionou-se oxicloreto fosforoso (0,0070 mL, 0,075 mmole) por meio de uma seringa. A mistura foi agitada durante 3 h a 0°C, depois adicionou-se tributilamina (0,083 mL, 0,35 mmole) e pirofosfato de tributilamónio (127 mg, 0,35 mmole) e acetonitrilo (armazenado sobre crivos) (0,25 mL). A mistura foi agitada durante mais 30 minutos a 0°C, o frasco fechado foi então aberto e a reacção foi temperada por adição de BTEA (1M) (0,5 mL) e água (5 mL). A mistura da reacção foi purificada e analisada de acordo com o processo descrito no exemplo 10.

EM-PE: Encontrado: 519,0 ($M-H^+$), calc. para $C_{12}H_{19}N_4O_{13}P_3-H^+$: 519,01.

EXEMPLO 16

7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-4(3*H*)-ona

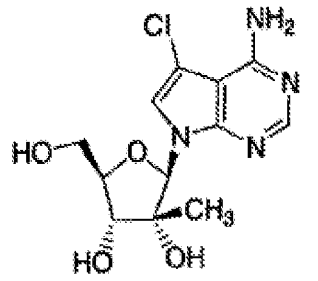


Ao composto da Etapa E do exemplo 2 (29 mg, 0,18 mmole) adicionou-se hidroxido de sódio aquoso (1M). A mistura foi aquecida até ao refluxo durante 1 h, foi arrefecida, neutralizada com HCl aquoso (2M) e evaporada no vácuo. O resíduo foi purificado sobre sílica gel utilizando-se diclorometano/metanol (4:1) como eluente. As fracções que continham o produto foram reunidas e evaporadas in vacuo para produzir o produto desejado (53 mg) sob a forma de um óleo incolor.

^{1}H RMN (CD_3CN):δ 0,70 (s, 3H), 3,34-4,15 (m sobreposto, 7H), 6,16 (s, 1H), 6,57 (d, 3,6 Hz, 1H), 7,37 (d, 3,6 Hz, 1H), 8,83 (s, 1H).

EXEMPLO 17

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



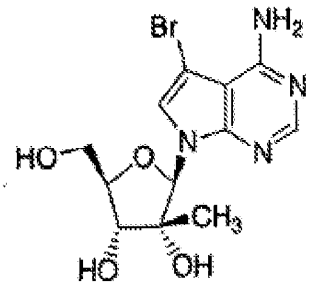
A uma solução pré-arrefecida (0°C) do composto da Etapa F do Exemplo 2 (140 mg, 0,50 mmole) em DMF (2,5 mL) adicionou-se *N*-clorossuccinamida (0,075 g, 0,55 mmole) em DMF (0,5 mL) gota a gota. A solução foi agitada à ta durante 1 h e a reacção foi temperada por meio da adição de metanol (4 mL) e foi evaporada no vácuo. O produto em bruto foi purificado sobre sílica gel utilizando-se metanol/diclorometano (1:9) como eluente. As fracções que continham o produto foram reunidas e evaporadas in vacuo para produzir o produto desejado (55 mg) sob a forma de um sólido incolor.

^{1}H RMN (CD_3CN): δ 0,80 (s, 3H), 3,65-4,14 (m sobreposto, 7H), 5,97 (s, br, 2H), 6,17 (s, 1H), 7,51 (s, 1H), 8,16 (s, 1H).

EM-PE: Encontrado: 315,0 ($M+H^+$), calc. para $C_{12}H_{15}ClN_4O_4$ + H^+: 315,09.

EXEMPLO 18

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



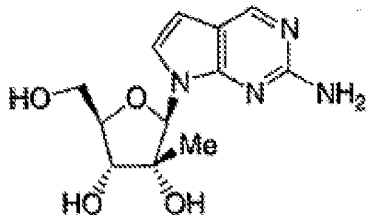
A uma solução pré-arrefecida (0°C) do composto da Etapa F do Exemplo 2 (28 mg, 0,10 mmole) em DMF (0,5 mL) adicionou-se *N*-bromossuccinamida (0,018 g, 0,10 mmole) em DMF (0,5 mL) gota a gota. A solução foi agitada à 0°C durante 20 minutos, e depois à ta durante 10 minutos. A reacção foi temperada por meio da adição de metanol (4 mL) e foi evaporada in vacuo. O produto em bruto foi purificado sobre sílica gel utilizando-se metanol/diclorometano (1:9) como eluente. As fracções que continham o produto foram reunidas e evaporadas no vácuo para produzir o produto desejado (13,0 mg) sob a forma de um sólido incolor.

^{1}H RMN (CD_3CN):δ 0,69 (s, 3H), 3,46-4,00 (m sobreposto, 7H), 5,83 (s, br, 2H), 6,06 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 8,05 (s, 1H).

EM-PE: Encontrado: 359,1 ($M+H^+$), calc. para $C_{12}H_{15}BrN_4O_4$ + H^+: 359,04.

EXEMPLO 19

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



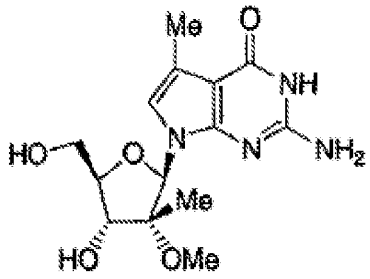
Uma mistura de 2-amino-4-cloro-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina (Exemplo 4) Eta-

pa B) (20 mg, 0,07 mmole) em EtOH (1,0 mL), piridina (0,1 mL) e Pd/C a 10% (6 mg) sob H_2 (pressão atmosférica) foi agitada durante a noite à ta. A mistura foi filtrada através de uma almofada de Celite que foi lavada completamente com EtOH. O filtrado combinado foi evaporado e purificado sobre uma coluna de sílica gel com CH_2Cl_2/MeOH, 20/1 e 10/1, como eluente, para produzir o composto do título sob a forma de uma sólido branco (16 mg).

^{1}H RMN (200 MHz, CD_3OD): δ 0,86 (s, 3H, 2'C-Me), 3,82 (dd, $J_{5',4'}$= 3,6 Hz, $J_{5',5''}$= 12,7 Hz, 1H, H-5'), 3,94-4,03 (m, 2H, H-5', H-4'), 4,10 (d, $J_{3',4'}$= 8,8 Hz, 1H, H-3'), 6,02 (s, 1H, H-1'), 6,41 (d, $J_{5,6}$= 3,8 Hz, 1H, H-5), 7,39 (d, 1H, H-6), 8,43 (s, 1H, H-4). EM-PE: 281,4 (MH^+).

EXEMPLO 20

2-Amino-5-metil-7-(2-*C*,2-*O*-dimetil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4(3H)-ona



Etapa A: 2-Amino-4-cloro-7-[3,5-bis-*O*-(2,4-diclorofenil-metil)-2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil]-5-metil-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma solução arrefecida em gelo do produto da Etapa C do Exemplo 2 (1,57 g, 3,16 mmoles) em CH_2Cl_2 (50 mL) adicionou-se HBr (5,7 M em ácido acético; 3,3 mL) gota a gota. A mistura de reacção foi agitada a 0°C durante 1 h e depois à ta durante 2 h, foi concentrada no vácuo e co-evaporada com tolueno (2 x 20 mL). O óleo resultante foi dissolvido em MeCN (20 mL) e foi adicionado gota a gota a uma solução do sal de sódio de 2-amino-4-cloro-5-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina em acetonitrilo [gerado *in situ* a partir de 2-amino-4-cloro-5-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina [para preparação, ver Liebigs Ann. Chem 1984: 708-721](1,13 g, 6,2 mmoles) em acetonitrilo anidro (150 mL), e NaH (60% em óleo mineral, 248 mg, 6,2 mmoles), após 2 h de agitação vigorosa à ta]. A mistura combinada foi agitada à ta durante 24 h e depois foi apurada até à secura. O resíduo foi suspenso em água (100 mL) e foi extraído com EtOAc (300 + 150 mL). Os extractos combinados foram lavados com salmoura (100 mL), foram secos sobre Na_2SO_4, filtrados e evaporados. O produto em bruto foi purificado sobre uma coluna de sílica gel (5 x 7 cm) utilizando-se acetato de etilo/hexano (0 a 30% de EtOAc em 5% de gradiente gradual) como eluente. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas no vácuo para produzir o produto desejado (0,96 g) sob a forma de uma espuma incolor.

Etapa B: 2-Amino-4-cloro-7-[3,5-bis-*O*-(2,4-diclorofenil-metil)-2-*C*,2-*O*-dimetil-β-D-ribofuranosil]-5-metil-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma mistura arrefecida no gelo do produto da

Etapa A (475 mg, 0,7 mmole) em THF (7 mL) adicionou-se NaH (60% em óleo mineral, 29 mg) e agitou-se a 0°C durante 0,5 h. Depois adicionou-se MeI (48 µL) e a mistura de reacção foi agitada à ta durante 24 h. A reacção foi temperada com MeOH e a mistura foi evaporada. O produto em bruto foi purificado sobre uma coluna de sílica gel (5 x 3,5 cm) utilizando-se hexano/acetato de etilo (9/1, 7/1, 5/1, 3/1) como eluente. As fracções que continham o produto foram combinadas e evaporadas para produzir o composto desejado (200 mg) sob a forma de uma espuma incolor.

Etapa C: 2-Amino-7-[3,5-bis-*O*-(2,4-diclorofenilmetil)-2-*C*,2-*O*-dimetil-β-D-ribofuranosil]-5-metil-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-4-(3*H*)-ona

Uma mistura do produto da Etapa B (200 mg, 0,3 mmole) em 1,4-dioxano (15 mL) e NaOH aquoso (2N, 15 mL) numa garrafa de pressão foi aquecida durante a noite a 130°C. A mistura foi então arrefecida até 0°C, neutralizada com HCl aquoso 2N e evaporada até à secura. O produto em bruto foi suspenso em MeOH, filtrado, e o sólido foi lavado completamente com MeOH. O filtrado combinado foi concentrado, e o resíduo foi purificado sobre uma coluna de sílica gel (5 x 5 cm) utilizando CH_2Cl_2/MeOH (40/1, 30/1 e 20/1) como eluente para produzir o composto desejado (150 mg) sob a forma de uma espuma incolor.

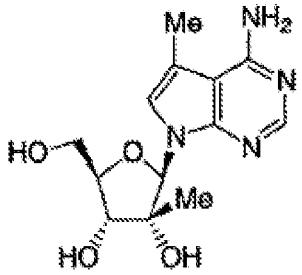
Etapa D: 2-Amino-5-metil-7-(2-*C*,2-*O*-dimetil-β-D-ribofurano-sil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-4-(3H)-ona

Uma mistura do produto da Etapa C (64 mg, 0,1 mmole) em MeOH (5 mL) com Et_3N (0,2 mL) e Pd/C a 10% (24 mg) foi hidrogenada num hidrogenador de Parr a 3,5 kg/cm^2 (50 psi) à t.a. durante 1,5 dias, depois foi filtrada através de uma almofada de Celite que foi lavada completamente com MeOH. O filtrado combinado foi evaporado e o resíduo foi purificado sobre uma coluna de sílica gel (3 x 4 cm) com CH_2Cl_2/MeOH (30/1, 20/1) como eluente para produzir 2-amino-5-metil-7-(5-*O*-benzil-2-*C*,2-*O*-dimetill-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-4(3H)-ona. O composto (37 mg) foi hidrogenado mais uma vez em EtOH (2 mL) com Pd/C a 10% e sob pressão atmosférica de hidrogénio. Após agitação durante 2 dias à t.a., a mistura de reacção foi filtrada através de Celite, o filtrado foi evaporado e o produto em bruto foi purificado sobre uma coluna de sílica gel (1 x 7 cm) com CH_2Cl_2/MeOH (30/1, 20/1 e 10/1) como eluente para produzir o composto do título (12 mg) após secagem por congelação.

^{1}H RMN (200 MHz, CD_3OD): δ 0,81 (s, 3H, 2'C-Me), 2,16 (d, $J_{H-6,C5-Me}$= 1,3 Hz, 3H, C5-Me), 3,41 (s, 3H, 2'-OMe), 3,67 (dd, $J_{5'4'}$= 3,4 Hz, $J_{5',5"}$ = 12,6 Hz, 1H, H-5'), 3,81,3,91 (m, 3H, H-5", H-4',H-3'), 6,10 (s, 1H, H-1'), 6,66 (d, 1H, H-6). EM PE: 323,3 $(M-H)^+$.

EXEMPLO 21

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



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

A uma solução arrefecida em gelo do produto da Etapa C do Exemplo 2 (1,06 g, 2,1 mmoles) em CH_2Cl_2 (30 mL) adicionou-se HBr (5,7 M em ácido acético; 2,2 mL) gota a gota. A mistura da reacção foi agitada a 0°C durante 1 h e depois à ta durante 2 h, foi concentrada no vácuo e co-evaporada com tolueno (2 x 15 mL). O óleo resultante foi dissolvido em MeCN (10 mL) e foi adicionado gota a gota a uma solução do sal de sódio de 4-cloro-5-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina em acetonitrilo [gerado *in situ* a partir de 4-cloro-5-metil-1*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina [para preparação, ver J.Med.Chem. 33:1984 (1990)](0,62 g, 3,7 mmole) em acetonitrilo anidro (70 mL), e NaH (60% em óleo mineral, 148 mg, 3,7 mmoles), após 2 h de agitação vigorosa à ta]. A mistura combinada foi agitada à ta durante 24 h e depois foi evaporada até à secura. O resíduo foi suspenso em água (100 mL) e extraído com EtOAc (250 + 100 mL). Os extractos combinados foram lavados com salmoura (50 mL), foram secos sobre Na_2SO_4, filtrados e evaporados. O produto em bruto foi purificado sobre uma coluna de sílica gel (5 x

5 cm) utilizando o gradiente hexano/acetato de etilo (9/1, 5/1, 3/1) como eluente. As fracções contendo o produto foram combinadas e evaporadas no vácuo para produzir o produto desejado (0,87 g) sob a forma de uma espuma incolor.

Etapa B: 4-Cloro-5-metil-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma solução do composto da Etapa A (0,87 g, 0,9 mmole) em diclorometano (30 mL) a -78°C adicionou-se tricloreto de boro (1 M em diclorometano, 9,0 mL, 9,0 mmoles) gota a gota. A mistura foi agitada a -78°C durante 2,5 h, e depois a -30°C a -20°C durante 3 h. A reacção foi temperada pela adição de metanol/diclorometano (1:1)(9 mL) e a mistura resultante foi agitada a -15°C durante 30 minutos, depois foi neutralizada com amoníaco aquoso a 0°C e foi agitada à ta durante 15 minutos. O sólido foi filtrado e lavado com CH_2Cl_2/MeOH (1/1, 50 mL). O filtrado combinado foi evaporado, e o resíduo foi purificado sobre uma coluna de sílica gel (5 x 5 cm) por utilização de CH_2Cl_2 e gradiente de CH_2Cl_2/MeOH (40/1 e 30/1) como o eluente para fornecer o composto desejado (0,22 g) sob a forma de uma espuma incolor.

Etapa C: 4-Amino-5-metil-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

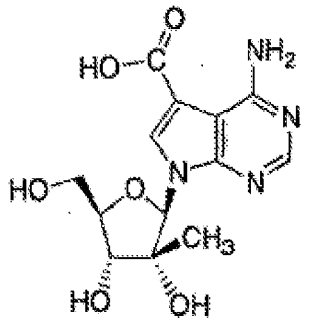
Ao composto da Etapa B (0,2 g, 0,64 mmole) adicionou-se amoníaco metanólico (saturado a 0°C; 40 mL). A

mistura foi aquecida num autoclave de aço inoxidável a 100°C durante 14 h, depois foi arrefecida e evaporada *in vacuo*. A mistura em bruto foi purificada sobre uma coluna de sílica gel (5 x 5 cm) com o gradiente de CH_2Cl_2/MeOH (50/1, 30/1, 20/1) como eluente para produzir o composto do título sob a forma de um sólido branco (0,12 g)

^{1}H RMN (DMSO-d_6): δ 0,60 (s, 3H, 2'C-Me), 2,26 (s, 3H, 5C-Me), 3,52-3,61 (m, 1H, H-5'), 3,70-3,88 (m, 3H, H-5", H-4', H-3'), 5,00 (s, 1H, 2'-OH), 4,91-4,99 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 6,04 (s, 1H, H-1'), 6,48 (br s, 2H, NH_2), 7,12 (s, 1H, H-6), 7,94 (s, 1H, H-2). EM PE: 295,2 (MH^+).

EXEMPLO 22

Ácido 4-Amino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo-[2,3-*d*]pirimidina-5-carboxílico



O composto do Exemplo 6 (0,035 g, 0,11 mmole) foi dissolvido numa mistura de amoníaco aquoso (4 mL, 30% em peso) e adicionou-se amoníaco metanólico saturado (2 mL), e uma solução de H_2O_2 em água (2 mL, 35% em peso). A mistura da reacção foi agitada à temperatura ambiente durante 18 h.

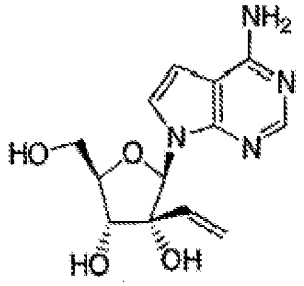
O solvente foi removido sob pressão reduzida, e o resíduo obtido foi purificado por CLAR sobre uma coluna de fase invertida (Altech Altima C-18, 10 x 299 mm, A=água, B=acetonitrilo, 10 a 60% de B em 50 min, caudal 2 mL/min) para produzir o composto do título (0,015 g, 41%) sob a forma de um sólido branco.

^{1}H RMN (CD_3OD):δ 0,85 (s, 3H, Me), 3,61 (m, 1H), 3,82 (m, 1H), 3,99-4,86 (m, 2H), 6,26 (s, 1H), 8,10 (s, 2H), 8,22 (s, 1H); ^{13}C RMN (CD_3OD): 20,13, 61,37, 73,79, 80,42, 84,01, 93,00, 102,66, 112,07, 130,07, 151,40, 152,74, 159,12, 169,30.

HRMS (FAB) calc. para $C_{13}H_{17}N_4O_6^+$ 325,1148, encontrado 325,1143.

EXEMPLO 23

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



Etapa A: 3,5-Bis-*O*-(2,4-diclorofenilmetil)-2-*C*-vinil-1-*O*-metil-α-D-ribofuranose

Hepta-hidrato de cloreto de cério (50 g, 134,2 mmoles) foi moído finamente num almofariz pré-aquecido e foi transferido para um frasco de fundo redondo equipado

com um agitador mecânico. O frasco foi aquecido sob alto vácuo durante a noite a 160°C. O vácuo foi libertado sob árgon e o frasco foi arrefecido até à temperatura ambiente. Canulou-se THF anidro (300 mL) para dentro do frasco. A suspensão resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 4 h e foi depois arrefecida até -78°C. Adicionou-se brometo de vinilmagnésio (1M em THF, 120 mL, 120 mmoles) e a agitação continuou a -78°C durante 2 h. A esta suspensão adicionou-se uma suspensão de 3,5-bis-*O*-(2,4-diclorofenil-metil)-1-*O*-metil-α-D-eritro-pentofuranose-2-ulose (14 g, 30 mmoles) [do Exemplo 2, Etapa B] em THF anidro (100 mL), gota a gota com agitação constante. A reacção foi agitada a -78°C durante 4 h. A reacção foi temperada com uma solução saturada de cloreto de amónio e foi deixada aquecer até à temperatura ambiente. A mistura foi filtrada através de uma almofada de Celite e o resíduo foi lavado com Et_2O (2 x 500 mL). A camada orgânica foi separada e a camada aquosa foi extraída com Et_2O (2 x 200 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre Na_2SO_4 anidro e concentradas para se obter um óleo amarelo viscoso. O óleo foi purificado por cromatografia de relâmpago (SiO_2, EtOAc a 10% em hexanos). O composto do título (6,7 g, 13,2 mmoles) foi obtido sob a forma de um óleo amarelo pálido.

Etapa B: 4-Cloro-7-[3,5-Bis-*O*-(2,4-diclorofenilmetil)-2-*C*-vinil-β-D-ribofuranosil]-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma solução do composto da Etapa A (6,4 g, 12,6 mmoles) em diclorometano anidro (150 mL) a -20°C adicionou-se HBr (solução a 30% em AcOH, 20 mL, 75,6 mmoles) gota a

gota. A solução resultante foi agitada entre -10°C e 0°C durante 4 h, foi apurada no vácuo e co-evaporada com tolueno anidro (3 x 40 mL). O resíduo oleoso foi dissolvido em acetonitrilo anidro (100 mL) e foi adicionado a uma solução do sal de sódio de 4-cloro-1*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina (5,8 g, 37,8 mmoles) em acetonitrilo (gerado in situ como descrito no Exemplo 2) a -20°C. A mistura resultante foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e foi agitada à temperatura ambiente durante 24 h. A mistura foi então evaporada até à secura, foi recolhida em água e foi extraída com EtOCAc (2 x 300 mL). Os extractos combinados foram secos sobre Na_2SO_4, filtrados e evaporados. A mistura em bruto foi purificada por cromatografia de relâmpago (SiO_2, EtOAc a 10% em hexanos) e o composto do título (1,75 g) foi isolado sob a forma de uma espuma branca.

Etapa C: 4-Amino-7-[3,5-Bis-*O*-(2,4-diclorofenilmetil)-2-*C*-vinil-β-D-ribofuranosil]-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

O composto da Etapa B (80 mg) foi dissolvido na quantidade mínima de 1,4-dioxano e foi colocado numa bomba de aço inoxidável. A bomba foi arrefecida até -78°C e adicionou-se amoníaco líquido. A bomba foi selada e aquecida a 90°C durante 24 h. O amoníaco foi deixado evaporar e o resíduo foi concentrado para um sólido branco que foi utilizado na Etapa seguinte sem purificação adicional.

Etapa D: 4-Amino-7-(2-*C*-vinil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirro-

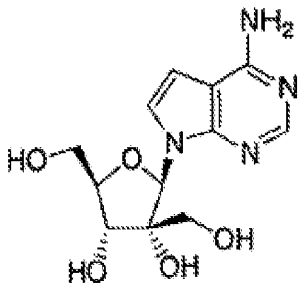
lo[2,3-*d*]pirimidina

A uma solução do composto da Etapa C (60 mg) em diclorometano a -78°C adicionou-se tricloreto de boro (1M em diclorometano) gota a gota. A mistura foi agitada a -78°C durante 2,5 h, e depois a -30°C a -20°C durante 3 h. A reacção foi temperada pela adição de metanol/diclorometano (1:1) e a mistura resultante foi agitada a -15°C durante 0,5 h, depois foi neutralizada com amoníaco aquoso a 0°C e foi agitada à temperatura ambiente durante 15 minutos. O sólido foi filtrado e lavado com metanol/diclorometano (1:1). O filtrado combinado foi evaporado e o resíduo purificado por cromatografia de relâmpago (SiO_2,10% de metanol em EtOAc contendo 0,1% de trietilamina). As fracções que continham o produto foram evaporadas para produzir o composto do título sob a forma de um sólido branco (10 mg).

^{1}H RMN (DMSO-d_6): δ 3,6 (m, 1H, H-5'), 3,8 (m, 1H, H-5"), 3,9 (m d, 1-H, H-4'), 4,3 (t, 1H, H-3'), 4,8-5,3 (m, 6H, $CH=CH_2$, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 6,12 (s, 1H, H-1'), 6,59 (d, 1H, H-5), (br s, 1H, NH2), 7,43 (d, 1H, H-6), 8,01 (s, 1H, H-2).
ES-PE: Encontrado: 291,1 ($M-H^-$); calc. para $C_{13}H_{16}N_4O_4-H^-$:291,2.

EXEMPLO 24

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



Etapa A: 4-Cloro-7-[3,5-Bis-*O*-(2,4-diclorofenilmetil)-2-*C*-hidroximetil-β-D-ribofuranosil]-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma solução do composto do Exemplo 23, Etapa B (300 mg, 0,48 mmole) em 1,4-dioxano (5 mL) adicionaram-se *N*-metilmorfolina-*N*-óxido (300 mg, 2,56 mmoles) e tetróxido de ósmio (solução a 4% em água, 0,3 mL). A mistura foi agitada na escuridão durante 14 h. O precipitado foi removido por filtração através de um tampão de celite, foi diluído com água (3 x), e foi extraído com EtOAc. A camada de EtOAc foi seca sobre Na_2SO_4 e foi concentrada no vácuo. O resíduo oleoso foi recolhido em diclorometano (5 mL) e foi agitado sobre $NaIO_4$ sobre sílica gel (3 g, 10% de $NaIO_4$) durante 12 h. A sílica gel foi removida por filtração e o resíduo foi evaporado e recolhido em etanol absoluto (5 mL). A solução foi arrefecida num banho de gelo e adicionou-se boroidreto de sódio (300 mg, 8 mmoles) em pequenas porções. A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 4 horas e depois foi diluída com EtOAc. A camada orgânica foi lavada com água (2 x 20 mL), salmoura (20 mL) e foi seca sobre Na_2SO_4. O solvente foi evaporado e o resíduo foi purificado por cromatografia "flash" (SiO_2, 2:1 hexanos/EtOAc) para proporcionar o composto do título (160 mg, 0,25 mmole) como flocos

brancos.

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

O composto da Etapa A (150 mg, 0,23 mmole) foi dissolvido numa quantidade mínima de 1,4-dioxano (10 mL) e foi colocado numa bomba de aço inoxidável. A bomba foi arrefecida até -78°C e adicionou-se amoníaco líquido. A bomba foi fechada e aquecida a 90°C durante 24 h. O amoníaco foi deixado evaporar e o resíduo foi concentrado para se obter um sólido branco que foi utilizado na etapa seguinte sem purificação adicional.

Etapa C: 4-Amino-7-(2-*C*-hidroximetil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

O composto da Etapa B (120 mg, 0,2 mmole) foi dissolvido em 1:1 de metanol/diclorometano, adicionou-se Pd-C a 10%, e a suspensão foi agitada sob uma atmosfera de H_2 durante 12 h. O catalisador foi removido por filtração através de uma almofada de celite e foi lavado com quantidades abundantes de metanol. O filtrado combinado foi evaporado no vácuo e o resíduo foi purificado por cromatografia "flash" (SiO_2, 10% de metanol em EtOAc com 0,1% de trietilamina) para proporcionar o composto do título (50 mg) sob a forma de um pó branco.

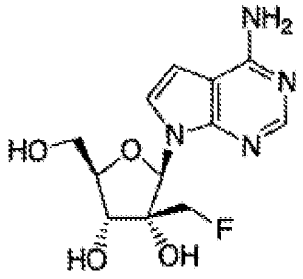
^{1}H RMN (CD_3OD): δ 3,12 (d, 1H, CH_2'), 3,33 (d, 1H, CH_2"),

3,82 (m, 1H, H-5'), 3,99-4,1 (m, 2H, H-4', H-5"), 4,3 (d, 1H, H-3'), 6,2 (s, 1H, H-1'), 6,58 (d, 1H, H-5), 7,45 (d, 1H, H-6), 8,05 (s, 1H, H-2).

LC-EM: Encontrado: 29,7,2 ($M+H^+$); calc. para $C_{12}H_{16}N_4O_5+H^+$: 297,3.

EXEMPLO 25

4-Amino7-(2-*C*-fluorometil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina



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

A uma solução do composto do Exemplo 24, Etapa A (63 mg, 0,1 mmole) em diclorometano anidro (5 mL) sob árgon, adicionaram-se 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (2 mg, 0,015 mmole) e trietilamina (62 µL, 0,45 mmole). A solução foi arrefecida num banho de gelo e adicionou-se cloreto de p-toluenossulfonilo (30 mg, 0,15 mmole). A reacção foi agitada à temperatura ambiente durante a noite, foi lavada com $NaHCO_3$ (2 x 10 mL), com água (10 mL), e com salmoura (10 mL), foi seca sobre Na_2SO_4 e foi concentrada para se obter um sólido cor de rosa no vácuo. O sólido foi

dissolvido em THF anidro (5 mL) e foi arrefecido num banho de gelo. Adicionou-se fluoreto de tetrabutilamónio (solução 1M em THF, 1 mL, 1 mmole) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 4 horas. O solvente foi removido no vácuo, o resíduo foi recolhido em diclorometano, e foi lavado com $NaHCO_3$ (2 x 10 mL), água (10 mL) e salmoura (10 mL). A camada de diclorometano foi seca sobre Na_2SO_4 anidro, foi concentrada no vácuo, e foi purificada por cromatografia "flash" (SiO_2, 2:1 hexanos/EtOAc) para produzir o composto do título (20 mg) sob a forma de um sólido branco.

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

O composto da Etapa A (18 mg, 0,03 mmole) foi dissolvido na quantidade mínima de 1,4-dioxano e foi colocado numa bomba de aço inoxidável. A bomba foi arrefecida até -78°C e adicionou-se amoníaco líquido. A bomba foi fechada e aquecida até 90°C durante 24 h. O amoníaco foi deixado evaporar e o resíduo foi concentrado para se obter um sólido branco que foi utilizado na etapa seguinte sem purificação adicional.

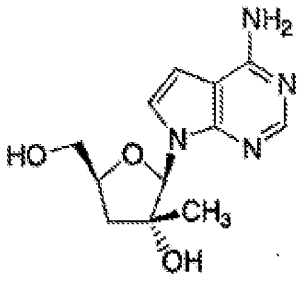
Etapa C: 4-Amino-7-(2-*C*-fluorometil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

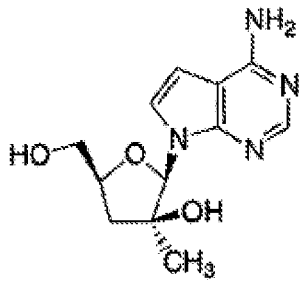
O composto da Etapa B (16 mg) foi dissolvido em 1:1 metanol/diclorometano, adicionou-se Pd-C a 10%, e a

suspensão foi agitada sob uma atmosfera de H_2 durante 12 h. O catalisador foi removido por filtração através de uma almofada de celite e foi lavado com quantidades abundantes de metanol. O filtrado combinado foi evaporado no vácuo e o resíduo foi purificado por cromatografia "flash" (SiO_2, 10% de metanol em EtOAc com 0,1% de trietilamina) para produzir o composto do título (8 mg) sob a forma de um pó branco. ^1H RMN (DMSO-d_6): δ 3,6-3,7 (m, 1H, H-5'), 3,8-4,3 (m, 5H, H-5", H-4', H-3', CH_2) 5,12 (t, 1H, 5'-OH), 5,35 (d, 1H, 3'-OH), 5,48 (s, 1H, 2'-OH), 6,21 (s, 1H, H-1'), 6,52 (d, 1H, H-5), 6,98 (br s, 2H, NH2), 7,44 (d, 1H, H-6), 8,02 (s, 1H, H-2). ^{19}F RMN (DMSO-d_6): δ-230,2 (t). ES-EM: Encontrado: 299,1 ($M+H^+$), calc. para $C_{12}H_{15}FN_4O_4+H^+$: 299,27.

EXEMPLOS 26 e 27

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





Etapa A: 7-[2,5-Bis-*O*-(terc-butildimetilsilil)-β-D-ribofuranosil]-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina e 7-[3,5-Bis-*O*-

(*terc*-butildimetilsilil)-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma solução agitada de tubercidina (5,0 g, 18,7 mmoles) numa mistura de piridina (7,5 mL) e DMF (18,5 mL) adicionou-se nitrato de prata (6,36 g, 38,8 mmoles). Esta mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h. Foi arrefecida num banho de gelo e adicionou-se cloreto de *terc*-butildimetilsililo (5,6 g, 37 mmoles) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h. A mistura foi então filtrada através de uma almofada de celite e foi lavada com THF. O filtrado e as lavagens foram diluídos com éter que continha uma pequena quantidade de clorofórmio. A camada orgânica foi lavada sucessivamente com bicarbonato de sódio e água (3 x 50 mL), foi seca sobre sulfato de sódio e foi concentrada. A piridina foi removida por co-evaporação com tolueno e o resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica gel por utilização de 5-7% de MeOH em CH_2Cl_2 como o eluente; produção de 3,0 g.

Etapa B: 7-[2,5-Bis-*O*-(*terc*-butildimetilsilil)-β-D-ribofuranosil)]-4-[di-(4-metoxifenil)fenilmetil]amino-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina e 7-[3,5-Bis-*O*-(*terc*-butildimetilsilil)-β-D-ribofuranosil)]-4-[di-(4-metoxifenil)fenilmetil]amino-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma solução da mistura dos compostos da Etapa A (3,0 g, 6,0 mmoles) em piridina anidra (30 mL) adicionou-se cloreto de 4,4'-dimetoxitritilo (2,8 g, 8,2 mmoles) e a mistura de reacção foi agitada à temperatura ambiente

durante a noite. A mistura foi então triturada com piridina aquosa e foi extraída com éter. A camada orgânica foi lavada com água, foi seca sobre sulfato de sódio anidro e foi concentrada para se obter uma espuma amarela (5,6 g). O resíduo foi purificado por cromatografia "flash" sobre sílica gel por utilização de 20-25% de EtOAc em hexanos como eluente. As fracções apropriadas foram recolhidas e concentradas para fornecer nucleósidos protegidos de 2',5'-bis-O-(*terc*-butildimetilsililo) e 3',5'-bis-O-(*terc*-butildimetilsililo) sob a forma de espumas incolores (2,2 g e 1,0 g, respectivamente).

Etapa C: 7-[2,5-Bis-*O*-(*terc*-butildimetilsilil)-3-*O*-tosil-β-D-ribofuranosil)'-4-[di-(4-metoxifenil)fenilmetil]amino-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma solução arrefecida em gelo de nucleósido protegido de 2',5'-bis-O-(*terc*-butildimetilsililo) da Etapa B (2,0 g, 2,5 mmoles) em piridina (22 mL) adicionou-se cloreto de p-toluenossulfonilo (1,9 g, 9,8 mmoles). A mistura de reacção foi agitada à temperatura ambiente durante 4 dias. Foi então triturada com piridina aquosa (50%, 10 mL) e foi extraída com éter (3 x 50 mL) contendo uma pequena quantidade de CH_2Cl_2 (10 mL). A camada orgânica foi lavada com bicarbonato de sódio e água (3 x 30 mL). A camada orgânica foi seca sobre Na_2SO_4 anidro e foi concentrada. Removeu-se a piridina por co-evaporação com tolueno (3 x 25 mL). O óleo residual foi filtrado através de uma almofada de sílica gel utilizando hexano:acetato de etilo (70:30) como eluente; produção 1,4 g.

Etapa D: 4-[di-(4-metoxifenil)fenil)fenilmetil]amino-7-[3-*O*-tosil-β-D-ribofuranosil-7H-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

Uma solução do composto da Etapa C (1,0 g, 1,1 mmoles) e THF (10 mL) foi agitada com fluoreto de tetra-butilamónio (solução 1M em THF, 2,5 mL) durante 0,5 h. A mistura foi arrefecida e diluída com éter (50 mL). A solução foi lavada com água (3 x 50 mL), foi seca sobre Na_2SO_4, e foi concentrada num óleo. O resíduo foi purificado por passagem através de uma almofada de sílica gel por utilização de hexano:acetato de etilo (1:1) como eluente, produção de 780 mg.

Etapa E: 4-Amino-7-(3-desoxi-2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]-pirimidina e 4-amino-7-(3-desoxi-2-*C*-metil-β-D-arabinofuranosil)-7*H*-pirrolo-[2,3-*d*]pirimidina

Uma solução de CH_3MgI (solução 3,0 M em éter, 3,0 mL) em tolueno anidro (3,75 mL) foi arrefecida num banho de gelo. A isto adicionou-se uma solução do composto da Etapa D (500 mg, 0,8 mmole) em tolueno anidro (3,7 mL). A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 3,5 h. Foi arrefecida e tratada com uma solução aquosa de NH_4Cl e foi extraída com éter (50 mL contendo 10 mL de CH_2Cl_2). A camada orgânica foi separada e lavada com salmoura (2 x 30 mL) e água (2 x 25 mL), foi seca sobre Na_2SO_4 anidro e foi concentrada para se obter um óleo que foi purificado por cromatografia "flash" sobre sílica gel utilizando-se 4% de MeOH em CH_2Cl_2 para fornecer o composto 2-C-α-metilo (149

mg) e o composto 2-C-β-metilo (34 mg). Estes derivados são tratados separadamente com ácido acético a 80% e a mistura de reacção foi agitada à temperatura ambiente durante 2,5 h. O ácido acético foi removido por co-evaporação repetida com etanol e tolueno. O resíduo foi divido entre clorofórmio e água. A camada aquosa foi lavada com clorofórmio e foi concentrada. O resíduo evaporado foi purificado sobre sílica gel por utilização de MeOH a 5-10% em CH_2Cl_2 como eluente para fornecer os compostos desejados como sólidos brancos.

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

^{1}H RMN (DMSO-d_6): δ 0,74 (s, 3H, CH_3), 1,77 (dd, 1H, H-3'), 2,08 (t, 1H, H-3"), 3,59 (m, 1H, H-5'), 3,73 (m, 1H, H-5"), 4,15 (m, 1H, H-4'), 5,02 (t, 1H, OH-5'), 5,33 (s, 1H, OH-2'), 6,00 (s, 1H, H-1'), 6,54 (d, 1H, H-7), 6,95 (br s, 2H, NH_2), 7,47 (d, 1H, H-8), 8,00 (s, 1H, H-2); ES-EM: 263,1 [M-H].

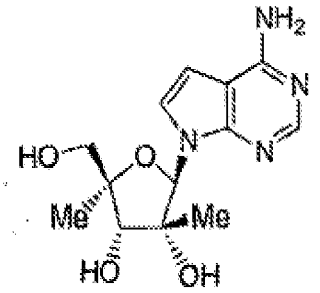
4-Amino-7-(3-desoxi-2-*C*-metil-β-D-arabinofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina (15 mg):

^{1}H RMN (DMSO-d_6): δ 1,23 (s, 3H, CH_3), 2,08 (ddd, 2H, H-3' e 3"), 3,57 (m, 2H, H-5' e 5"), 4,06 (m, 1H, H-4), 5,10 (s, 1H, OH-2'), 5,24 (t, 1H, OH-5'), 6,01 (s, 1H, H-1'), 6,49 (d, 1H, H-7), 6,89 (br s, 2H, NH_2), 7,35 (d, 1H, H-8), 8,01 (s, 1H, H-2). ES-EM: 265,2 [M+H].

EXEMPLO 28

4-amino-7-(2,4-*C*-dimetil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo82,3-

d]pirimidina



Etapa A: 5-Desoxi-1,2-*O*-isopropilideno-D-xilofuranose

1,2-*O*-Isopropilideno-D-xilofuranose (38,4 g, 0,2 mole), 4-dimetilaminopiridina (5 g) e trietilamina (55,7 mL, 0,4 mole) foram dissolvidos em diclorometano (300 mL). Adicionou-se cloreto de p-toluenossulfonilo (38,13 g, 0,2 mole) e a mistura de reacção foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h. A mistura de reacção foi então deitada em bicarbonato de sódio aquoso saturado (500 mL) e separaram-se as duas camadas. A camada orgânica foi lavada com uma solução de ácido cítrico aquoso (20%, 200 mL), foi seca (Na_2SO_4) e foi evaporada para produzir um sólido (70,0 g). O sólido foi dissolvido em THF seco (300 mL) e adicionou-se $LiAlH_4$ (16,0 g, 0,42 mole) em porções durante 30 minutos. A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 15. Adicionou-se acetato de etilo (100 mL) gota a gota durante 30 minutos e a mistura foi filtrada através de um leito de sílica gel. O filtrado foi concentrado e o óleo resultante foi cromatografado sobre sílica gel (EtOAc/hexano 1/4) para produzir o produto como um sólido (32,5 g).

Etapa B: 3,5-Bis-*O*-(2,4-diclorofenilmetil)-1-*O*-metil-4-

metil-α-D-ribofuranose

Adicionaram-se óxido de crómio (50 g, 0,5 mole), anidrido acético (50 mL, 0,53 mole) e piridina (100 mL, 1,24 mole) a diclorometano (1L) num banho de gelo-água e a mistura foi agitada durante 15 minutos. Adicionou-se 5-desoxi-1,2-*O*-isopropilideno-D-xilofuranose (32 g, 0,18 mole) em diclorometano (200 mL), e a mistura foi agitada à mesma temperatura durante 30 minutos. A solução da reacção foi diluída com acetato de etilo (1 L) e foi filtrada através de um leito de sílica gel. O filtrado foi concentrado para produzir um óleo amarelo. O óleo foi dissolvido em 1,4-dioxano (1 L) e formaldeído (37%, 200 mL). A solução foi arrefecida até 0°C e adicionou-se KOH sólido (50 g). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante a noite e foi então extraída com acetato de etilo (6 x 200 mL). Após concentração, o resíduo foi cromatografado sobre sílica gel (EtOAc) para produzir o produto como um óleo (1,5 g). O óleo foi dissolvido em 1-metil-2-pirrolidinona (20 mL) e adicionaram-se cloreto de 2,4-diclorofenilmetilo (4 g, 20,5 mmoles) e NaOH (60%, 0,8 g). A mistura foi agitada durante a noite e foi diluída com tolueno (100 mL). A mistura foi então lavada com bicarbonato de sódio aquoso saturado (3 x 50 mL), foi seca (Na_2SO_4) e foi evaporada. O resíduo foi dissolvido em metanol (50 mL) e adicionou-se HCl em dioxano (4 M, 2 mL). A solução foi agitada durante a noite e foi evaporada. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel (EtOAc/hexano: 1/4) para produzir o produto desejado sob a forma de um óleo (2,01 g).

Etapa C: 3,5-Bis-*O*-(2,4-diclorofenilmetil)-2,4-di-*C*-metil-1-*O*-metil-α-D-ribofuranose

O produto (2,0 g, 4,0 mmoles) da Etapa B e periodinato de Dess-Martin (2,0 g) em diclorometano (30 mL) foram agitados durante a noite à temperatura ambiente e depois foram concentrados sob pressão reduzida. O resíduo foi triturado com éter éter (50 mL) e foi filtrado. O filtrado foi lavado com uma solução de $Na_2S_2O_3.5H_2O$ (2,5 g) numa solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (50 mL), foi seco ($MgSO_4$), foi filtrado e evaporado. O resíduo foi dissolvido em Et_2O anidro (20 mL) e foi adicionado gota a gota a uma solução de MeMgBr em Et_2O (3 M, 10 mL) em Et_2O (3 M, 10 mL) a -78°C. A mistura de reacção foi deixada aquecer até -30°C e foi agitada a uma temperatura entre -30°C e -15°C durante 5 h, depois foi deitada em cloreto de amónio aquoso concentrado (50 mL). As duas camadas foram separadas e a camada orgânica foi seca ($MgSO_4$), foi filtrada e concentrada. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel (EtOAc/hexano: 1/9) para produzir o composto do título sob a forma de um xarope (1,40 g).

Etapa D: 4-Cloro-7-[3,5-bis-*O*-(2,4-diclorofenilmetil)-2,4-di-*C*-metil-β-D-ribofuranosil]-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

Ao composto da Etapa C (0,70 g, 1,3 mmoles) adicionou-se HBr (5,7 M em ácido acético, 2 mL). A solução resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h,

foi evaporada in vacuo e foi co-evaporada com tolueno anidro (3 x 10 mL). Agitaram-se 4-cloro-1*H*-pizxolo[2,3-*d*]pirimidina (0,5 g, 3,3 mmoles) e KOH em pó (85%, 150 mg, 2,3 mmoles) em 1-metil-2-pirrolidinona (5 mL) durante 30 min e a mistura foi co-evaporada com tolueno (10 mL). A solução resultante foi deitada sobre o resíduo de açúcar de bromo anterior e a mistura foi agitada durante a noite. A mistura foi diluída com tolueno (50 mL), foi lavada com água (3 x 50 mL) e foi concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel eluindo-se com EtOAc/hexano (15/85) para produzir um sólido (270 mg).

Etapa E: 4-Amino-7-(2,4-*C*-dimetil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

O composto da Etapa D (270 mg)foi dissolvido em dioxano (2 mL) e adicionou-se amoníaco líquido (20 g) num autoclave de aço inoxidável. A mistura foi aquecida a 100°C durante 15, depois foi arrefecida e evaporada. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel (EtOAc) para produzir um sólido (200 mg). O sólido (150 mg) e Pd/C (10% 150 mg) em metanol (20 mL) foram agitados sob H_2 [2,11 kg/cm^2(30 psi)] durante 3 h, foram filtrados e evaporados. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel (MeOH/CH_2Cl_2: 1/9) para produzir o produto desejado sob a forma de um sólido (35 mg).

^{1}H RMN (DMSO-d_6): δ 0,65 (s, 3H), 1,18 (s, 3H), 3,43 (m, 2H), 4,06 (d, 1H, *J* 6,3 Hz), 4,87 (s, 1H), 5,26 (br, 1H), 5,08 (d, 1H, *J*6,3 Hz), 5,25 (t, 1H, *J*3,0 Hz), 6,17 (s, 1H), 6,54 (d, 1H, *J*3,5 Hz), 6,97 (s, br, 2H), 7,54 (d, 1H, *J*3,4

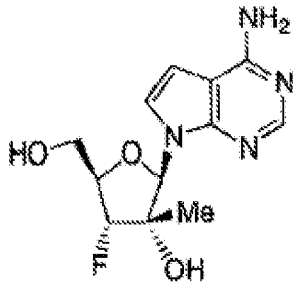
Hz), 8,02 (s, 1H).

^{13}H RMN (DMSO-d_6): δ 18,19, 21,32, 65,38, 73,00, 79,33, 84,80, 90,66, 99,09, 102,41, 121,90, 149,58, 151,48, 157,38.

LC-EM: Encontrado: 295,1 ($M+H^+$); calculado para $C_{13}H_{18}N_4O_4+H^+$; 295,1

EXEMPLO 29

4-Amino-7-(3-desoxi-3-fluoro-2-*C*-metilβ-D-ribofuranosil)-7*H*(2,3-*d*]pirimidina



Etapa A: 3-Desoxi-3-fluoro-1-*O*-metil-5-*O*-metil-α-D-ribofuranose

1,2-*O*-Isopropilideno-D-xilofuranose (9,0 g, 50 mmoles) e cloreto de p-toluilo (7,0 mL, 50 mmoles) em piridina (50 mL) foram agitados durante 30 min. Adicionou-se água (10 mL) e a mistura foi concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em tolueno (500 mL) e a solução foi lavada com água (200 mL) e bicarbonato de sódio aquoso saturado (200 mL). As duas camadas foram separadas e a camada orgânica foi evaporada. O resíduo foi dissolvido

em metanol (100 mL) e adicionou-se HCl em dioxano (4 M, 10 mL). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante a noite e foi então evaporada sob pressão reduzida. O óleo resultante foi cromatografado sobre sílica gel (EtOAc/hexano:1/1) para produzir um óleo (10,1 g). O óleo foi dissolvido em diclorometano (100 mL) e adicionou-se trifluoreto de dietilaminoenxofre (TDAE)(5,7 mL). A mistura foi agitada durante a noite e foi então deitada numa solução saturada aquosa de bicarbonato de sódio (100 mL). A mistura foi extraída com tolueno (2 x 50 mL) e concentraram-se as camadas orgânicas combinadas. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel (EtOAc/hexano: 15/85) para produzir o composto do título sob a forma de um óleo (1,50 g).

Etapa B: 3-Desoxi-3-fluoro-2-*C*-metil-1-D-metil-5-*O*-toluoil-α-D-ribofuranose

O produto da Etapa A (1,0 g, 3,5 mmoles) e periodinato Dess-Martin (2,5 g) em diclorometano (20 mL) foram agitados durante a noite à temperatura ambiente e foram depois concentrados sob pressão reduzida. O resíduo foi triturado com éter dietílico (50 mL) e foi filtrado. O filtrado foi lavado com uma solução de $Na_2S_2O_3.5H_2O$ (12,5 g) em bicarbonato de sódio aquoso saturado (100 mL), foi filtrado e evaporado. O resíduo foi dissolvido em THF anidro (50 mL). Adicionaram-se $TiCl_4$ (3 mL) e brometo de metilmagnésio em éter dietílico (3 M, 10 mL) a -78°C e a mistura foi agitada a uma temperatura entre -50 e -30°C

durante 2 h. A mistura foi deitada numa solução saturada aquosa de bicarbonato de sódio (100 mL) e foi filtrada através de Celite. O filtrado foi extraído com tolueno (100 mL) e evaporado. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel (EtOAc/hexano: 15/85) para produzir o composto do título sob a forma de um óleo (150 mg).

Etapa C: 4-Amino-7-(3-desoxi-3-fluoro-2-*C*-metilβ-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

O produto da Etapa B (150 mg, 0,5 mmole) foi dissolvido em HBr (30%) em ácido acético (2 mL). Após uma hora, a mistura foi evaporada sob pressão reduzida e co-evaporada com tolueno (10 mL). 4-Cloro-1*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina (0,5 g, 3,3 mmoles) e KOH em pó (85%, 150 mg, 2,3 mmoles) foram agitados em DMF (3 mL) durante 30 min e a mistura foi agitada durante a noite. A mistura foi diluída com tolueno (50 mL), foi lavada com água (3 x 50 mL) foi e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel (EtOAc/hexano: 15/85) para produzir um óleo (60 mg). O óleo foi dissolvido em dioxano (2 mL) e adicionou-se amoníaco líquido (20 g) num autoclave de aço inoxidável. A mistura foi aquecida a 85°C durante 18 horas, e depois foi arrefecida e evaporada. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel (metanol/diclorometano: 1/9) para produzir o composto do título sob a forma de um sólido (29 mg).

^{1}H RMN (DMSO-d_6): δ 0,81 (s, 3H), 3,75 (m, 2H), 4,16 (m, 1H), 5,09 (dd, 1H, *J*53,2, 7,8 Hz), 5,26 (br, 1H), 5,77 (s, 1H), 6,15 (d, 1H, *J*2,9 Hz), 6,59 (d, 1H, *J*3,4 Hz), 7,02 (s

br, 2H), 7,39 (d, 1H, *J*3,4 Hz), 8,06 (s, 1H).

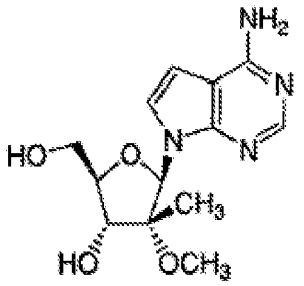
^{13}C RMN (DMSO-d_6): δ 19,40, 59,56, 77,24, 79,29, 90,15, 91,92, 99,88, 102,39, 121,17, 149,80, 151,77, 157,47.

^{19}F RMN (DMSO-d_6): δ 14,66 (m).

ES-EM: Encontrado: 283,1 ($M+H^+$); Calculado para $C_{12}H_{15}FN_4O_3+H^+$: 283,1.

EXEMPLO 30

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



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

A uma solução pré-arrefecida (0°C) do composto do Exemplo 2, Etapa D (618 mg, 1,0 mmole) em THF (8 mL)adicionou-se iodeto de metilo (709 mg, 5,0 mmoles) e NaH (60% em óleo mineral)(44 mg, 1,1 mmoles). A mistura resultante foi agitada durante a noite à temperatura ambiente e depois foi deitada numa mistura agitada de cloreto de amónio aquoso saturado (50 mL) e diclorometano (50 mL). A camada orgânica foi lavada com água (50 mL), foi

seca ($MgSO_4$) e evaporada in vacuo. O produto em bruto resultante foi purificado sobre sílica gel por utilização de acetato de etilo/hexano como eluente. As fracções que contêm o produto foram reunidas e evaporadas in vacuo para proporcionar o produto desejado (735 mg) como uma espuma incolor.

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

Ao composto da Etapa A (735 mg, 1,16 mmoles) adicionou-se amoníaco metanólico (saturado a 0°C)(20 mL). A mistura foi aquecida num autoclave de aço inoxidável a 80°C durante a noite, depois foi arrefecida e o conteúdo foi evaporado in vacuo. A mistura em bruto foi purificada sobre sílica gel por utilização de acetato de etilo/hexano como eluente. As fracções que continham o produto foram arrefecidas e evaporadas in vacuo para produzir o produto desejado (504 mg) como uma espuma incolor.

Etapa C: 4 Amino-7-(2-*C*,2-*O*-dimetil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

Uma mistura do produto da Etapa C (64 mg, 0,1 mmoles), MeOH (5 mL), Et_3N (0,2 mL) e Pd/C a 10% (61 mg) foi hidrogenada num hidrogenador de Parr a (50 psi) à temperatura ambiente durante a noite. A mistura foi filtrada através de celite, evaporada in vacuo e filtrada

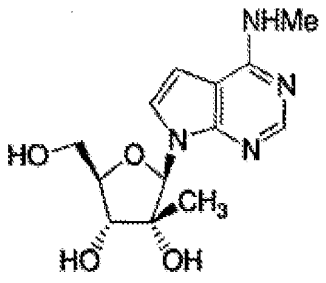
através de uma almofada de sílica gel por utilização de metanol a 2% em diclorometano como eluente. O produto desejado foi recolhido e evaporado in vacuo. O composto foi dissolvido em metanol (10 mL) e adicionou-se Pd/C a 10% (61 mg). A mistura foi hidrogenada num hidrogenador de Parr a (55 psi) à temperatura ambiente durante duas semanas. A mistura foi filtrada através de celite, foi evaporada in vacuo e purificada sobre sílica gel por utilização de metanol a 10% em diclorometano como eluente. As fracções que contêm o produto foram reunidas e evaporadas in vacuo para proporcionar o produto desejado (110 mg) sob a forma de uma espuma incolor.

^{1}H RMN (DMSO-d_6): δ 0,68 (s, 3H), 3,40 (s, 3H), 3,52-3,99 (m sobreposto, 4H), 4,92 (d, 1H), 5,07 (t, 1H), 6,26 (s, 1H), 6,55 (d, 1H), 7,00 s br, 2H), 7,46 (d, 1H), 8,05 (s, 1H).

LC-EM: Encontrado: 293,1 ($M-H^+$); calc. para $C_{21}H_{16}N_4O_4-H^+$: 293,12.

EXEMPLO 31

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



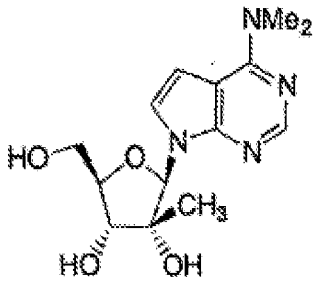
O composto da Etapa E do Exemplo 2 (200 mg, 0,67 mmoles) foi adicionado a metilamina (5 mL, condensado num pequeno autoclave de aço inoxidável) e foi aquecido a 85°C durante 48 h, depois foi arrefecido e evaporado in vacuo. A mistura em bruto foi purificada sobre sílica gel com etanol como eluente para produzir o composto do título que se separou como um sólido amorfo após tratamento com MeCN. O sólido amorfo foi dissolvido em água e liofilizado para produzir um pó incolor (144 mg).

^{1}H RMN (DMSO-d_6): δ 0,63 (s, 3H, CH_3), 3,32 (s, 3H, N CH_3), 3,58-3,67 (m, 1H, H-5'), 3,79-3,39 (m, 3H, H-5", H-4', H-3'), 5,03 (s, 1H, 2'-OH), 5,04-5,11 (1H, 3'-OH, 1H, 5'-OH), 6,14 (s, 1H, H-1'), 6,58 (d, 1H, $J_{5,6}$=3,6 Hz, H-5), 7,46 (d, 1H, H-6), 7,70 (br s, 1H, NH), 8,14 (s, 1H, H-2).

LC-EM: Encontrado: 295,1 ($M-H^+$); calc. para $C_{13}H_{18}N_4O_4+H^+$: 294,3

EXEMPLO 32

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



O composto da Etapa E do Exemplo 2 (200 mg, 0,67

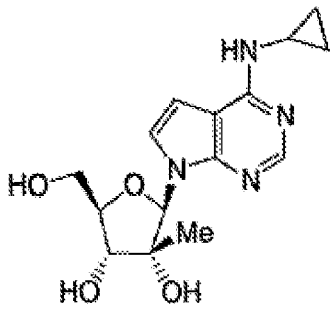
mmoles) foi adicionado a dimetilamino (5 mL condensados num pequeno autoclave de aço inoxidável) e foi aquecido a 85°C durante 48 h, depois foi arrefecido e evaporado in vacuo. A mistura em bruto foi purificada sobre sílica gel com etanol como eluente para proporcionar o composto do título que se separou como um sólido amorfo após tratamento com MeCN. O sólido amorfo foi dissolvido em água e foi liofilizado para proporcionar um pó incolor (164 mg).

^{1}H RMN (DMSO-d_6): δ 0,64 (s, 3H, CH_3), 3,29 (s, 3H, N CH_3), 3,32 (s, 3H, N CH_3), 3,60-3,66 (m, 1H, H-5'), 3,77-3,97 (m, 3H, H-5", H-4', H-3'), 5,04 (s, 1H, 2'-OH), 5,06-5,11 (1H, 3'-OH, 1H, 5'-OH),, 6,21 (s, 1H, H-1'), 6,69 (d, 1H, $J_{5,6}$=3,6 Hz, H-5), 7,55 (d, 1H, H-6), 8,13 (s,1H, H-2).

LC-EM: Encontrado: 309,3 ($M-H^+$); calc. para $C_{14}H_{20}N_4O_4+H^+$: 308,33.

EXEMPLO 33

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



O composto da Etapa E do Exemplo 2 (200 mg, 0,67 mmole) foi adicionado a ciclopropilamina (5 mL condensados num pequeno autoclave de aço inoxidável) e foi aquecido a

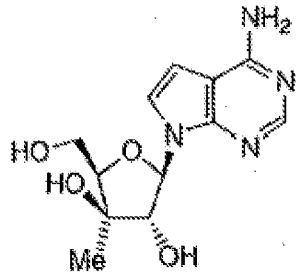
85°C durante 48 h, e depois foi arrefecido e evaporado in vacuo. A mistura em bruto foi purificada sobre sílica gel com etanol como eluente para produzir o composto do título que se separou como um sólido amorfo após tratamento com MeCN. O sólido amorfo foi dissolvido em água e liofilizado para proporcionar um pó incolor (148 mg).

^{1}H RMN (DMSO-d_6): δ 0,51-0,58 (m, 2H), 0,64 (s, 3H, CH_3), 0,74-0,076 (m, 2H), 3,62-3,67 (m, 1H, H-5'), 3,79-3,82 (m, 3H, H-5'), 3,92-3,96 (m, H-4', H-3'), 5,03 (s, 1H, 2'-OH), 5,05-5,10 (1H, 3'-OH, 1H, 5'-OH), 6,15 (s, 1H, H-1'), 7,48 (d, 1H, $J_{5,6}$=3,6 Hz, H-5), 7,59 (d, 1H, H-6), 8,13 (s, 1H, H-2).

LC-EM: Encontrado: 321,1 ($M+H^+$); calc. para $C_{15}H_{20}N_4O_4+H^+$: 320,3.

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 34

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



Etapa A: 7-[2,5-Bis-*O*-(*terc*-butildimetilsilil)-β-D-ribofuranosil)]-4-[(4-metoxifenil)difenilmetil]amino-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina e 7-[3,5-bis-*O*-(*terc*-butildimetilsilil)-β-D-ribofuranosil]-4-[(4-metoxifenil)difenilmetil]-

amino-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma solução da mistura dos compostos da Etapa A dos Exemplos 26 e 27 (0,32 g, 0,65 mmole) em piridina anidra (6 mL) foi adicionado cloreto de monometoxitritilo (0,30 g, 0,98 mmole) e a mistura de reacção foi agitada à temperatura ambiente durante a noite. A mistura foi então concentrada e o resíduo foi dividido entre CH_2Cl_2 (70 mL) e água (20 mL). A camada orgânica foi lavada com água e salmoura, foi seca (Na_2SO_4) e concentrada. O resíduo foi purificado sobre uma coluna de sílica gel por utilização de EtOAc a 5-13% em hexano como eluente. As fracções apropriadas foram recolhidas e concentradas para fornecer nucleósidos protegidos de 2',5'-bis-O-(*terc*-butildimetilsililo) e 3',5'-bis-O-(terc-butildimetilsililo) sob a forma de espumas incolores (343 mg e 84 mg, respectivamente).

Etapa B: 7-[2,5-Bis-*O*-(*terc*-butildimetilsilil)-β-D-eritropentofuranos-3-ulosil]-4-[(4-metoxifenil)difenilmetil]-amino-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma suspensão bem agitada de trióxido de crómio (91 mg, 0,91 mmole) em CH_2Cl_2 (4 mL) a 0°C foram adicionados piridina (147 µL, 1,82 mmoles) e depois anidrido acético (86 µL, 0,91 mmoles). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 0,5 h. Depois, adicionou-se o nucleósido protegido de 2',5'-bis-*O*-(*terc*-butildimetilsililo) da Etapa A (343 mg, 0,45 mmole) em CH_2Cl_2 (2,5 mL) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante

2 h. A mistura foi então deitada em EtOAc arrefecido em gelo (10 mL) e foi filtrada através de uma coluna curta de sílica gel por utilização EtOAc como eluente. O filtrado foi evaporado e o resíduo foi purificado sobre uma coluna de sílica gel com hexanos e hexanos/EtOAc (7/1) como eluente para proporcionar o composto do título (180 mg).

Etapa C: 7-[2,5-Bis-*O*-(*terc*-butildimetil)-3-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-4-[(4-metoxifenil)difenilmetil]amino-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina e 7-[2,5-Bis-*O*-(*terc*-butildimetil)-3-*C*-metil-β-D-xilofuranosil)-4-[(4-metoxifenil)difenilmetil]amino-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma mistura de MeMgBr (solução 3,0 M em éter; 0,17 mL, 0,5 mmole) em hexanos anidros (1,5 mL) à temperatura ambiente adicionou-se gota a gota uma solução do composto da Etapa B (78 mg, 0,1 mmole) em hexanos anidros (0,5 mL). Após 2 h de agitação à temperatura ambiente, a mistura de reacção foi deitada em água arrefecida em gelo (10 mL) e foi diluída com EtOAc (20 mL), depois foi filtrada através de Celite que foi então totalmente lavada com EtOAc. As camadas foram separadas e a camada orgânica foi lavada com salmoura, foi seca (Na_2SO_4) e foi concentrada. O resíduo foi purificado sobre uma coluna de sílica gel por utilização de EtOAc a 8 a 25% em hexanos como eluente para proporcionar o xilo- e o ribo-isómero de 3-C-metilo (20 mg).

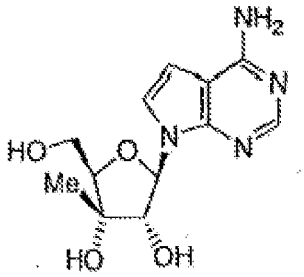
Etapa D: 4-Amino-7-(3-*C*-metil-β-D-xilofuranosil)-7*H*-pir-

rolo[2,3-*d*]pirimidina

A uma solução arrefecida em gelo do isómero de 3-C-metil-xilo da Etapa C (60 mg, 0,08 mmole) em THF (2 mL) adicionou-se TBAF (1 M em THF; 0,32 mL, 0,32 mmole). A mistura de reacção foi agitada à temperatura ambiente durante 5 h, depois foi diluída com CH_2Cl_2 (50 mL), foi lavada com água (3 x 15 mL), foi seca e evaporada. O resíduo foi dissolvido em dioxano (0,3 mL) e adicionou-se ácido acético a 80% (3 mL). A mistura de reacção foi agitada à temperatura ambiente durante 1 d e depois foi evaporada. O resíduo foi co-evaporado com dioxano, foi recolhido em água (50 mL) e foi lavado com CH_2Cl_2 (2 X 10 mL). A camada aquosa foi concentrada e depois foi seca por congelação. O resíduo foi purificado sobre uma coluna sílica gel com CH_2Cl_2/MeOH (20/1 e 10/1) como eluente para produzir o composto do título sob a forma de um composto macio branco após secagem por congelação (10 mg).
^{1}H RMN (CD_3CN): δ 1,28 (s, 3H, CH_3), 3,56 (br s, 1H, OH), 3,78 (m, 3H H-4', H-5', H-5"), 4,10 (br s, 1H, OH), 4,44 (d, 1H, $J_{2',1'}$=3,9 Hz, H-2'), 5,58 (d, 1H, H-1'), 5,85 (br s, 2H, NH_2), 6,15 (br s, 1H, OH), 6,48 (d, 1H, $J_{5,6}$=3,7 Hz, H-5), 7,23 (d, 1H, H-6), 8,11 (s, 1H, H-2), ES-EM: 281 $[MH]^+$.

EXEMPLO DE REFERÊNCIA 35

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

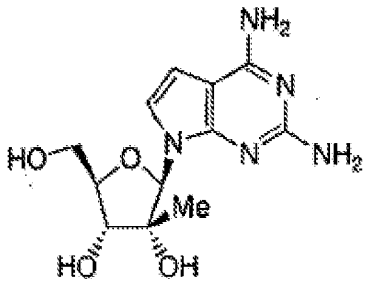


O ribo-isómero (20 mg) da Etapa C do Exemplo 32 foi desprotegido por utilização do processo descrito na Etapa D do Exemplo 32 para produzir o composto do título (4 mg).

^{1}H RMN (CD_3CN): δ 1,43 (s, 3H, CH_3), 3,28 (br s, 1H, OH), 3,58 (m, 2H, H-5', H-5"), 3,99 (m, 1H, H-4'), 4,10 (br s, 1H, OH), 4,62 (d, 1H, $J_{2',1'}$=8,1 Hz, H-2'), 5,69 (d, 1H, H-1'), 5,88 (br s, 3H, OH, NH_2), 6,45 (br s, 1H, OH), 6,51 (d, 1H, $J_{5,6}$=3,7 Hz, H-5), 7,19 (d, 1H, H-6), 8,12 (s, 1H, H-2). ES-EM: 281 $[MH]^+$.

EXEMPLO 36

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



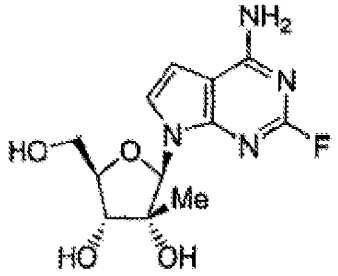
Uma mistura do produto da Etapa B do Exemplo 4 (24 mg) em amoníaco aquoso (30%, 10 mL) foi aquecida num

autoclave de aço inoxidável a 100°C durante a noite, depois foi arrefecida e evaporada. O resíduo foi purificado sobre uma coluna de sílica gel com CH_2Cl_2/MeOH (10/1 e 5/1) como eluente do composto do título (15 mg).

^{1}H RMN (DMSO-d_6): δ 0,68 (s, 3H, CH_3), 3,48-3,58 (m 1H, H-5'), 3,68-3,73 (m, 2H, H-5", H-4'), 3,84 (m, 1H, H-3'), 4,72 (s, 1H, 2'-OH), 4,97-5,03 (m, 2H, 3'-OH, 5'-OH), 5,45 (br s, 2H, NH_2), 6,00 (s, 1H, H-1'), 6,28 (d, 1H, *J*=3,7 Hz, H-5), 6,44 (br s, 2H, NH_2), 6,92 (d, 1H, *J*=3,7 Hz, H-6). ES EM: 294,1 ($M-H^+$).

EXEMPLO 37

4-Amino-2-fluoro-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina

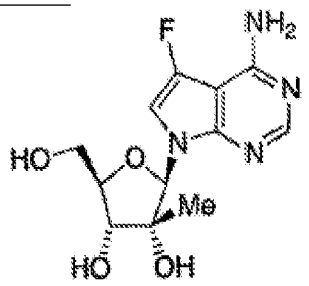


A uma solução de HF/piridina (70%, 2 mL) diluída com piridina (1 mL) a -30°C adicionou-se o composto do Exemplo 36 (60 mg, 0,2 mmole) em 0,5 mL de piridina seguido por nitrito de *terc*-butilo (36 µL, 0,3 mmole). A agitação continuou durante 5 min a -25°C. Depois a solução é deitada em água gelada (5 mL), é neutralizada com NaOH 2N aquoso, e é evaporada até à secura. O resíduo é purificado sobre uma coluna de sílica gel com CH_2Cl_2/MeOH (20/1 e 10/1) como

eluente para produzir o composto do título.

EXEMPLO 38

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



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

A uma solução do composto da etapa F do Exemplo 2 (280 mg, 1,00 mL) em piridina adicionou-se anidrido acético (613 mg, 6 mmoles). A solução resultante é agitada durante a noite à temperatura ambiente, é evaporada in vacuo e a mistura em bruto resultante é purificada sobre sílica gel por utilização de acetato de etilo/hexano como eluente. As fracções que continham o produto desejado são reunidas e evaporadas in vacuo para produzir o produto desejado.

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

A uma soluação pré-arrefecida (0°C) do composto da Etapa A (460 mg, 1,00 mmole) em DMF adicionou-se *N*-

bromo-succinimida (178 mg, 1,0 mmole) em DMF. A solução resultante é agitada a 0°C durante 30 min, e depois à temperatura ambiente durante mais 30 min. A reacção é temperada por adição de metanol e é evaporada in vacuo. A mistura em bruto resultante é purificada sobre sílica gel por utilização de acetato de etilo/hexano como eluente. As fracções que continham o produto desejado são reunidas e evaporadas in vacuo para produzir o produto desejado.

Etapa C: 4-Amino

A uma solução pré-arrefecida (-78°C) do composto da Etapa B (529 mg, 1,00 mmole) em THF adiciona-se butil lítio (2M e hexanos)(0,5 mL, 1,00 mmole). A solução resultante é agitada a -78°C durante 30 min e depois é temperada com *N*-fluorobenzenossulfonimida (315 mg, 1,00 mmole) em THF. A solução resultante é deixada aquecer muito lentamente até à temperatura ambiente e depois é deitada numa mistura agitada de cloreto de amónio aquoso saturado e diclorometano. A fase orgânica é evaporada in vacuo e é tratada com hidroxido de amónio a 55°C num contentor fechado durante a noite. A mistura em bruto resultante é purificada sobre sílica gel por utilização de diclorometano/metanol como eluente. As fracções que contêm o produto desejado são reunidas e evaporadas in vacuo para produzir o produto desejado.

ENSAIOS BIOLÓGICOS

Os ensaios empregues para medir a inibição da

polimerase NS5B do VCH e a replicação do VCH são descritos a seguir.

A eficácia dos compostos do presente invento como inibidores da polimerase NS5B do ARN ARN-dependente do VCH (RdRp) foi medida no seguinte ensaio.

A. Ensaio para Inibição da Polimerase NS5B do VCH:

Este ensaio foi utilizado para medir a capacidade dos derivados de nucleósidos do presente invento de inibição da actividade enzimática da polimerase (NS5B) do ARN ARN-dependente do vírus C da hepatite (VCH) num padrão de ARN heteromérico.

Procedimento:

Condições Tampão do Ensaio: (50 µL-total/reacção)
20 mM Tris, pH 7,5
50 µM de EDTA
5 mM de DTT
2 mM de $MgCl_2$
80 mM de KCl
0,4 U/µL de ARNsin (Promega, reserva em 40 unidades/µL)
0,75 µg de t500 (500-nt ARN feito a partir da transcrição de *runoff* T7 com uma sequência da região NS2/3 do genoma C da hepatite)
1,6 µg do NS5B C da hepatite purificado(forma com 21 aminoácidos C-terminalmente truncados)

1 µM A, C, U, GTP (mistura de trifosfato de Nucleósido) [alfa-^{32}P]-GTP ou [alfa-^{33}P]-GTP

Os compostos foram ensaiados a várias concentrações até uma concentração final de 100 µM.

Preparou-se um volume apropriado do tampão da reacção, incluindo enzima e padrão t500. Os derivados de nucleósidos do presente invento foram pipetados para dentro dos recipientes de uma placa com 96 recipientes. Preparou-se uma mistura de trifosfatos de nucleósido (TFN's), incluindo o GTP radioreferenciado, e pipetou-se para dentro dos recipientes de uma placa com 96 recipientes. A reacção foi iniciada por adição da solução de reacção do padrão de enzima e foi deixada continuar à temperatura ambiente durante 1-2 h.

A reacção foi temperada por adição de 20 µL de 0,5 M de EDTA, pH 8,0. As reacções em branco, nas quais a solução temperada foi adicionada aos TFN's antes da adição do tampão da reacção, foram também incluídas.

50 µL da reacção temperada mancharam discos de filtragem DE81 (Whatman), os quais foram deixados secar durante 30 min. Os filtros foram lavados com 0,3 M de formato de amónio, pH 8 (150 mL/lavagem até as cpm de uma lavagem de 1 mL ser inferior a 100, normalmente 6 lavagens). Os filtros foram contados em 5 mL de fluido de cintilação com um contador de cintalação.

A percentagem de inibição foi calculada de acordo com a seguinte equação: % de Inibição = [1-(cpm na reacção de ensaio - cpm no branco)] x 100.

Os compostos representativos ensaiados na polimerase NS5B do VCH apresentaram uma CI_{50} inferior a 100 micromolar.

B. Ensaio para inibição da Replicação do ARN do VCH

Os compostos do presente invento foram também avaliados em relação à sua capacidade em afectar a replicação do ARN do Vírus C da Hepatite em células (HuH-7) do hepatoma em cultura que contêm uma Replicação do VCH subgenómica. Os pormenores do ensaio são descritos a seguir. Este ensaio de Replicação é uma modificação do descrito em V. Lohmann, F. Komer, J-O. Koch, U. Herian, L. Theilmann, e R. Bartenschlager, "Replication of a Sub-genomic Hepatitis C Virus RNAs in a Hepatoma Cell Line", Science 285:110 (1999).

Protocolo:

O ensaio foi um ensaio de placa à base da Proximidade de Cintilação (EPC) de protecção da Ribonuclease *in situ*. 10.000-40.000 células foram colocadas em placas em 100-200 µL de meio contendo 0,8 mg/mL de G418 em placas de citostar com 96 recipientes (Amersham). Os compostos foram

adicionados às células a várias concentrações até 100 μM em DMSO a 1% desde o tempo 0 até às 18 h e depois foram cultivados durante 24-96 h. As células foram fixadas (20 min, formalina a 10%), permeabilizadas (20 min, 0,25% de Triton X-100/PBS) e hibridizadas (durante a noite, 50°C) com uma amostra de ^{33}P ARN de simples hélice em complemento ao NS5B de hélice (+) (ou outros genes) contido no genoma viral de ARN. As células foram lavadas, tratadas com ARNase, lavadas, aquecidas a 65°C e contadas num Top-Count. A inibição da replicação foi lida como diminuição das contagens por minuto (cpm).

As células de hepatoma HuH-7 humano, que foram seleccionadas para conter um replicão (*elemento genético que possui o gene estrutural que controla um iniciador específico e um replicador*) subgenómico, transportam um ARN citoplásmico que consiste numa região não transferível (RNT) do VCH 5', um marcador seleccionável de neomicina, um EMCV IRES (local de entrada do ribosoma interno), e proteínas não estruturais do VCH de NS3 a NS5B, seguidas de 3'NTR.

Os compostos representativos ensaiados no ensaio de replicação apresentaram CE_{50}'s inferiores a 100 micromolar.

Os derivados de nucleósidos do presente invento foram também avaliados em relação à toxicidade celular e especificidade anti-viral nos ecrãs de contagem descritos a seguir.

C. ÉCRANS DE CONTAGEM:

A capacidade dos derivados de nucleósidos do presente invento em inibir as polimerases de ADN humano foi medida nos seguintes ensaios.

a. Inibição das Polimerases de ADN Humana alfa e beta:
Condições da Reacção:

50 µL de volume de reacção

Componentes tampão da reacção:

20 mM Tris-HCl, pH 7,5
200 µg/mL de albumina de soro bovino
100 mM de KCl
2 mM de β-mercaptoetanol
10 mM de $MgCl_2$
1,6 µM dA, dG, dC, dTTP
α-^{33}P-dATP

Enzima e padrões:

0,05 mg/mL de padrão de ADN de esperma de peixe interrompido
0,01 de U/γL de polimerase de ADN α ou β

Preparação do padrão de ADN de esperma de peixe interrompido:

Adicionar 5 µL de $MgCl_2$ 1M a 500 µL de ADN de esperma de peixe activado (USB 70076);

Aquecer até 37°C e adicionar 30 µL de 65 U/µL de exonuclease III (GibcoBRL 18013-011); incubar durante 5 min a 37°C;

Terminar a reacção por aquecimento até 65°C durante 10 min;

Carregar 50-100 µL de aliquotas em 6 colunas de cromatografia Bio-spin (Bio-Rad 732-6002) equilibrada com 20 mM de Tris-HCl, pH 7,5;

Eluir por centrifugação a 1.000 x g durante 4 min;

Juntar o eluato e medir a absorvância a 260 nm para determinar a concentração.

O padrão de ADN foi diluído num volume apropriado de 20 mM de Tris-HCl, pH 7,5, e o enzima foi diluído num volume apropriado de 20 mM de Tris-HCl, que continha 2 mM de β-mercaptoetanol, e 100 mM de KCl. O padrão e o enzima foram pipetados para dentro de tubos microcentrífugos ou para dentro de uma placa com 96 recipientes. Prepararam-se também as reacções em branco excluindo o enzima e as reacções de controlo excluindo o composto de ensaio por utilização do tampão de diluição do enzima e do solvente do composto de ensaio, respectivamente. A reacção foi iniciada com um tampão da reacção com componentes de acordo com o listado em baixo. A reacção foi incubada durante 1 hora a 37°C. A reacção foi temperada pela adição de 20 µL de 0,5M de EDTA. Mancharam-se discos de filtragem Whatman DE81 com

50 µL da reacção temperada, os quais foram secos ao ar. Os discos de filtragem foram lavados repetidamente com 150 mL de formato de amónio 0,3M, pH 8, até que 1 mL da lavagem seja < 100 cpm. Os discos foram lavados duas vezes com 150 mL de etanol absoluto e uma vez com 150 mL de éter anidro, foram secos e contados em 5 mL de fluido de cintalação.

A percentagem de inibição foi calculada de acordo com a seguinte equação: %inibição = [1-(cpm da reacção de ensaio - cpm do branco)/cpm da reacção de controlo - cpm do branco)] x 100.

b. Inibição do gama Polimerase de ADN Humano:

O potencial para inibição de gama polimerase de ADN humano foi medido em reacções que incluem 0,5 ng/µL de enzima; 10 µM de dATP, dGTP, dCTP, e TTP; 2 µCi/reacção [α-^{33}P]-dATP, e 0,4 µg/µL de ADN de esperma de peixe activado (adquirido na US Biochemical) num tampão que contém 20 mM de Tris pH8, 2 mM de β-mercaptoetanol, 50 mM de KCl, 10 mM de $MgCl_2$, e 0,1 µg/µL de BSA. As reacções foram deixadas prosseguir durante 1 h a 37°C e foram temperadas por adição de 0,5 M de EDTA para uma concentração final de 142 mM. A formação do produto foi quantificada por ligação do filtro de permuta iónica e contagem de cintilação. Os compostos foram ensaiados até 50 µM.

A percentagem de inibição foi calculada de acordo com a seguinte equação: % inibição = [1-(cpm da reacção de ensaio - cpm do branco)/(cpm da reacção de controlo - cpm

do branco)] x 100.

A capacidade dos derivados de nucleósidos do presente invento em inibir a infecciosidade do HIV e espalhamento do HIV foi medida através dos seguintes ensaios.

c. Ensaio da infecciosidade do HIV

Os ensaios foram levados a cabo com uma variante de células HeLa Magi que expressam CXCR4 e CCR5, seleccionada por possuir uma baixa expressão de β-galactosido (β-gal) de base. As células foram infectadas durante 48 horas, e a produção de β-gal a partir do promotor HIV-1 LTR integrado foi quantificada com um substrato quimiluminescente (Galactolight Plus, Tropix, Bedford, MA). Os inibidores foram titulados (em duplicado) em séries de diluições duplas a partir de 100 μM; a inibição em percentagem a cada concentração foi calculada em relação à infecção de controlo.

d. Inibição da Propagação do HIV

A capacidade dos compostos do presente invento em inibirem a propagação do vírus da imunodeficiência humana (HIV) foi medida pelo método descrito na patente Norte Americana N° 5.413.999 (9 de Maio de 1995), e J.P.Vacca, et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 91: 4096-4100 (1994), os quais são aqui incorporados por referência na sua totalidade.

Os derivados de nucleósidos do presente invento foram também examinados relativamente à toxicidade contra as células (HuH-7) de hepatoma cultivado contendo um Replicão de VCH subgenómico num ensaio à base de células MTS como descrito no ensaio seguinte. A linha de células HuH-7 é descrita em H. Nakabayashi, et al., Cancer Res., 42: 3858 (1982).

e. Ensaio de Citotoxidade:

As culturas de células foram preparadas em meios apropriados a concentrações de aproximadamente 1,5 x 10^5 células/mL para culturas de suspensão em incubações de 3 dias e 5,0 x 10^4 células/mL para culturas aderentes em 3 dias de incubações. 99 µL de uma cultura de células foram transferidos para recipientes de uma placa tratada de cultura de tecido de 96 recipientes, e adicionou-se 1 µL de uma concentração final de 100 vezes do composto de ensaio em DMSO. As placas foram incubadas a 37°C e em CO_2 a 5% durante um período de tempo determinado. Após o período de incubação, adicionaram-se 20 µL do reagente do Ensaio de Proliferação de Células em Solução Única Aquosa de Células de Título 96 (MTS)(promega) a cada recipiente e as placas foram incubadas a 37°C e em CO_2 a 5% durante mais um período de tempo até 3 h. As placas foram agitadas para misturar os recipientes e leu-se a absorvância a 490 nm por utilização de um leitor de placa. Preparou-se uma curva padrão das células de cultura da suspensão com números de

células bem conhecidos antes da adição do reagente de MTS. As células activas reduzem metabolicamente o MTS em formazan. O formazan absorve a 490 nm. A absorvância a 490 nm na presença de um composto foi comparada com a absorvância em células sem qualquer composto adicionado. Referência: Cory, A. H. *et al.*, "Utilização de um ensaio de tetrazolium/formazan solúvel aquoso em ensaios de crescimento celular em cultura", Cancer Commun, 3: 207 (1991).

Os seguintes ensaios foram empregues para medir a actividade dos compostos do presente invento contra outras viroses do ARN ARN-dependente:

a. Determinação da Actividade Antiviral In Vitro dos Compostos contra o Rinovírus (Ensaio de Inibição do Efeito Citopático):

As condições de ensaio são descritas no artigo por Sidwell e Huffman, "Use of disposable microtissue culture plates for antiviral and interferão induction studies", Appl. Microbiol. 22: 797-801 (1971).

Viroses:

O rinovírus tipo 2 (RV-2), estirpe HGP, foi utilizado com meios e células KB ($NaHCO_3$ a 0,1%, sem anti-bióticos) como definido na referência Sidwell e Huffman. O

vírus, obtido obtido do ATCC, foi proveniente de uma raspadela de garganta de um macho adulto com uma doença respiratória superior febril aguda suave.

O rinovírus tipo 9 (RV-9), estirpe 211, e o rinovírus tipo 14 (RV-14), estirpe Tow, foram obtidos na American Type Culture Collection (ATCC) em Rockville, MD. O RV-9 foi proveniente de lavagens de uma garganta humana e o RV-14 foi proveniente de uma raspadela de garganta de um adulto jovem com uma doença respiratória superior. Estas duas viroses foram utilizadas com células HeLa Ohio-1 (Dr. Fred Hayden, Univ. de VA), que eram células de carcinoma de epitelóide cervical humano. Utilizou-se o MEM (meio essencial mínimo de Eagle) com soro Bovino Fetal a 5% (SBF) e $NaHCO_3$ a 0,1% como meio de crescimento.

O meio de ensaio anti-viral para todos os três tipos de vírus foi o MEM com o SBF a 5%, $NaHCO_3$ a 0,1%, 50 µg de gentamicina/mL, e 10 mM de $MgCl_2$.

2.000 µg/mL foi a concentração mais elevada utilizada no ensaio dos compostos do presente invento. O vírus foi adicionado à placa de ensaio aproximadamente 5 min após o composto de ensaio. Os controlos adequados foram também ensaiados. As placas de ensaio foram incubados com ar humidificado e CO_2 a 5% a 37°C. A citotoxicidade das células de controlo foi monitorizada microscopicamente relativamente às alterações morfológicas. A análise de

regressão dos dados do ECP do vírus e dos dados de controlo da toxicidade produziram o DE50 (dose eficaz a 50%) e o CC50 (concentração citotóxica a 50%). O índide de selectividade (IS) foi calculado pela fórmula: IS = CC50/DE50.

b. Determinação da Actividade Antiviral In Vitro dos Compostos contra o Dengue, Banzi e Febre Amarela (Ensaio de Inibição do ECP)

Os detalhes do ensaio são dados na referência anterior a Sidwell e Huffman.

Viroses:

O vírus de Dengue do tipo 2, estirpe da Nova Guiné, foi obtido no Centro para Controlo de Doenças. Utilizaram-se duas linhas de células de fígado de macaco para cultivar o vírus (Vero) e para efectuar o ensaio antiviral (MA-104). O vírus da febre Amarela, estirpe 17D, preparado a partir de cérebro de rato infectado, e o vírus Banzi, estirpe H 336, isolado a partir do soro de um rapaz febril da África do Sul, foram obtidos na ATCC. Utilizaram-se células Vero com ambas destas viroses e para o ensaio.

Células e Meios

As células MA-104 (BioWhittaker, Inc., Walker-

sville, MD) e células Vero (ATCC) foram utilizadas no meio 199 com SBF a 5% e $NaHCO_3$ a 1% e sem antibióticos.

O meio de ensaio para as viroses de dengue, febre amarela e Banzi foi o MEM, SBF a 2%, $NaHCO_3$ a 0,18% e 50 µg de gentamicina/mL.

O ensaio antiviral dos compostos do presente invento foi efectuado de acordo com a referência de Sidwell e Huffman e de maneira similar à do ensaio antiviral do rinovírus. Obtiveram-se leituras do efeito citopático (ECP) adequado após 5-6 dias para cada uma destas viroses.

C. Determinação da Actividade Antiviral In Vitro dos Compostos Contra o Vírus do Nilo Ocidental (Ensaio de Inibição do ECP)

Os detalhes do ensaio são dados na referência de Sidwell e Huffman citada anteriormente. O vírus do Nilo Ocidental, isolado de Nova Iorque derivado de cérebro de corvo, foi obtido no Centro para Controlo de Doenças. As células Vero foram desenvolvidos e utilizados como descrito anteriormente. O meio de ensaio foi o MEM, o SBF a 1%, $NaHCO_3$ a 0,1% e 50 µg de gentamicina/mL.

O ensaio antiviral dos compostos do presente invento foi efectuado seguindo os métodos de Sidwell e Huffman, os quais são similares aos utilizados no ensaio da actividade de rinovírus. As leituras do efeito citopático

(ECP) adequado foram obtidas ao fim de 5-6 dias.

d. Determinação da Actividade Antiviral In Vitro dos Compostos contra as Viroses rino, febre amarela, dengue, Banzi, e Nilo Ocidental (Ensaio de *Uptake* Vermelho Neutro)

Após realização dos ensaios de inibição do ECP anteriores, utilizou-se um método de detecção citopático adicional que é descrito em "Microtiter Assay for Interferon: Microspectrophotometric Quantification of Cytopathic Effect", Appl. Environ. Microbiol. 31: 35-38 (1976). Utilizou-se um leitor de microplacas Model EL309 (Bio-Tek Instruments Inc.) para ler a placa de ensaio. Os DE50's e os CD50's foram calculados como anteriormente.

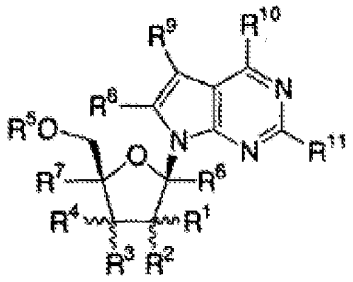
EXEMPLO DE UMA FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA

Como um modo de realização específico de uma composição oral de um composto do presente invento, 50 mg do composto do Exemplo 1 ou do Exemplo 2 foram formulados com uma quantidade suficiente de lactose finamente dividida para proporcionar uma quantidade total de 580 a 590 mg para encher uma cápsula de gelatina rija de dimensão O.

Lisboa, 22 de Março de 2007

REIVINDICAÇÕES

1. Composto com a fórmula estrutural I:



(I)

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável;

em que R^1 alquenilo C_{2-4}, alquinilo C_{2-4}, ou alquilo C_{1-4}, em que alquilo é insubstituído ou substituído por hidroxi, amino, alcoxi C_{1-4}, alquil C_{1-4}-tio, ou um a três átomos de flúor;

R^2 é hidrogénio, flúor, hidroxi, mercapto, alcoxi C_{1-4}, e alquilo C_{1-4}; ou R^1 e R^2 em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados formam um sistema de anel monocíclico saturado de 3 a 6 membros que contem facultativamente um heteroátomo seleccionado entre O, S e alquilo NC_{0-4};

R^3 e R^4 são cada um independentemente seleccionados dentro do grupo que consiste em hidrogénio, ciano, azido, halogénio, hidroxi, mercapto, amino, alcoxi C_{1-4}, alquenilo C_{2-4}, alquinilo C_{2-4}, e alquilo C_{1-4}, em que alquilo é insubstituído ou substituído por hidroxi, amino, alcoxi C_{1-4}, alquil C_{1-4}-tio, ou um a

três átomos de flúor;

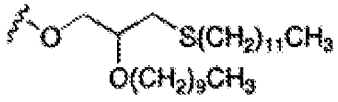
R^5 é hidrogénio, alquil C_{1-10}-carbonilo, $P_3O_9H_4$, $P_2O_6H_3$, ou $P(O)R^{13}R^{14}$;

R^6 e R^7 são cada um independentemente hidrogénio, metilo, hidroximetilo, fluorometilo; R^8 é hidrogénio, alquilo C_{1-4}, alquinilo C_{2-4}, halogénio, ciano, carboxi, alcoxicarbonilo C_{1-4}, azido, amino, alquilamino C_{1-4}, di(alquilo C_{1-4})amino, hidroxi, alcoxi C_{1-6}, alquiltio C_{1-6}, alquilsulfonilo C_{1-6}, (alquilo C_{1-4})$_{0-2}$aminometilo, ou ciclo-heteroalquilo C_{4-6}, insubstituído ou substituído por um a dois grupos seleccionados independentemente entre halogénio, hidroxi, amino, alquilo C_{1-4}, e alcoxi C_{1-4}; R^9 é hidrogénio, ciano, nitro, alquilo C_{1-3}, $NHCONH_2$, $CONR^{12}R^{12}$, $CSNR^{12}R^{12}$, $COOR^{12}$, $C(=NH)NH_2$, hidroxi, alcoxi C_{1-3}, amino, alquil C_{1-4}-amino, di(alquil C_{1-4})amino, halogénio, (1,3-oxazol-2-ilo), (1,3-tiazol-2-ilo), ou (imidazol-2-ilo); em que alquilo é insubstittuído ou substituído por um a três grupos seleccionados independentemente entre halogénio, amino, hidroxi, carboxi, e alcoxi C_{1-3};

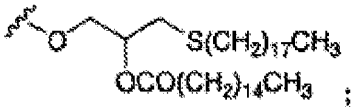
R^{10} e R^{11} são cada um independentemente hidrogénio, hidroxi, halogénio, alcoxi C_{1-4}, amino, alquil C_{1-4}-amino, di(alquilo C_{1-4})amino, cicloalquilamino C_{3-6}, di(cicloalquilo C_{3-6})amino, ou ciclo-heteroalquilo C_{4-6}, insubstituído ou substituído por um ou dois grupos seleccionados independentemente entre halogénio, hidroxi, amino, alquilo C_{1-4}, e alcoxi C_{1-4}; cada R^{12} é independentemente hidrogénio ou alquilo C_{1-6}; e

R^{13} e R^{14} são cada um independentemente hidroxi,

$OCH_2CH_2SC(=O)$alquilo C_{1-4}, $OCH_2O(=O)O$alquilo C_{1-4}, $NHCHMeCO_2Me$, OCH(alquil C_{1-4})$O(C=O)$alquilo C_{1-4},



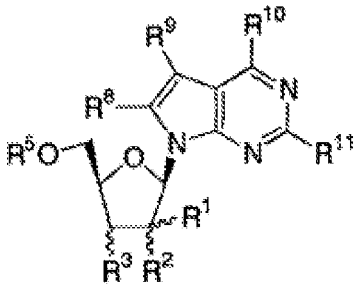
ou



;

com a condição de quando R^1 é β-metilo e R^4 é hidrogénio ou R^4 é β-metilo e R^1 é hidrogénio, R^2 e R^3 são α-hidroxi, R^{10} é amino, e R^5, R^6, R^7, R^8 e R^{11} são hidrogénio, então R^9 não é ciano ou $CONH_2$.

2. Composto de acordo com a Reivindicação 1 de fórmula estrutural II:



(II)

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável;

em que

R^1 é alquilo C_{1-3}, em que alquilo é insubstituído ou substituído por hidroxi, amino, alcoxi C_{1-3}, alquil C_{1-3}-tio, ou um a três átomos de flúor;

R^2 é hidroxi, flúor, ou alcoxi C_{1-3};

R^3 é hidrogénio, halogénio, hidroxi, amino, ou alcoxi C_{1-3};

R^5 é hidrogénio, $P_3O_9H_4$, $P_2O_6H_3$, ou PO_3H_2;

R^8 é hidrogénio, amino, ou alquil C_{1-4}-amino;

R^9 é hidrogénio, ciano, metilo, halogénio, ou $CONH_2$; e

R^{10} e R^{11} são cada um independentemente hidrogénio, halogénio, hidroxi, amino, alquil C_{1-4}-amino, di(alquil C_{1-4})amino, ou cicloalquil C_{3-6}-amino;

com a condição de que quando R^1 é β-metilo, R^2 e R^3 são α-hidroxi, R^{10} é amino, e R^5, R^8 e R^{11} são hidrogénio, então R^9 não é ciano ou $CONH_2$.

3. Composto de acordo com a Reivindicação 1 ou Reivindicação 2, em que

R^1 é metilo, fluorometilo, hidroximetilo, difluorometilo, trifluorometilo, ou aminometilo;

R^2 é hidroxi, flúor, ou metoxi;

R^3 é hidrogénio, flúor, hidroxi, amino, ou metoxi;

R^5 é hidrogénio ou $P_3O_9H_4$;

R^8 é hidrogénio ou amino;

R^9 é hidrogénio, ciano, metilo, halogénio, ou $CONH_2$; e

R^{10} e R^{11} são cada um independentemente hidrogénio, flúor, hidroxi, ou amino;

com a condição de que quando R^1 é β-metilo, R^2 e R^3 são α-hidroxi, R^{10} é amino, e R^5, R^8, e R^{11} são hidrogénio, então R^9 não é ciano nem $CONH_2$.

4. Composto seleccionado entre

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

4-amino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina,
4-metilamino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-dimetilamino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-ciclopropilamino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-7-(2-*C*-vinil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-7-(2-*C*-hidroximetil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-7-(2-*C*-fluorometil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-5-metil-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-d]pirimidina,
Ácido 4-amino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-5-carboxílico,
4-amino-5-bromo-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-5-cloro-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-5-flúor-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
2,4-diamino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
2-amino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
2-amino-4-ciclopropilamino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,

2-amino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidin-4(3*H*)-ona,
4-amino-7-(2-*C*-etil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-d]pirimidina,
4-amino-7-(2-C,2-*O*-dimetil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-4(3*H*)-one,
2-amino-5-metil-7-(2-*C*,2-O-dimetil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina-4(3*H*)-one,
4-amino-7-(3-desoxi-2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-7-(3-desoxi-2-*C*-metil-β-D-arabinofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-2-fluor-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-7-(2,4-di-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina, e
4-amino-7-(3-desoxi-3-fluor-2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina;

e os 5'-trifosfatos correspondentes;
ou um seu sal farmaceuticamente aceitável

5. Composto de acordo com a Reivindicação 4 seleccionados entre:
4-amino-7-(2-*C*-metil-β-D-arabinofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,

4-amino-7-(2-*C*-fluorometil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-5-metil-7-(2-*C*-metil-β-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-5-bromo-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-5-cloro-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
4-amino-5-fluor-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina, e
4-amino-7-(2-*C*,2-O-dimetil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina,
e os 5'-trifosfatos correspondentes
ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

6. Composto de acordo com a Reivindicação 5, o qual é 4-amino-7-(2-*C*-metil-β-D-arabinofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina;
ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

7. Composto da Reivindicação 5, o qual é 4-amino-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina;
ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

8. Composto de acordo com a Reivindicação 5, o qual é 4-amino-7-(2-*C*-fluorometil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina;
ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

9. Composto de acordo com a Reivindicação 5, o qual é 4-amino-5-cloro-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina;
ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

10. Composto de acordo com a Reivindicação 5, o qual é 4-amino-5-bromo-7-(2-*C*-metil-β-D-ribofuranosil)-7*H*-pirrolo[2,3-*d*]pirimidina;
ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

11. Composição farmacêutica que compreende um composto de acordo com qualquer uma das Reivindicações 1 a 10, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável em associação com um veículo farmaceuticamente aceitável.

12. Combinação de um composto de acordo com qualquer uma das Reivindicações 1 a 10, ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável com uma quantidade terapeuticamente eficaz de um outro agente activo contra o VCH para administração simultânea, separada ou sequencial.

13. Combinação de acordo com a Reivindicação 12, em que o referido agente activo contra o VCH é a ribavirina; levovirina; timosina alfa-1; um inibidor de protease de serina NS3; um inibidor de desidrogenase de monofosfato de inosina; interferão-α ou interferão-α pegilado, isoladamente ou em combinação com ribavirina ou levovirina.

14. Combinação de acordo com a Reivindicação 13, em que o referido agente activo contra o VCH é interferão-α ou interferão-α pegilado, isoladamente ou em combinação com ribavirina.

15. Composto de acordo com qualquer uma das Reivindicações 1 a 10 ou um seu sal farmaceuticamente aceitável para utilização terapêutica num método de tratamento do corpo humano ou animal.

16. Utilização de um composto de acordo com qualquer uma das Reivindicações 1 a 10 ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável para a manufactura de um medicamento para a inibição da ARN polimerase viral ARN-dependente ou para inibição da replicação viral do ARN ARN-dependente ou tratamento de uma infecção viral do ARN ARN-dependente num mamífero.

17. Utilização de acordo com a Reivindicação 16, em que a referida ARN polimerase viral ARN-dependente é VCH NS5B e em que a replicação viral do ARN ARN-dependente é a replicação viral de VCH.

18. Utilização de acordo com a Reivindicação 16, em que a referida infecção viral do ARN ARN-dependente é a infecção C da hepatite.

19. Composição farmacêutica de acordo com a Reivindicação 11, em que o composto é o composto da Reivindicação 7.

20. Utilização de acordo com a Reivindicação 18, em que o composto é o composto da Reivindicação 7.

Lisboa, 22 de Março de 2007