



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112016019469-1 B1



(22) Data do Depósito: 06/02/2015

(45) Data de Concessão: 06/12/2022

(54) Título: TRATAMENTO DE INFECÇÕES POR H. PYLORI UTILIZANDO -SE INIBIDORES DE MTAN

(51) Int.Cl.: C07D 471/04; A61K 31/519; C07D 487/04; A61P 31/04.

(30) Prioridade Unionista: 12/02/2014 US 61/938,755.

(73) Titular(es): ALBERT EINSTEIN COLLEGE OF MEDICINE, INC.; VICTORIA LINK LIMITED.

(72) Inventor(es): VERN L. SCHRAMM; KEITH CLINCH; SHIVALI ASHWIN GULAB.

(86) Pedido PCT: PCT US2015014778 de 06/02/2015

(87) Publicação PCT: WO 2015/123101 de 20/08/2015

(85) Data do Início da Fase Nacional: 11/08/2016

(57) Resumo: TRATAMENTO DE INFECÇÕES POR H. PYLORI UTILIZANDO-SE INIBIDORES DE MTAN. Expõem-se métodos de tratamento de infecções provocadas pelo *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), em particular em indivíduos que são portadores de uma úlcera péptica, onde os métodos compreendem administrar ao indivíduo os inibidores de *H. pylori* MTAN (5'-metiltioadenosina nucleosidase).

TRATAMENTO DE INFECÇÕES POR *H. PYLORI* UTILIZANDO -SE
INIBIDORES DE MTAN

Remissão a Pedido Relacionado

[0001] O presente pedido reivindica o benefício do pedido de patente provisório U.S. N°. 61/938.755, depositado em 12 de fevereiro de 2014, cujo conteúdo fica incluído neste contexto por referência na sua totalidade.

Declaração de Apoio do Governo

[0002] A presente invenção foi realizada com o apoio do governo sob o número de concessão GM41916 concedido pelo Nacional Institutos of. Health e sob o número de concessão P30 -EB -009998 do Center for Synchrotron Biosciences concedido pelo National Institute of Biomedical Imaging e Bioengineering (NIBIB). O governo tem determinados direitos sobre a invenção.

Campo da Invenção

[0003] A invenção refere -se ao tratamento de infecções devidas ao *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) mediante utilização de inibidores de *H. pylori* MTAN (5' - metiltioadenosina nucleosidase), em particular em indivíduos que têm uma úlcera péptica.

Antecedentes da Invenção

[0004] Por todo o presente pedido faz -se referência a várias publicações nos sobrescritos. Citações completas para estas referências podem ser encontradas no final do relatório, antes das reivindicações. As exposições destas publicações são aqui incluídas por referência na sua totalidade no pedido em apreço para descrever mais amplamente a técnica com a qual o presente pedido se relaciona.

[0005] O *H. pylori* é compreendido por uma bactéria gram -negativa e vive micro aerofilicamente na

mucosa gástrica de seu hospedeiro humano. Ele está relacionado com 85 por cento das úlceras¹ gástricas e 95 por cento da duodenal. A resistência a fármacos é preponderante em casos clínicos isolados do *H. pylori*. Depois de menos de trinta anos de tratamento com antibiótico específico, é cada vez mais difícil de erradicar o *H. pylori* utilizando -se uma combinação de dois antibióticos com duas semanas de terapia². São necessários antibióticos com novos alvos e mecanismos de ação para se tratar as infecções pelo *H. pylori*.

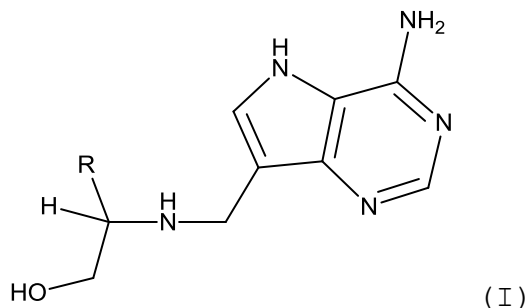
[0006] As bactérias gram negativas são dependentes de menaquinona como transportadores de elétrons na respiração e têm mantido vias biossintéticas para estes metabolitos³ essenciais. Em contraste, os seres humanos não têm a via de síntese de menaquinona, e o direcionamento da via de menaquinona proporciona uma abordagem para concepção de fármaco antibacteriano. Recentemente, foi proposto um caminho de menaquinona sintética em *Campylobacter* e *Helicobacter* que difere da maioria das bactérias^{4,5}. Neste caminho, 6 -amino -6 -deoxifutalosina é sintetizado por meio de MqnA e clivado na ligação N - ribosídica por um MTAN com especificidade estendendo -se também para 5' -metiltioadenosina e adenosil -homocisteína bem como 6 -amino -6 -deoxifutalosina. O HpMTAN converte 6 -amino -6 -deoxifutalosina para adenina e deipoxantina futalosina, sendo esta última usada como o processador da síntese de menaquinona. As relações iniciais deste caminho não existem na flora bacteriana normal dos seres humanos, tornando as enzimas que catalisam as reações atraentes objetivos de fármacos. O HpMTAN está estreitamente relacionado com as hidrolases de 5' -metiltioadenosina/S - adenosil -homocisteína (MTANs) encontradas em outras bactérias. As bem caracterizadas MTANs estão associadas

com o sensor de quorum e reciclagem de S -adenosilmetionina na maioria das espécies e não são essenciais para o crescimento⁶ de bactérias. Inibidores da transição de estado analógicos de picomolar a afinidade femtomolar foram desenvolvidos para interromper as funções bacterianas associadas com o sensor de quorum^{6,7}.

[0007] A presente invenção está direcionada à necessidade de novos compostos que bloqueiam seletivamente o crescimento do *H. pylori*.

Sumário da Invenção

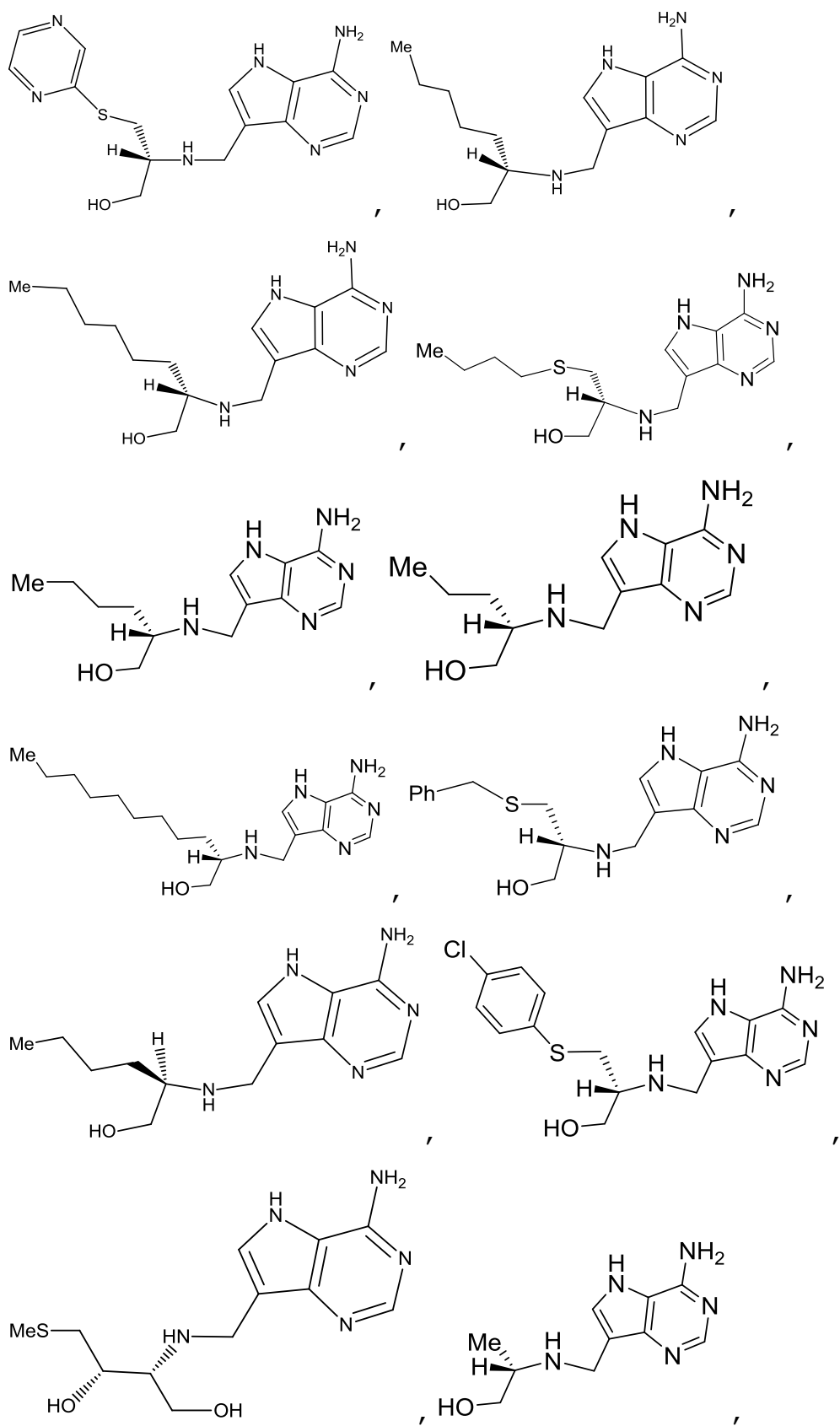
[0008] A invenção proporciona métodos de tratamento de uma infecção pelo *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) em um indivíduo que compreende administrar ao indivíduo um composto da fórmula (I) em uma quantidade efetiva para inibir o crescimento do *H. pylori*, em que a fórmula (I) é compreendida por

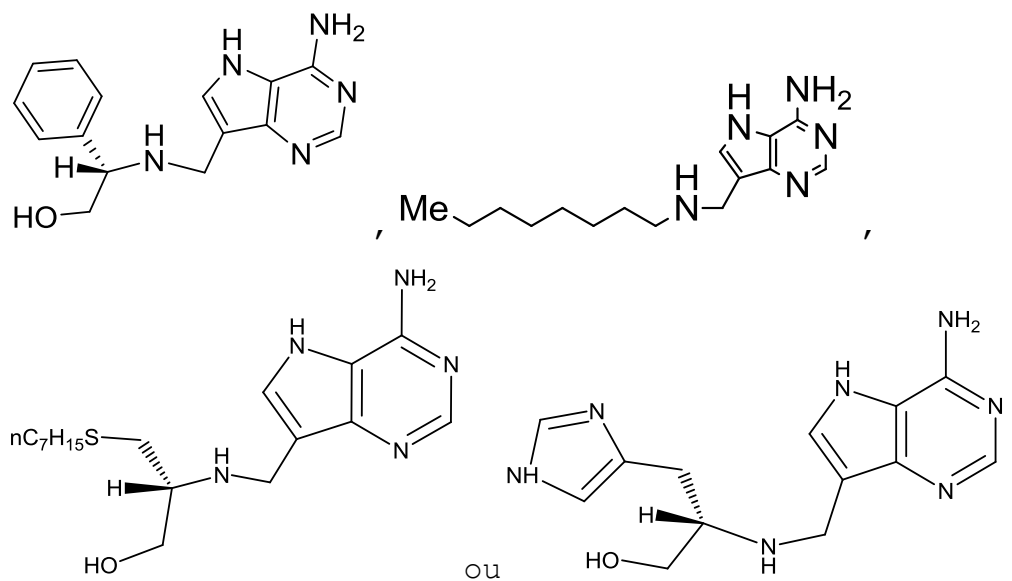


em que R é compreendido por Q ou CH₂SQ, em que Q é compreendido por C1 -C9 alquila aril, heteroarila, aralquila, ou C4 -C7 cicloalquila e em que Q é opcionalmente substituído por um ou mais grupos halogênio, OH e / ou NH₂,

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, ou um éster do mesmo.

[0009] Além disso, a invenção proporciona um composto que é dotado da estrutura:





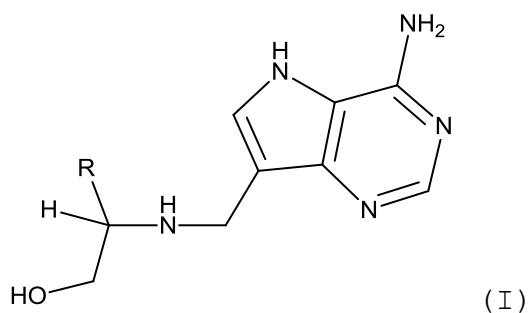
ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, ou um éster do mesmo.

Descrição Breve dos Desenhos

[0010] Figura 1. Concentração de Hexil -SerMe -Immucillin A em mucina gástrica de camundongo VS tempo em seguida a uma única dose de 10 mg/kg PO.

Descrição Detalhada da Invenção

[0011] A invenção proporciona um método de tratamento de uma infecção pelo *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) em um indivíduo que compreende administrar ao indivíduo um composto da fórmula (I) em uma quantidade efetiva para inibir o crescimento do *H. pylori*, em que a fórmula (I) é compreendida por

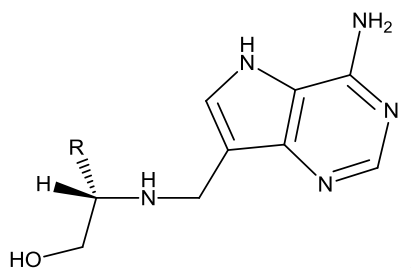


em que R é compreendido por Q ou CH_2SQ , em que Q é compreendido por C1 -C9 alquila, aril, heteroarila,

aralquila, ou C4 -C7 cicloalquila, e em que Q é opcionalmente substituído por um ou mais grupos halogênio, OH e / ou NH₂ ,

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, ou um éster do mesmo.

[0012] Os compostos preferidos incluem aqueles que são dotados da fórmula



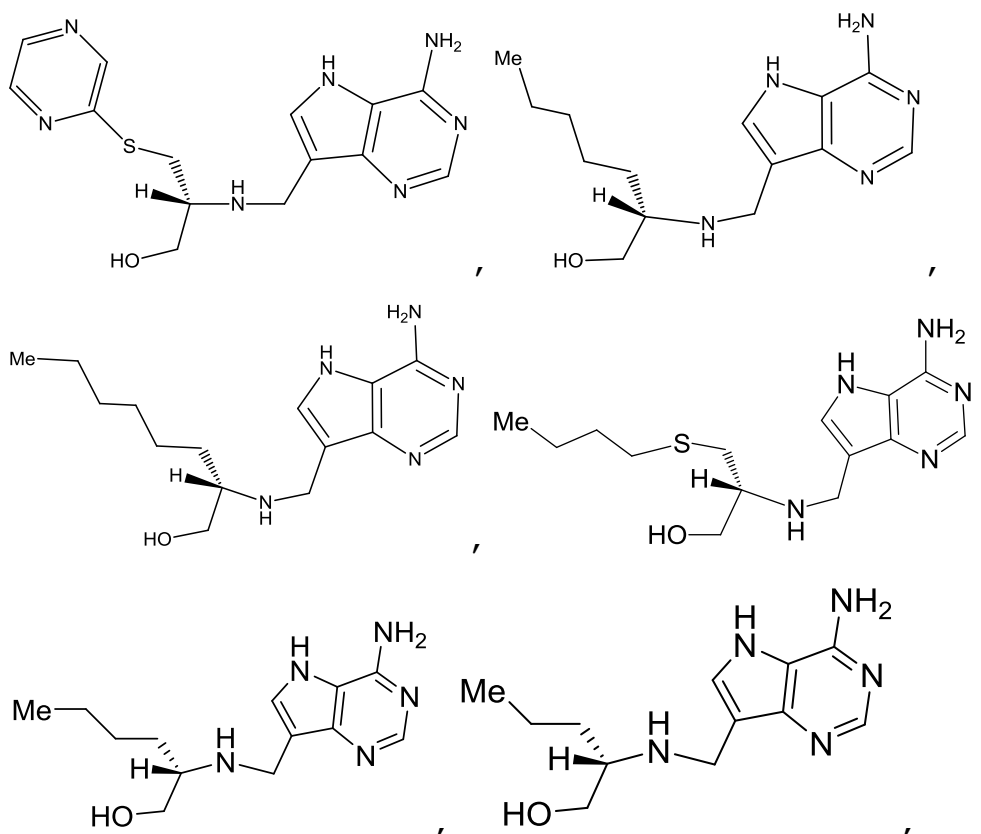
[0013] Q pode ser, por exemplo, C1 -C9 alquila, por exemplo, C1 -C5 alquila; por exemplo, um grupo metil (Me), etil (Et), propil (Pr), butil ou pentil. Q pode ser, por exemplo, C4 -C7 cicloalquila, ou seja, C4 cicloalquila, C5 cicloalquila, C6 cicloalquila, ou C7 cicloalquila. Q pode ser, por exemplo, aril. O termo "aril" significa um radical aromático que é dotado de 4 até 12 átomos de carbono. Exemplos incluem fenil, 1 -naftil e 2 -naftil. "Heteroarila" significa um anel de 4 até 12 elementos que incluem um ou mais átomos de N, S, ou O no anel. Exemplos incluem imidazol -4 -il, imidazol -2 -il, tiazol -2 -il, tiazol -4 -il, tiazol -5 -il, piridin -2 -il, piridina -3 -il, piridina -4 -il e pirazin -2 -il. Arilas e heteroarilas preferidos incluem aqueles que são dotados de 5 ou 6 elementos no anel. De preferência, o aralquila inclui um grupo C1 -C3 alquila e um anel de 4 -6 elementos, que podem incluir heteroátomos.

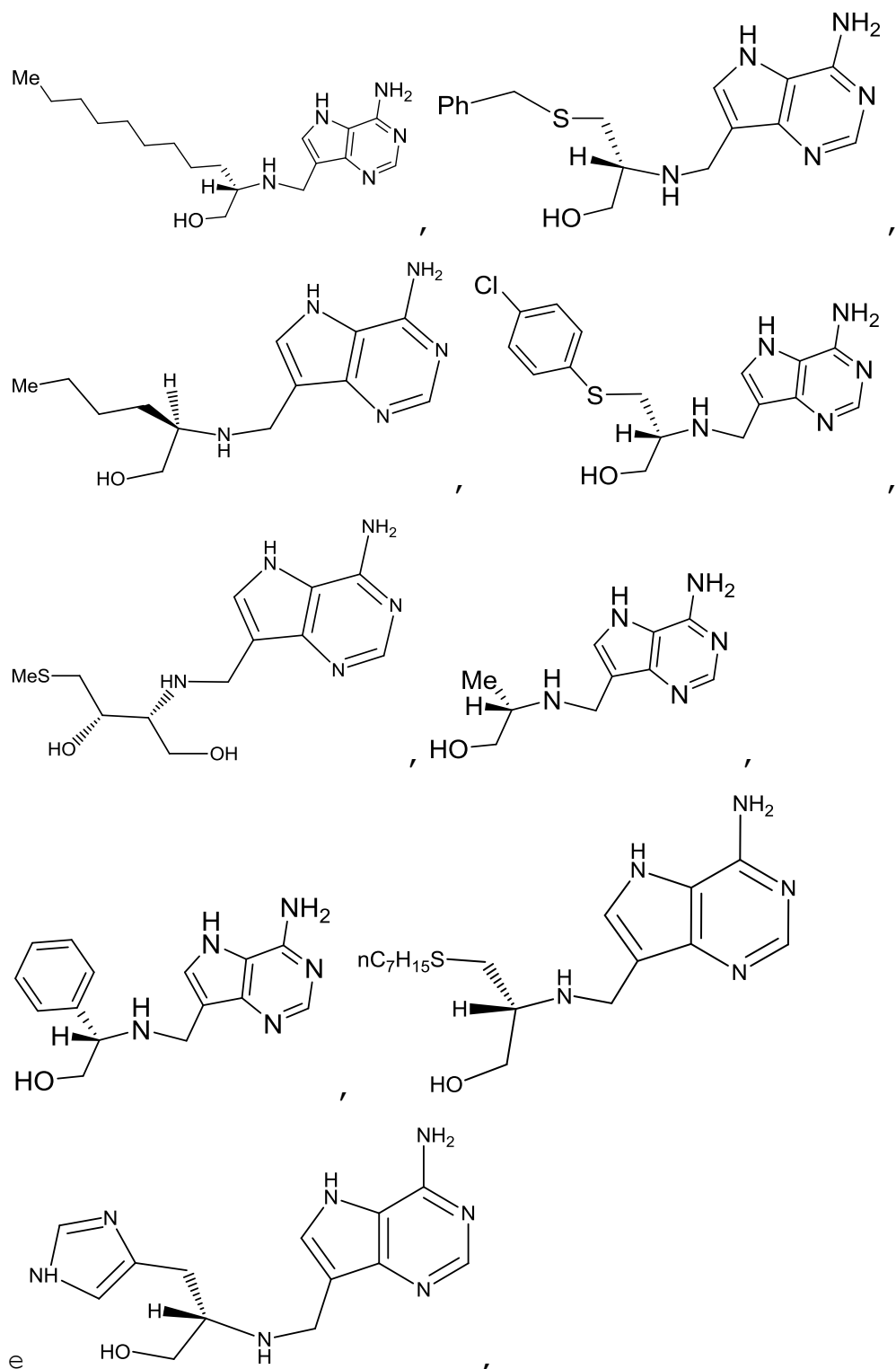
[0014] Q pode ser substituído por um ou mais grupos halogênio, hidroxila ou NH₂. Os halogênios preferidos são Cl, F, Br ou I. O cloro e flúor são os

halogênios de maior preferência. A substituição pode ser realizada em uma posição *orto*, *meta* ou *para*.

[0015] Os compostos preferidos incluem aqueles onde R é compreendido por Q ou CH₂SQ, em que Q é compreendido por C2 -C9 alquila linear, aril, heteroaril, aralquila, ou C4 -C7 cicloalquila, e em que Q é opcionalmente substituído por um ou mais grupos halogênio, OH e / ou NH₂. os compostos preferidos também incluem aqueles onde Q é compreendido por C3 -C9 alquila linear ou heteroarila.

[0016] Os compostos preferidos incluem aqueles que são selecionados a partir do grupo que consiste de

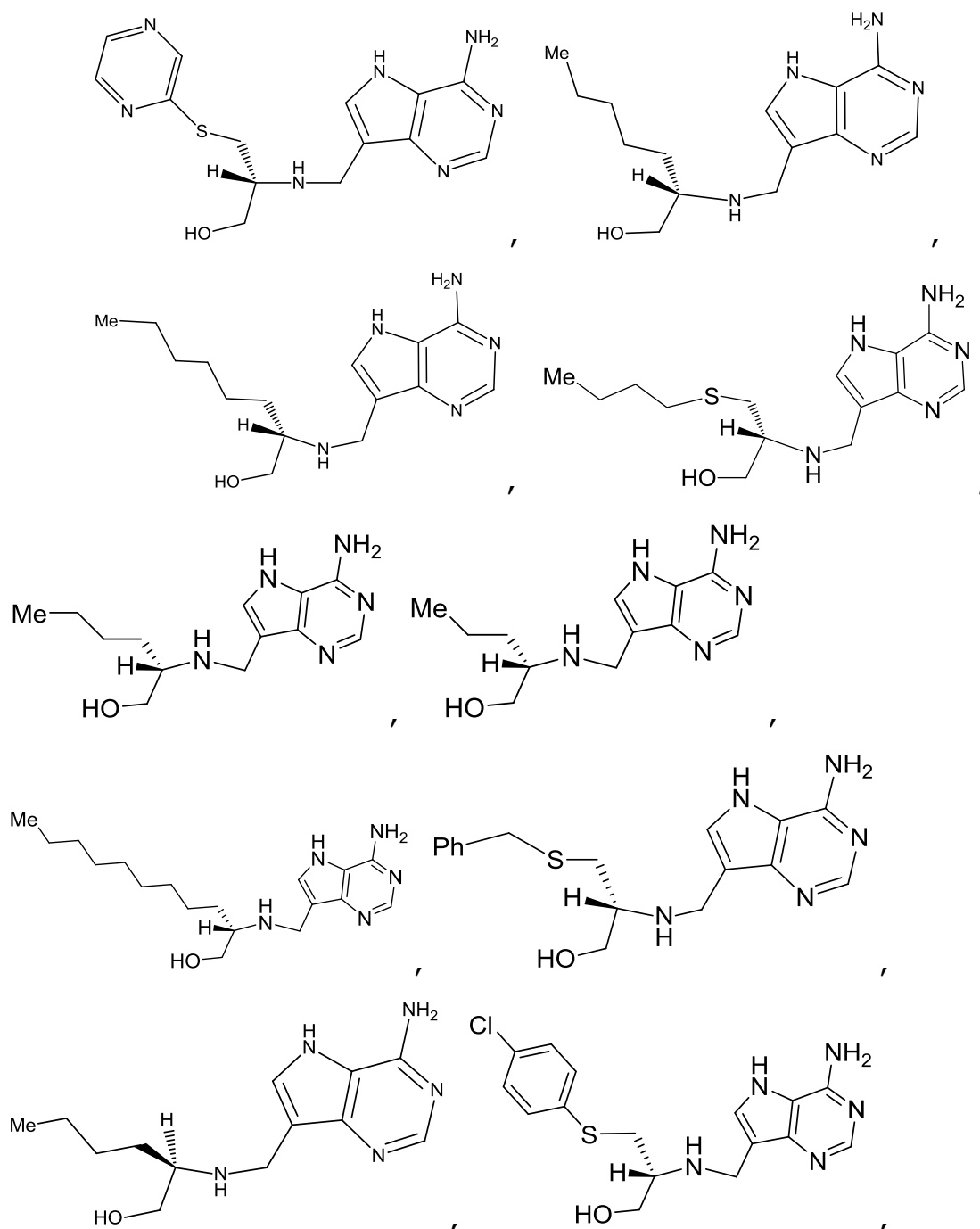


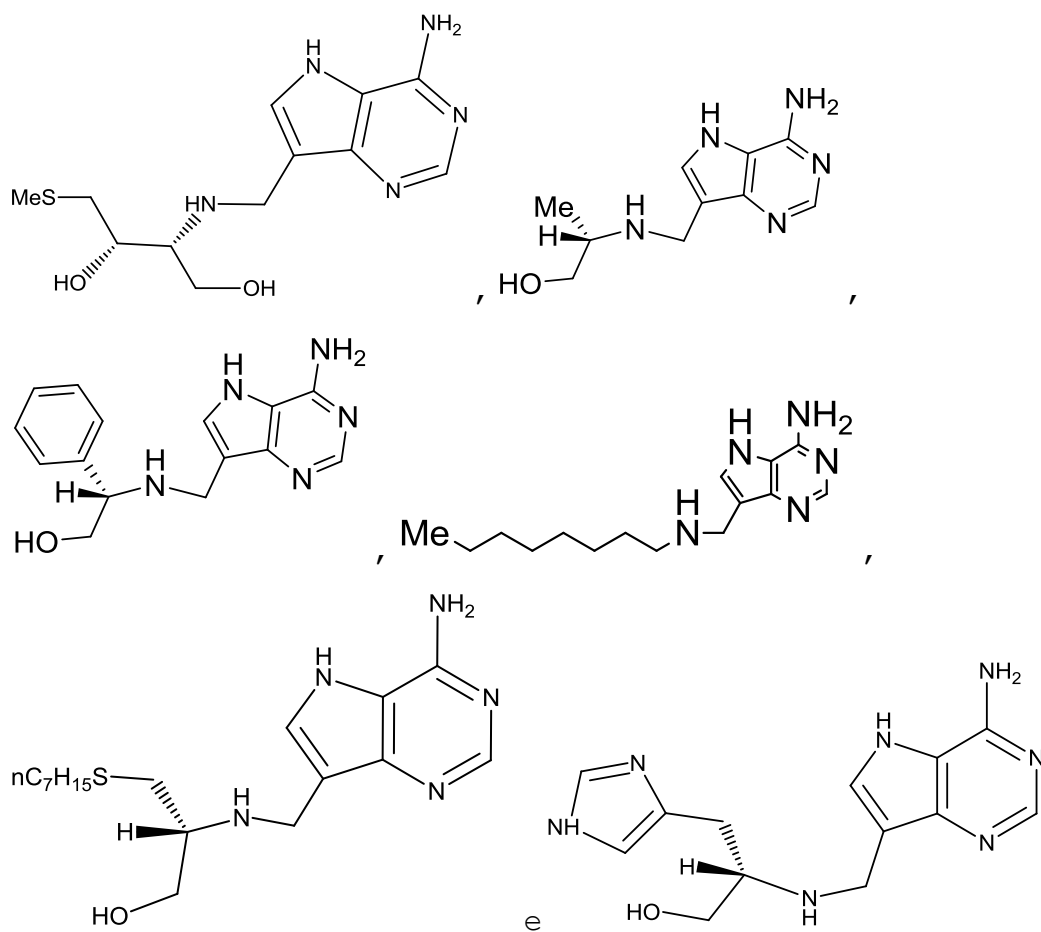


ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, ou um éster do mesmo.

[0017] Consequentemente, a invenção proporciona um método de tratamento de uma infecção pelo

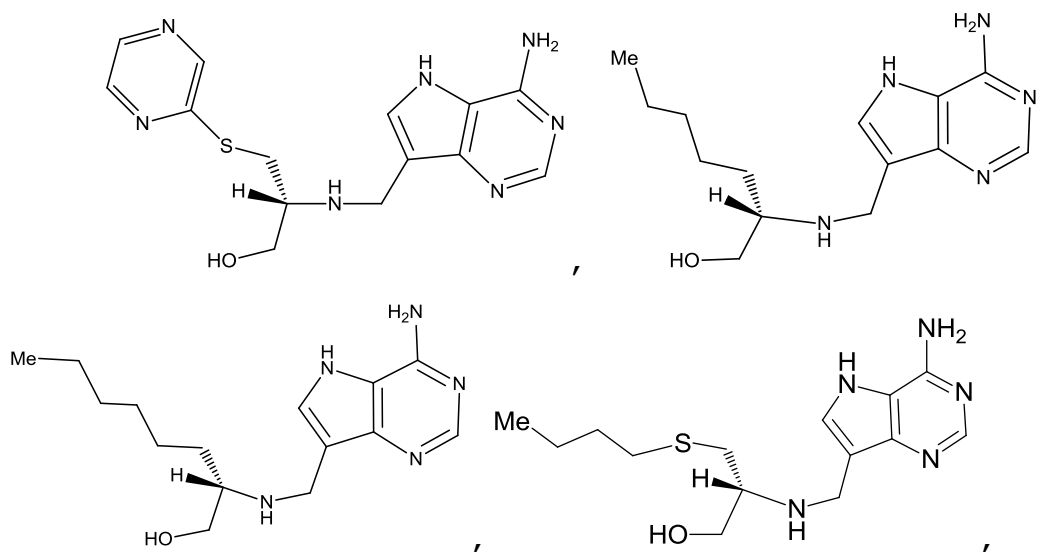
Helicobacter pylori (*H. pylori*) em um indivíduo que compreende administrar ao indivíduo um composto em uma quantidade efetiva para inibir o crescimento do *H. pylori*, em que o composto é selecionado a partir do grupo que consiste de:

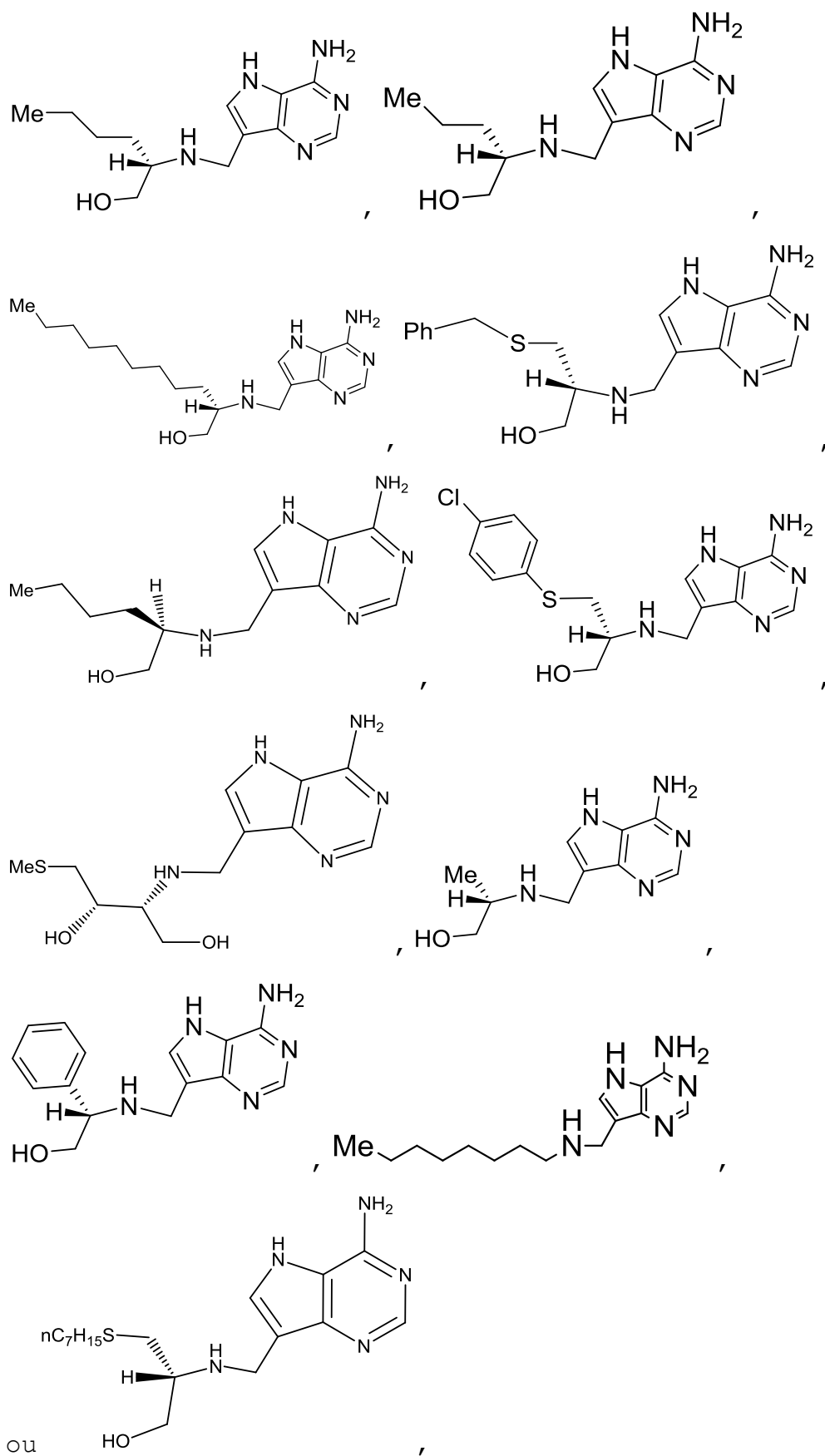




ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, ou um éster do mesmo.

[0018] A invenção proporciona ainda um composto que é dotado da estrutura:





ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, ou um éster do mesmo.

[0019] O termo "sais farmacologicamente aceitáveis" inclui os sais não tóxicos derivados de ácidos inorgânicos ou orgânicos, incluindo, por exemplo, os seguintes sais de ácidos: acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, benzenossulfonato, bissulfato, butirato, citrato, canforato, canforsulfonato, ciclopentano propionato, digluconato, dodecilsulfato, etanossulfonato, formato, fumarato, glicó -heptanoato, glicerofosfato, glicolato, hemissulfato, heptanoato, hexanoato, cloridrato, bromidrato, hidróiodeto, 2 -hidróxi etanossulfonato, lactato, maleato, malonato, metanossulfonato, 2 -naftalenossulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, 3 -fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, *p* -toluenossulfonato, salicilato, succinato, sulfato, tartarato, tiocianato, e undecanoato.

[0020] De preferência, o composto é administrado em uma quantidade que é efetiva para inibir o *H. pylori* 5' -metiltioadenosina nucleosidase (MTAN).

[0021] De preferência, o composto inibe o crescimento do *H. pylori*, mas não inibe o crescimento de uma ou mais bactérias selecionadas a partir do grupo que consiste de *E. coli*, *V. cholerae*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. flexneri*, *S. enterica* e *P. aeruginosa*. Com maior preferência, o composto não inibe o crescimento de todos os *E. coli*, *V. cholerae*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. flexneri*, *S. enterica* e *P. aeruginosa*. De preferência, o composto é mais efetivo para inibir o crescimento do *H. pylori* do que é a amoxiciclina, metronidazol ou tetraciclina.

[0022] De preferência, o indivíduo é portador

de uma úlcera péptica, tais como uma úlcera gástrica ou uma úlcera duodenal.

[0023] De preferência, o composto é administrado de forma oral. Para a administração oral, o composto pode ser formulado em um preparado sólido ou líquido, por exemplo, comprimidos, cápsulas, pós, soluções, suspensões e dispersões. O composto pode ser formulado com agentes tais como, por exemplo, lactose, sacarose, amido de milho, gelatina, amido de batata, ácido algínico e / ou estearato de magnésio.

[0024] O composto também pode ser administrado a um indivíduo por meio de outras vias conhecidas na técnica, tais como, por exemplo, de forma parenteral, por meio de inalação, de forma tópica, de forma retal, de forma nasal, de forma bucal ou por intermédio de um reservatório implantado. O composto pode ser administrado por meio de liberação sustentada.

[0025] A invenção proporciona, além disso, o uso de um composto que inibe o *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) MTAN para a preparação de um medicamento para tratar uma infecção pelo *H. pylori*. Além disso, a invenção proporciona ainda um composto que inibe o *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) MTAN para o uso para o tratamento de uma infecção pelo *H. pylori*.

[0026] A invenção proporciona, além disso, o uso de um composto que inibe o *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) MTAN para a preparação de um medicamento para tratamento de uma úlcera péptica. Além disso, a invenção proporciona ainda um composto que inibe o *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) MTAN para o uso no tratamento de uma úlcera péptica.

[0027] Os presentes métodos também podem ser aplicados ao tratamento de infecções devidas a outras

espécies de *Helicobacter* e a espécies de *Campylobacter*, tais como *C. jejuni*.

[0028] A invenção proporciona além disso uma composição farmacêutica que compreende qualquer um dos compostos expostos neste contexto e um carreador farmacêuticamente aceitável. Da forma que é utilizado neste contexto, um "carreador farmacêuticamente aceitável" é (i) compatível com os outros ingredientes da composição sem tornar a composição inadequada para o seu propósito pretendido, e (ii) adequada para o uso com indivíduos como proporcionados neste contexto sem efeitos colaterais adversos (tais como toxicidade, irritação, e resposta alérgica). Os efeitos colaterais são "adversos" quando o risco supera os benefícios proporcionados pela composição. Exemplos não limitativos dos carreadores farmacêuticamente aceitáveis incluem qualquer um dos carreadores farmacêuticamente aceitáveis usuais, tais como soluções salinas tamponadas por fosfato, água, e emulsões tais como emulsões de óleo / água e micro emulsões.

[0029] A presente invenção será mais bem compreendida a partir dos detalhes experimentais que se seguem. Não obstante, a pessoa versada na técnica apreciará facilmente que os métodos específicos e resultados discutidos são meramente ilustrativos da invenção conforme descrita mais plenamente nas reivindicações que são apresentadas em anexo.

Detalhes Experimentais

EXEMPLO 1

Materiais e Métodos

[0030] *Materiais.* *H. pylori* (J99 e 43504), *K. pneumoniae*, *S. flexneri*, *S. enterica*, *S. aureus* e *P. aeruginosa* foram adquiridos a partir da American Type Culture Collection. Sangue de cavalo desfibrinado (DHB)

foi proveniente dos Hemostat Laboratories (Dixon, CA). Ágar de soja triptica (TSA) foi adquirida a partir da Becton Dickinson e Company (Sparks, MD). Ágar MacConkey foi proveniente da Oxoid LTD. (Basingstoke, Hampshire, England). Xantina oxidase e 5' -metiltioadenosina foram adquiridos a partir da Sigma -Aldrich (St Louis, MO). O restante dos materiais foi adquirido com a pureza mais elevada disponível.

[0031] *Purificação de HpMTAN.* Foi descrito anteriormente¹⁰ o procedimento de purificação de HpMTAN. Sucintamente, células BL21 (DE3) contendo um plasmídeo que codifica HpMTAN com um marcador His6 N -terminal foram cultivadas para uma densidade óptica de 0,7 medida sob 595 nm e IPTG foi introduzido para uma concentração final de 0,5 mM. Depois de outras 15 h sob 22°C, as células foram coletadas por meio de centrifugação. O grânulo foi colocado em suspensão e depois rompido por célula de pressão e sonicação. A parte solúvel foi aplicada a uma coluna Ni -NTA e HpMTAN foi eluído com um gradiente de concentração de imidazol de 200 a 500 mM. A proteína foi dessalinizada utilizando -se uma coluna de gel de filtração Superdex G15, então equilibrada e concentrada em 10 mM Hepes, 30 mM de KCl, pH 7,6. A pureza foi confirmada por meio de SDS -PAGE.

[0032] *Determinação de K_i .* A cinética de HpMTAN foi determinada utilizando -se um ensaio direto envolvendo diminuição de absorção sob 274 nm continuamente como uma consequência da formação de adenina livre a partir de 5' -metiltioadenosina. Os valores de K_i e K_i^* foram determinados utilizando -se ensaios acoplados, em que foi usada xantina oxidase como a enzima de acoplamento e aumento de absorvência foi seguido a 292 nm como o produto de adenina é convertido para 2,8 -diidrox adenina. Os dois

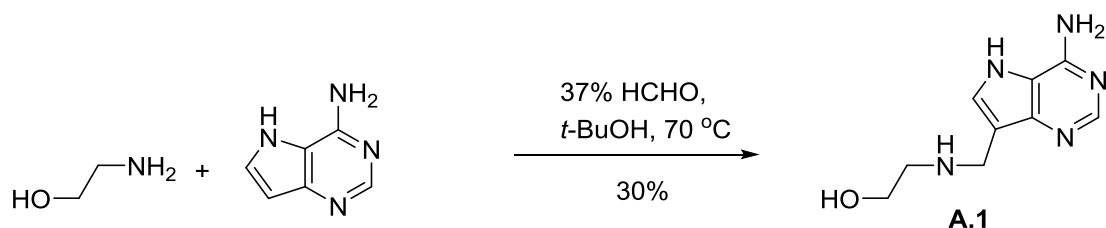
ensaios foram previamente descritos⁸.

[0033] *Crescimento bacteriano.* *H. pylori* foram cultivados durante 72 horas sob condição micro aerofílica (5% O₂, 10% CO₂ e 85% N₂) sob 37°C em ágar de soja tríptica com sangue de cavalo a 5%. Para se determinarem os valores de MIC, a substância de teste foi adicionada à solução de gel imediatamente antes de ser vazada. Para comparar as zonas de inibição, adicionaram - se antibióticos específicos ao centro do disco depois de se espalhar *H. pylori*, e então deixou -se o *H. pylori* crescer durante 72 horas sob condições micro aerófilas sob 37°C.

[0034] *Experimental geral para compostos.* Todas as reações foram realizadas sob uma atmosfera de argônio. As soluções orgânicas foram submetidas a secagem sobre MgSO₄ anidro e os solventes foram evaporados sob pressão reduzida. Solventes anidro e de cromatografia foram obtidos comercialmente e usados sem qualquer outra purificação. *tert* -Butóxido de potássio foi sublimado sob 220°C/0,1 torr. Cromatografia de camada fina (TLC) foi realizada em folhas de vidro ou alumínio revestidas com sílica gel 60 F₂₅₄. Os compostos orgânicos foram visualizados sob luz UV e / ou um banho de 0,1% de ninidrina em EtOH, Solução de Ehrlich ou molibdato de amônio (5% em massa) e sulfato de cério (IV) 4 H₂O (0,2% em massa) em H₂SO₄ aq. (2 M). Cromatografia (coluna flash ou um sistema automatizado com meio de gradiente contínuo) foi realizada em um sistema de sílica gel (40 -63 µm). As rotações ópticas foram gravadas em um comprimento de percurso de 1 dm e estão em unidades de 10⁻¹ deg cm² g⁻¹; as concentrações são em g/100 mL. Os espectros de ¹H NMR foram medidos em CDCl₃ ou CD₃OD (Me₄Si interno, δ 0) e ¹³C NMR espectros em CDCl₃ (linha de centro como estabelecida) ou CD₃OD (linha de centro como estabelecida). As

atribuições das ressonâncias de ^1H e ^{13}C foram baseados em 2D (^1H - ^1H DQF -COSY, ^1H - ^{13}C HSQC) e experimentos DEPT. As abreviaturas usadas foram: s, singlete, d, dubleto, t, tripleto, q, quarteto, bs, siblete amplo, bt, tripleto amplo, dd, dubleto de dubletos, ddd, dubleto de dubletos de dubletos, dt, dubleto de tripletos. Espectros de massa de eletropulverização de alta resolução (ESI -HRMS) foram registrados em um Espectrômetro de Massa em TandemQ -TOF.

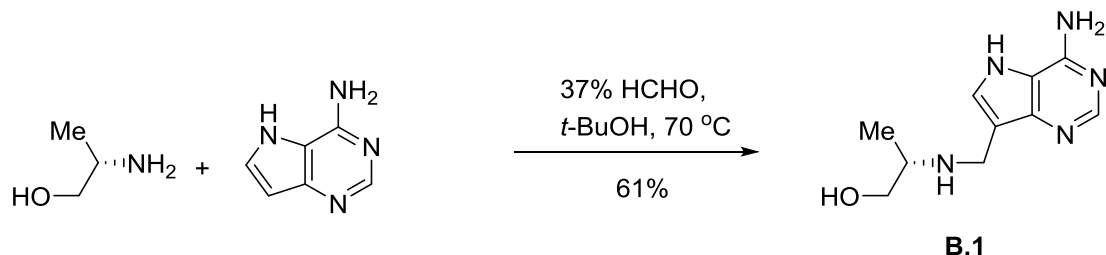
[0035] *Exemplo A. Síntese de 2 -[({4 -amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il}metil)amino]etan -1 -ol (A.1).*



[0036] 2 -[({4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il}metil) amino] etan -1 -ol (A.1). Submeteram -se a agitação 2 -aminoetanol (0,099 mL, 1,64 mmol), 9 -deaza adenina (0,220 g, 1,64 mmol) e solução aq. de formaldeído (37%, 0,15 mL, 1,99 mmol) em conjunto em terc -butanol (3 mL) sob 70°C durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo purificado por meio de cromatografia em sílica gel (CHCl_3 -MeOH -28% aq. de NH_4OH , 70:25:5). As frações que continham produto foram evaporadas e o resíduo cromatografado novamente em sílica gel (2 -PrOH -28% aq. NH_4OH , 92:8) para se proporcionar A.1 na forma de um sólido incolor (0.101 g, 30%). ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 8,16 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 3,95 (s, 2H), 3,68 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 2,78 (t, J = 5,6 Hz, 2H), ^{13}C NMR (125,7 MHz, CD_3OD , linha de centro δ 49,0): δ 152,1 (C), 150,9 (CH), 146,6 (C), 129,0 (CH), 115,4 (C), 114,4 (C),

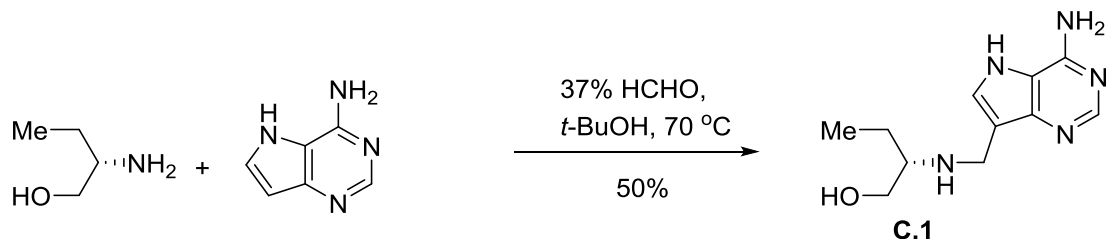
61,6 (CH₂), 51,6 (CH₂), 43,4 (CH₂), ESI -HRMS calculado para C₉H₁₄N₅O⁺, (M+H)⁺, 208,1193, encontrado 208,1192.

[0037] *Exemplo B. Síntese de (2S)-2-[(4-amino-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metil)amino]propan-1-ol (B.1).*



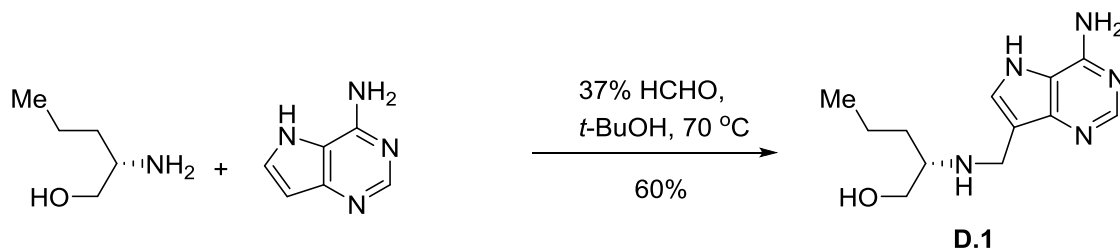
[0038] *(2S)-2-[(4-Amino-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metil) amino]propan-1-ol (B.1).* (2S)-2-Aminopropan-1-ol (0,120 g, 1,60 mmol), 9-deazaadenina (0,179 g, 1,33 mmol) e solução aquosa de formaldeído (37%, 0,12 mL, 1,60 mmol) foram submetidos a agitação em conjunto em *tert*-butanol (3 mL) sob 70°C durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo purificado por meio de cromatografia em sílica gel (CHCl₃ - MeOH -28% aq. NH₄OH, 80:18,5:1,5) para se proporcionar B,1 na forma de um sólido incolor (0,180 g, 61%), ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,16 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 4,01 (d, *J* = 13,6 Hz, 1H), 3,92 (d, *J* = 13,6 Hz, 1H), 3,54 (dd, *J* = 11,0, 4,8 Hz, 1H), 3,43 (dd, *J* = 11,0, 7,0 Hz, 1H), 2,84 (m, 1H), 1,09 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H). ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 152,1 (C), 150,9 (CH), 146,5 (C), 128,9 (CH), 115,4 (C), 114,5 (C), 66,6 (CH₂), 54,8 (CH), 41,0 (CH₂), 16,5 (CH₃), ESI -HRMS calculado para C₁₀H₁₆N₅O⁺, (M+H)⁺, 222,1350, encontrado, 222,1349.

[0039] *Exemplo C. Síntese de (2S)-2-[(4-amino-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metil)amino]butan-1-ol (C.1).*



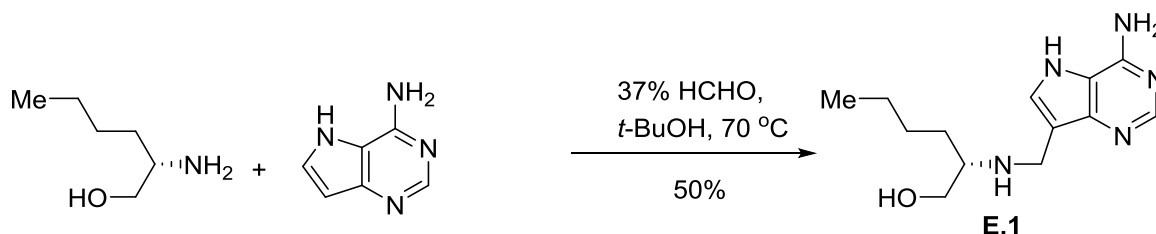
[0040] (2*S*) -2 -[({4 -Amino -5*H* -pirrolo[3,2 -*d*]pirimidin -7 -il}metil) amino]butan -1 -ol (C.1). (2*S*) -2 -Aminobutan -1 -ol (0,100 g, 1,12 mmol), 9 -deaza adenina (0,150 g, 1,12 mmol) e solução aquosa de formaldeído (37%, 0,101 mL, 1,35 mmol) foram submetidos a agitação em conjunto m *terc* -butanol (3 mL) sob 70°C durante 16 h, Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo purificado por meio de cromatografia em sílica gel (CHCl₃ - 7M NH₃/MeOH, 9:1 então 85:15) para proporcionar C.1 na forma de um sólido incolor (0,133 g, 50%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,16 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 3,99 (d, *J* = 13,6 Hz, 1H), 3,95 (d, *J* = 13,6 Hz, 1H), 3,67 (dd, *J* = 11,2, 4,4 Hz, 1H), 3,48 (dd, *J* = 11,2, 6,5 Hz, 1H), 2,61 (m, 1H), 1,62 - 1,53 (m, 1H), 1,51 -1,42 (m, 1H), 0,91 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 152,1 (C), 150,8 (CH), 146,6 (C), 128,9 (CH), 115,4 (C), 114,8 (C), 63,9 (CH₂), 60,9 (CH), 41,1 (CH₂), 24,6 (CH₂), 10,7 (CH₃), ESI -HRMS calculado para C₁₁H₁₇N₅NaO⁺, (M+Na)⁺, 258,1326, encontrado 258,1321.

[0041] *Exemplo D. Síntese de (2S) -2 -[({4 - amino -5*H* -pirrolo[3,2 -*d*]pirimidin -7 -il}metil)amino]pentan -1 -ol (D.1).*



[0042] (2S) -2 -[({4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il}metil) amino]pentan -1 -ol (D.1). (2S) -2 -Aminopentan -1 -ol (0,050 g, 0,48 mmol), 9 -deaza adenina (0,065 g, 0,48 mmol) e solução aquosa de formaldeído (37%, 0,044 mL, 0,59 mmol) foram submetidos a agitação em *terc* -butanol (2 mL) sob 70°C durante a noite. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo purificado por meio de cromatografia em sílica gel (CHCl₃ -7M NH₃/MeOH, 9:1 então 85:15) para se proporcionar D.1 na forma de um sólido incolor (0,073 g, 60%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,16 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 3,99 (d, *J* = 13,7 Hz, 1H), 3,96 (d, *J* = 13,7 Hz, 1H), 3,66 (dd, *J* = 11,3, 4,4 Hz, 1H), 3,48 (dd, *J* = 11,3, 6,6 Hz, 1H), 2,69 (m, 1H), 1,54 -1,30 (m, 4H), 0,89 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 152,1 (C), 150,8 (CH), 146,6 (C), 128,9 (CH), 115,4 (C), 114,7 (C), 62,3 (CH₂), 59,2 (CH), 41,1 (CH₂), 34,3 (CH₂), 20,3 (CH₂), 14,6 (CH₃), ESI - HRMS calculado para C₁₂H₂₀N₅O⁺, (M+H)⁺, 250,1663, encontrado 250,1663.

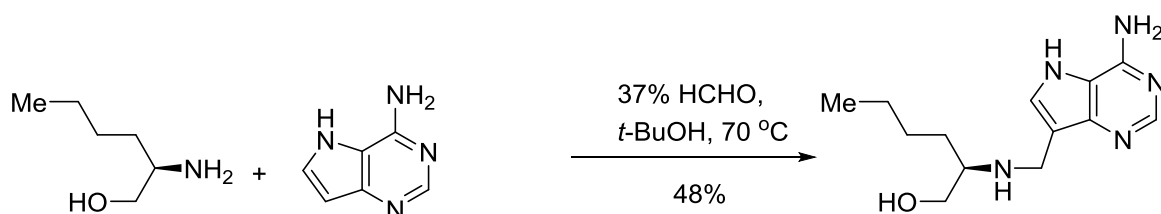
[0043] *Exemplo E. Síntese de (2S) -2 -[({4 - amino -5H -pirrolo [3,2 -d] pirimidin -7 - il}metil)amino]hexan -1 -ol (E.1).*



[0044] (2S) -2 -[({4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il} metil) amino]hexan -1 -ol (E.1). (2S) -2 -Aminohexan -1 -ol (0,100 g, 0,85 mmol), 9 -deaza adenina (0,114 g, 0,85 mmol) e solução aquosa de formaldeído (37%, 0,077 mL, 1,02 mmol) foram submetidos a

agitação em conjunto sob 70°C em *terc* -butanol (3 mL) durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo purificado por meio de cromatografia em sílica gel (CHCl₃ - 7M NH₃/MeOH, 9:1 então 85:15) para se proporcionar E.1 na forma de um sólido incolor (0,112 g, 50%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,16 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 3,97 (s, 2H), 3,65 (dd, *J* = 11,2, 4,4 Hz, 1H), 3,48 (dd, *J* = 11,2, 6,6 Hz, 1H), 2,66 (m, 1H), 1,55 -1,38 (m, 2H), 1,32 -1,22 (m, 4H), 0,88 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 152,1 (C), 150,8 (CH), 146,6 (C), 128,9 (CH), 115,4 (C), 114,7 (C), 64,4 (CH₂), 59,3 (CH), 41,2 (CH₂), 31,7 (CH₂), 29,3 (CH₂), 23,9 (CH₂), 14,3 (CH₃), ESI -HRMS calculado para C₁₃H₂₁N₅NaO⁺, (M+Na)⁺, 286,1644, encontrado 286,1644.

[0045] *Exemplo F. Síntese de (2R) -2 -[({4 -amino -5H -pirrolo[3,2 -d] pirimidin -7 -il}metil)amino] hexan -1 -ol (F.1).*

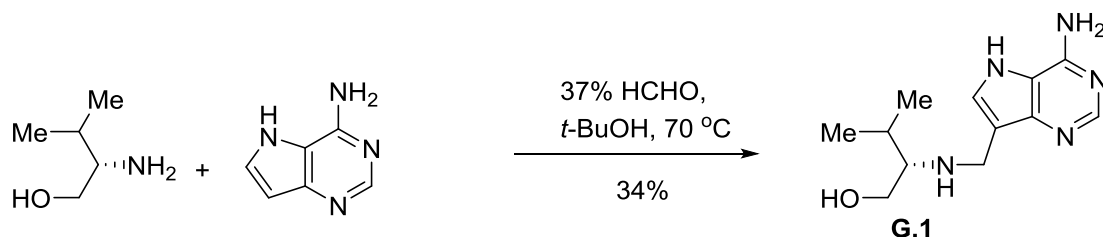


F.1

[0046] *(2R) -2 -[({4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il} metil) amino]hexan -1 -ol (F.1).* (2R) -2 -Aminohexan -1 -ol (0,100 g, 0,85 mmol), 9 -deaza adenina (0.114 g, 0,85 mmol) a solução aquosa de formaldeído (37%, 0,077 mL, 1,02 mmol) foram submetidos a agitação em conjunto sob 70°C em *terc* -butanol (3 mL) durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo purificado por meio de cromatografia em sílica gel (CHCl₃ -

7M NH₃/MeOH, 9:1 então 85:15) para se proporcionar F.1 na forma de um sólido incolor (0.108 g, 48%). O ¹H e ¹³C NMR foram idênticos ao enantiômero E.1. ESI -HRMS calculado para C₁₃H₂₂N₅O⁺ (M+H)⁺, 264,1819, encontrado 264,1717.

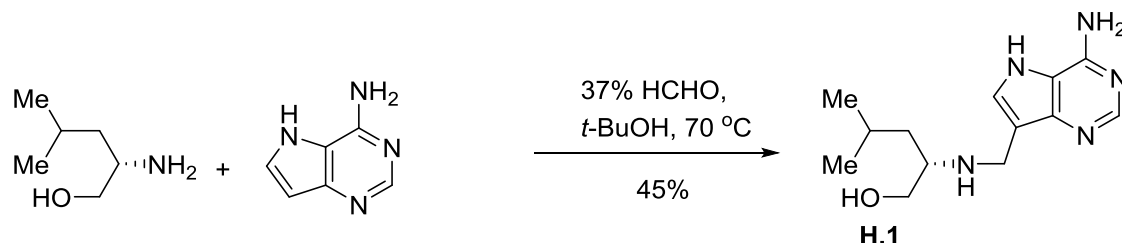
[0047] *Exemplo G. Síntese de (2S) -2 -[({4 - amino -5H -pirrolo[3,2 -d] pirimidin -7 -il}metil)amino] -3 -metilbutan -1 -ol (G.1).*



[0048] *(2S) -2 -[({4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il}metil) amino] -3 -metilbutan -1 -ol (G.1).* (2S) -2 -Amino -3 -metilbutan -1 -ol (0,100 g, 0,97 mmol) 9 -deaza adenina (0,130 g, 0,97 mmol), a solução aquosa de formaldeído (37%, 0,087 mL, 1,16 mmol) foram submetidos a agitação em *terc* -butanol (3 mL) sob 70°C durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo purificado por meio de cromatografia em sílica gel (CHCl₃ - 7M NH₃/MeOH, 93:7 então 85:15) para se proporcionar G.1 na forma de um sólido incolor (0,082 g, 34%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,16 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 3,99 (d, *J* = 13,6 Hz, 1H), 3,95 (d, *J* = 13,6 Hz, 1H), 3,68 (dd, *J* = 11,3, 4,8 Hz, 1H), 3,54 (dd, *J* = 11,3, 6,5 Hz, 1H), 2,49 (m, 1H), 1,90 (m, 1H), 0,93 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H), 0,88 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 152,1 (C), 150,8 (CH), 146,7 (C), 129,0 (CH), 115,4 (C), 115,0 (C), 64,6 (CH₂), 62,3 (CH), 41,9 (CH), 29,8 (CH₂), 19,2 (CH₃), 18,9 (CH₃), ESI -HRMS calculado para C₁₂H₂₀N₅O⁺ (M+H)⁺, 250,1663, encontrado 250,1661.

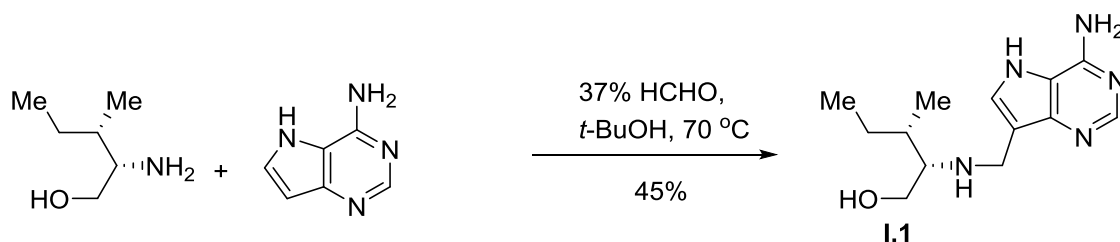
[0049] *Exemplo H. Síntese de (2S) -2 -[({4 -*

amino -5H -pirrolo[3,2 -d] pirimidin -7 -il}metil)amino] -4 -metilpentan -1 -ol (H.1).



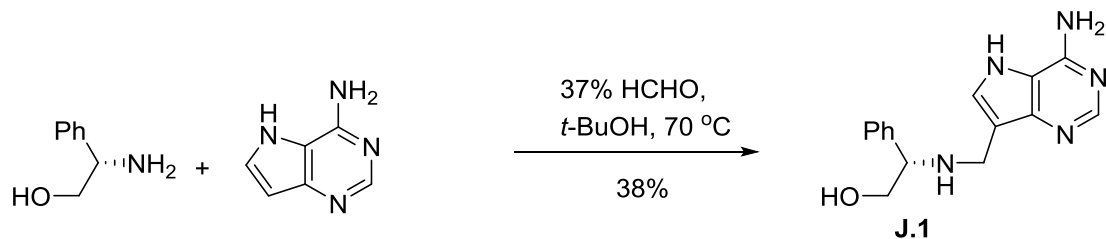
[0050] (2S) -2 -[({4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il}metil)amino] -4 -metilpentan -1 -ol (H.1). (2S) -2 -Amino -4 -metil -pentan -1 -ol (0,100 g, 0,85 mmol), 9 -deaza adenina (0,114 g, 0,85 mmol), uma solução aquosa de formaldeído (37%, 0,077 mL, 1,02 mmol) foram submetidos a agitação em *terc* -butanol (3 mL) sob 70°C durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para se absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo purificado por meio de cromatografia em sílica gel (CHCl₃ -7M NH₃/MeOH, 93:7 então 85:15) para se proporcionar H.1 na forma de um sólido incolor (0,102 g, 45%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,16 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 3,97 (s, 2H), 3,65 (dd, *J* = 11,3, 4,4 Hz, 1H), 3,47 (dd, *J* = 11,3, 6,5 Hz, 1H), 2,75 (m, 1H), 1,62 (m, 1H), 1,35 (ddd, *J* = 13,7, 7,4, 6,2 Hz, 1H), 1,28 (ddd, *J* = 13,9, 7,2, 7,2 Hz, 1H), 0,88 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 0,80 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 152,1 (C), 150,8 (CH), 146,6 (C), 129,0 (CH), 115,5 (C), 114,7 (C), 64,6 (CH₂), 57,2 (CH), 41,6 (CH₂), 41,0 (CH₂), 26,0 (CH), 23,3 (CH₃), 23,1 (CH₃). ESI -HRMS calculado para C₁₃H₂₂N₅O⁺, (M+H)⁺, 264,1819, encontrado 264,1820.

[0051] *Exemplo I. Síntese de (2S,3S) -2 -[({4 -amino -5H -pirrolo[3,2 -d] pirimidin -7 -il}metil)amino] -3 -metilpentan -1 -ol (I.1).*



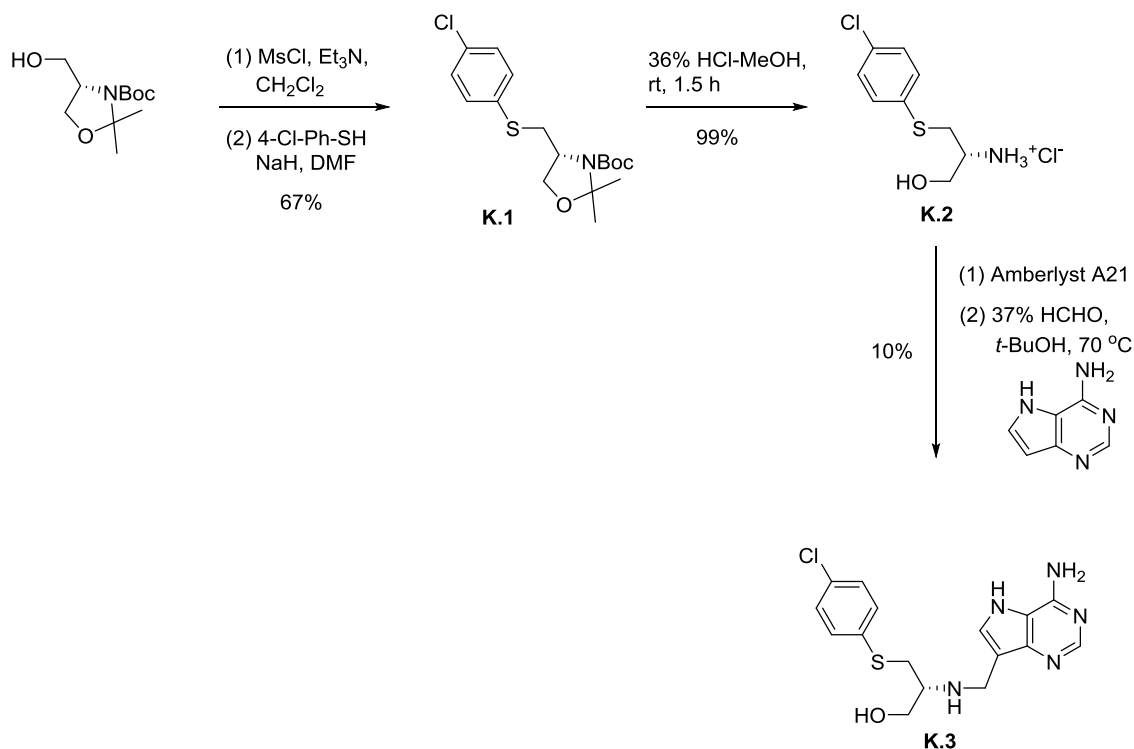
[0052] (2*S*,3*S*) -2 -[({4 -Amino -5*H* -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il} metil) amino] -3 -metilpentan -1 -ol (I.1). (2*S*,3*S*) -2 -Amino -3 -metilpentan -1 -ol (0,120 g, 1,02 mmol), 9 -deaza adenina (0,137 g, 1,02 mmol), a solução aquosa de formaldeído (37%, 0,092 mL, 1,22 mmol) foram aquecidas e submetidas a agitação em *terc* -butanol (3 mL) sob 70°C durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente , então o solvente foi evaporado e o resíduo purificado por meio de cromatografia em sílica gel (CHCl₃ -7M NH₃/MeOH, 92:8 então 89:11 então 85:15) para se proporcionar I,1 na forma de um sólido ceroso incolor (0,120 g, 45%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,16 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 3,98 (s, 2H), 3,69 (dd, *J* = 11,3, 4,3 Hz, 1H), 3,51 (dd, *J* = 11,3, 7,1 Hz, 1H), 2,62 (ddd, *J* = 7,0, 4,4, 4,4 Hz, 1H), 1,67 (m, 1H), 1,46 (m, 1H), 1,17 (m, 1H), 0,89 -0,85 (m, 6H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 152,1 (C), 150,8 (CH), 146,7 (C), 129,0 (CH), 115,4 (C), 114,9 (C), 63,1 (CH), 62,1 (CH₂), 41,8 (CH₂), 36,7 (CH), 27,2 (CH₂), 15,0 (CH₃), 12,3 (CH₃), ESI -HRMS calculado para C₁₃H₂₂N₅O⁺, (M+H)⁺, 264,1819, encontrado 264,1820.

[0053] *Exemplo J. Síntese de* (2*S*) -2 -[({4 -amino -5*H* -pirrolo [3,2 -d] pirimidin -7 -il}metil)amino] -2 -feniletan -1 -ol (J.1).



[0054] (2*S*) -2 -[({4 -Amino -5*H* -pirrolo[3,2 -*d*]pirimidin -7 -il} metil)amino] -2 -feniletan -1 -ol (*J.1*). (2*S*) -2 -Amino -2 -fenil -etanol (0,150 g, 1,09 mmol) 9 -deaza adenina (0,147 g, 1,10 mmol), e solução aquosa de formaldeído (37%, 0,098 mL, 1,31 mmol) foram submetidas a agitação e aquecidas em *terc* -butanol (3 mL) sob 70°C durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo purificado por meio de cromatografia em sílica gel (CHCl₃ -7M NH₃/MeOH, 92:8 então 89:11 então 85:15) para se proporcionar *J,1* na forma de uma espuma incolor (0,117 g, 38%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,14 (s, 1H), 7,38 - 7,31 (m, 5H), 7,28 -7,24 (m, 1H), 3,88 -3,82 (m, 2H), 3,75 (d, *J* = 13,8 Hz, 1H), 3,65 (dd, *J* = 11,0, 4,9 Hz, 1H), 3,60 (dd, *J* = 11,0, 8,4 Hz, 1H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 152,0 (C), 150,8 (CH), 146,6 (C), 141,5 (C), 129,6 (CH), 129,0 (CH), 128,8 (CH), 128,6 (CH), 115,5 (C), 114,7 (C), 67,7 (CH₂), 65,4 (CH), 41,7 (CH₂), ESI -HRMS calculado para C₁₅H₁₈N₅O⁺, (M+H)⁺, 284,1506, encontrado 284,1501.

[0055] *Exemplo K. Síntese de (2R) -2 -[({4 - amino -5*H* -pirrolo[3,2 -*d*] pirimidin -7 -il}metil)amino] -3 -[(4 -clorofenil)sulfanil]propan -1 -ol (K.3).*



[0056] *terc* -Butil (4*R*) -4 -{[(4 -clorofenil)sulfanil]metil} -2,2 -dimetil -1,3 -oxazolidina -3 -carboxilato (K.1). *Etapa 1.* Cloreto de metanossulfonil (0,40 ml, 5,19 mmol) foi adicionado gota a gota a uma solução submetida a agitação de *terc* -butil (4*S*) -4 - (hidroximetil) -2,2 -dimetil -1,3 -oxazolidina -3 - carboxilato [preparado da mesma forma que para o seu enantiômero, Dondoni, *et al*,¹³] (1,00 g, 4,32 mmol) e trietilamina (1,22 ml, 8,65 mmol) em CH₂Cl₂ (15 mL) sob 0°C. A mistura foi aquecida para a temperatura ambiente e submetida a agitação durante 20 min., então lavada com NaHCO₃ sat. (3 x 5 mL), submetida a secagem, e o solvente evaporado para se proporcionar o mesilato bruto na forma de um óleo (1,22 g, 3,94 mmol).

[0057] *Etapa 2,* 4 -clorobenzeno -1 -tiol (0,351 g, 2,42 mmol) foi adicionado a uma solução de hidreto de sódio (60%, 0,089 g, 2,23 mmol) em DMF (3 mL) sob 0°C. Depois de 20 min., foi adicionada uma solução do mesilato proveniente da *etapa 1* supra (0,30 g, 0,97 mmol)

em DMF (0,75 mL) e a mistura aquecida para a rt e submetida a agitação durante 16 h. Água (2 mL) foi adicionada e a mistura extraída com Et₂O (60 mL). O extrato foi lavado com H₂O (3 x 5 mL), solução salina (5 mL), submetido a secagem e o solvente evaporado para um óleo incolor que foi cromatografado em sílica gel (gradiente de 0 - 6% EtOAc em hexanos) para se proporcionar K,1 na forma de uma goma incolor (0,234 g, 67%). $[\alpha]_D^{20}$ -17,9 (c 1,05, CHCl₃), ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7,40 -7,30 (m, 2H), 7,28 -7,22 (m, 2H), 4,11 -3,98 (m, 1,5H), 3,94 -3,89 (m, 1,5H), 3,50 (d, *J* = 13,7 Hz, 0,5H), 3,27 (d, *J* = 13,4 Hz, 0,5H), 2,79 (dd, *J* = 13,5, 10,7 Hz, 1H), 1,63 -1,56 (m, 3H), 1,51 -1,42 (m, 12H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CDCl₃, linha de centro δ 77,0): δ 152,1, 151,4 (C), 134,2, 133,8 (C), 132,5, 131,6 (C), 130,9, 129,3 (CH), 129,1 (CH), 94,5, 93,9 (C), 80,5, 80,3 (C), 66,0 (CH₂), 56,6, 56,3 (CH), 35,7, 33,8 (CH₂), 28,5, 28,4 (CH₃), 27,7, 27,0 (CH₃), 24,3, 23,1 (CH₃), ESI -HRMS calculado para C₁₇H₂₄³⁵ClNNaO₃S⁺, (M+Na)⁺, 380,1058, encontrado 380,1056.

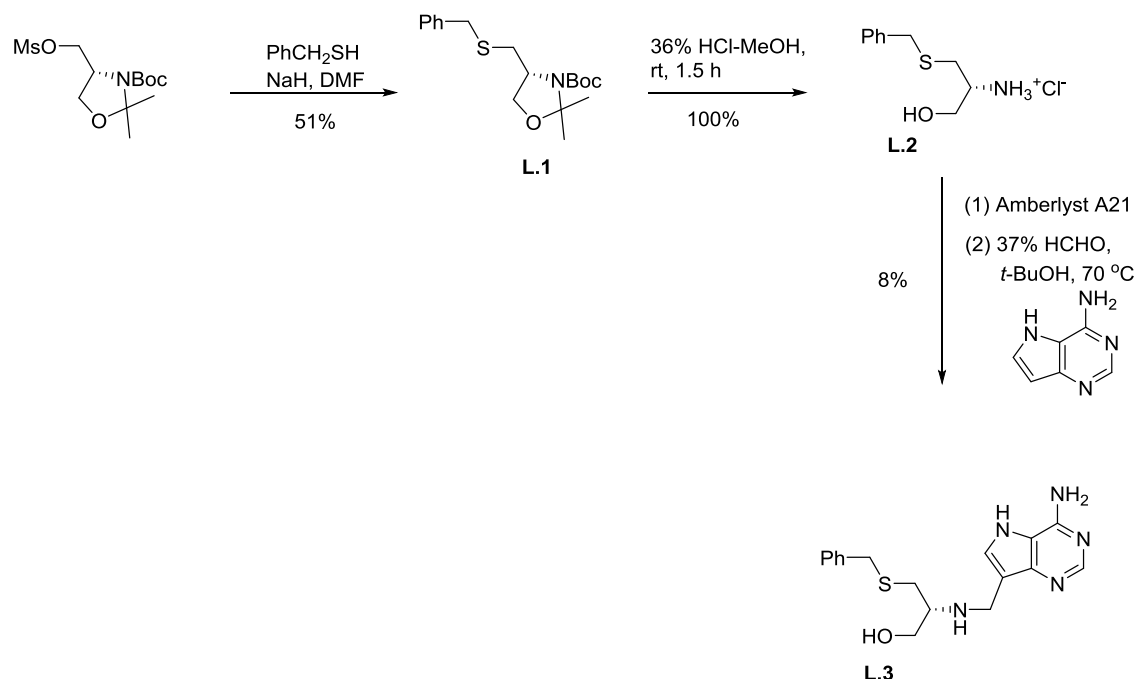
[0058] *Cloridrato de (2R) -2 -Amino -3 -[(4 -clorofenil) sulfanil] propan -1 -ol (K.2)*. O composto K.1 (0,228 g, 0,64 mmol) foi dissolvido em MeOH (3 mL), resfriado para 0°C e adicionou -se ácido clorídrico aquoso (36%, 2 mL). A mistura foi submetida a agitação sob a rt durante 16 h, então o solvente foi evaporado para se proporcionar K.2 na forma de um sólido incolor (0,161 g, 99%). $[\alpha]_D^{20}$ -27,7 (c 1,09, MeOH), ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 7,47 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,36 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 3,82 (dd, *J* = 11,7, 3,4 Hz, 1H), 3,74 (dd, *J* = 11,7, 5,0 Hz, 1H), 3,30 -3,25 (m, 2H), 3,19 (dd, *J* = 16,3, 9,2 Hz, 1H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 134,31 (C), 134,26 (C), 132,9 (CH), 130,5 (CH), 61,2 (CH₂), 53,5

(CH), 34,1 (CH₂), ESI -HRMS calculado para C₉H₁₃³⁵ClNOS⁺, (M-HCl+H)⁺, 218,0401, encontrado 218,0408.

[0059] (2R) -2 -[({4 -Amino -5H -pirrolo [3,2 -d]pirimidin -7 -il} metil) amino] -3 -[(4 -clorofenil)sulfanil]propan -1 -ol (K.3). O composto K.2 (0,151 g, 0,59 mmol) foi dissolvido em MeOH (10 mL) e neutralizado com resina Amberlyst A21. Fez -se então a mistura passar através de uma coluna curta da mesma resina e eluída com MeOH para se proporcionar a forma amino livre de K.2 na forma de um óleo de cor amarela (129 mg). Este foi dissolvido em *terc* -butanol (3 mL) então solução aquosa de formaldeído (37%, 0,060 mL, 0,80 mmol) e 9 -deaza adenina (0,080 g, 0,60 mmol) foram adicionados e a mistura foi submetida a agitação sob 70°C durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo purificado por meio de cromatografia em sílica gel (CHCl₃ -7M NH₃/MeOH, 92:8 então 85:15) e as frações contendo o produto foram evaporadas. O resíduo dói ainda purificado em sílica gel (CHCl₃ -MeOH -28% aq, NH₄OH, 92:8:0,5) para se proporcionar K,3 na forma de uma espuma incolor (0,022 g, 10%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,16 (s, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,13 -7,08 (m, 4H), 4,02 (d, *J* = 14,0 Hz, 1H), 3,92 (d, *J* = 14,0 Hz, 1H), 3,70 (dd, *J* = 11,3, 5,2 Hz, 1H), 3,66 (dd, *J* = 11,3, 5,2 Hz, 1H), 3,13 (dd, *J* = 13,8, 6,2 Hz, 1H), 2,92 (dd, *J* = 13,8, 6,9 Hz, 1H), 2,75 (m, 1H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 152,0 (C), 150,8 (CH), 146,5 (C), 135,8 (C), 133,0 (C), 131,8 (CH), 129,8 (CH), 129,1 (CH), 115,5 (C), 114,4 (C), 63,5 (CH₂), 57,0 (CH), 41,0 (CH₂), 36,1 (CH₂), ESI -HRMS calculado para C₁₆H₁₈³⁵ClN₅NaOS⁺ (M+Na)⁺, 386,0813, encontrado 386,0816.

[0060] *Exemplo L. Síntese de* (2R) -2 -[({4 -amino -5H -pirrolo[3,2 -d] pirimidin -7 -il} metil) amino]

-3 - (benzilsulfanil)propan -1 -ol (L.3).



[0061] terc -Butil (4R) -4 -
[(benzilsulfanil)metil] -2,2 -dimetil -1,3 -oxazolidina -3
-carboxilato (L.1). Fenilmetanetiol (0,285 ml, 2,42 mmol)
foi adicionado a uma solução de hidreto de sódio submetida
a agitação (60%, 0,089 g, 2,23 mmol) em DMF (3 mL) sob 0°C.
Depois de 20 min. uma solução do mesilato bruto (0,3 g,
0,97 mmol, proveniente da etapa 1 da preparação de K.1) em
DMF (0,75 ml) foi adicionada, então a mistura foi aquecida
para a rt e submetida a agitação durante 16 h. Adicionou -
se água (2 ml) e a mistura foi extraída com Et₂O (60 mL),
O extrato foi lavado com H₂O (3 x 5 mL), solução salina (5
mL), submetido a secagem e o solvente evaporado para formar
um óleo incolor que foi cromatografado em sílica gel
(gradiente de 0 - 6% EtOAc em hexanos) para se proporcionar
L.1 na forma de uma goma incolor (0,166 g, 51%). $[\alpha]_D^{20}$
+61,7 (c 1,12, CHCl₃). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7,40 -
7,28 (m, 4H), 7,26 -7,20 (m, 1H), 4,09 (d, J = 7,1 Hz,
0,5H), 3,99 -3,85 (m, 2,5H), 3,76 (s, 2H), 2,86 (m, 1H),
2,51 (q, J = 13,0 Hz, 1H), 1,58, 1,53, 1,49, 1,47, 1,46,

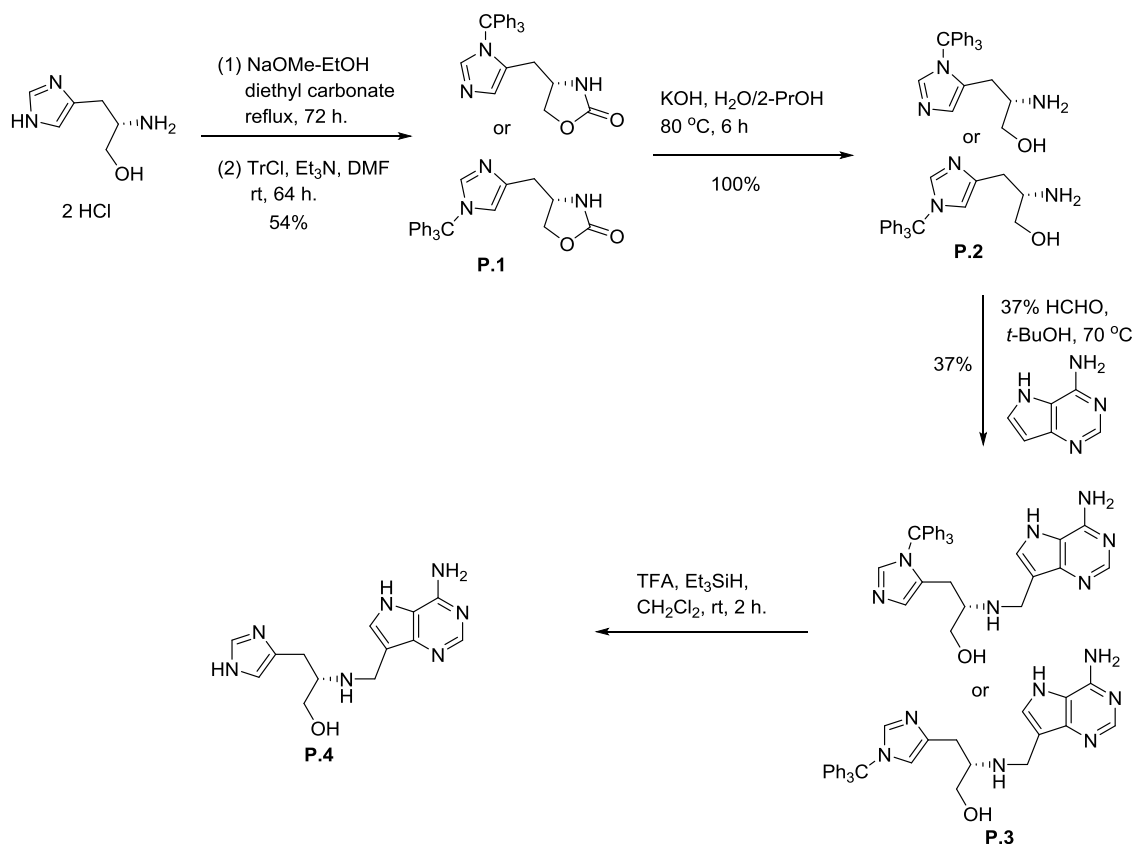
1,42 (6 x s, 15H), ^{13}C NMR (125,7 MHz, CDCl_3 , linha de centro δ 77,0): δ 152,0, 151,4 (C), 138,5, 138,1 (C), 129,0, 128,7 (CH), 128,6, 128,4 (CH), 127,2, 126,9 (CH), 94,2, 93,7 (C), 80,3, 79,9 (C), 66,5 (CH_2), 57,2, 56,9 (CH), 36,9, 36,4 (CH_2), 34,8, 33,6 (CH_2), 28,4 (CH_3), 27,6, 26,8 (CH_3), 24,4, 23,2 (CH_3), ESI -HRMS calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{27}^{35}\text{ClNNaO}_3\text{S}^+$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$, 360,1604, encontrado 360,1592.

[0062] Cloridrato de (2R) -2 -amino -3 - (benzilsulfanil)propan -1 -ol (L.2). O composto L.1 (0,166 g, 0,49 mmol) foi dissolvido em MeOH (3 mL), resfriado para 0°C e ácido clorídrico aq. (36%, 2 mL) adicionado. Depois de submetido a agitação sob a rt durante 1,5 h, o solvente foi evaporado para formar uma goma incolor que foi levada à forma de um sólido incolor (0,115 g, 100%). $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -52,6 (c 0,91, MeOH). ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 7,38 -7,35 (m, 2H), 7,34 -7,30 (m, 2H), 7,25 (m, 1H), 3,81 (s, 2H), 3,77 (dd, J = 11,7, 3,8 Hz, 1H), 3,65 (dd, J = 11,7, 5,7, Hz, 1H), 3,27 (m, 1H), 2,74 (dd, J = 14,2, 6,7 Hz, 1H), 2,67 (dd, J = 14,2, 7,4 Hz, 1H), ^{13}C NMR (125,7 MHz, CD_3OD , linha de centro δ 49,0): δ 139,2 (C), 130,1 (CH), 129,7 (CH), 128,3 (CH), 61,5 (CH_2), 53,7 (CH), 37,1 (CH_2), 31,2 (CH_2), ESI -HRMS calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{16}^{35}\text{ClNOS}^+$, ($\text{M} - \text{HCl} + \text{H}$) $^+$, 198,0948, encontrado 198,0948.

[0063] (2R) -2 -[({4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il}metil) amino] -3 - (benzilsulfanil)propan -1 -ol (L.3). O composto L.2 (0,170 g, 0,73 mmol) foi dissolvido em MeOH (10 mL) e neutralizado com resina Amberlyst A21. Fez -se então a mistura passar através de uma pequena coluna da mesma resina e eluiu -se com MeOH para se proporcionar a forma amino livre de L.2 na forma de um óleo de cor amarela. Este foi dissolvido em terc -butanol (3 mL) então solução aq. de formaldeído (37%, 0,071 mL, 0,95 mmol) e 9 -deaza adenina (0,098 g, 0,73

mmol) foi adicionado e a mistura foi submetida a agitação sob 70°C durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo purificado por meio de cromatografia em sílica gel (CHCl₃ -MeOH -28% aq, NH₄OH, 92:8:0,5), As frações que continham o produto foram evaporadas e o resíduo foi ainda purificado em sílica gel (gradiente de 2 - 10% 7M NH₃/MeOH -CHCl₃) para se proporcionar L.3 na forma de um sólido incolor (0,021 g, 8%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,17 (s, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,25 -7,21 (m, 2H), 7,19 -7,15 (m, 3H), 3,99 (d, *J* = 13,8 Hz, 1H), 3,91 (d, *J* = 13,8 Hz, 1H), 3,66 (dd, *J* = 11,2, 4,9 Hz, 1H), 3,57 (dd, *J* = 11,2, 5,5 Hz, 1H), 3,53 (d, *J* = 1,6 Hz, 2H), 2,77 (m, 1H), 2,60 (dd, *J* = 13,6, 6,4 Hz, 1H), 2,49 (dd, *J* = 13,6, 6,9 Hz, 1H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 152,1 (C), 150,9 (CH), 146,6 (C), 139,8 (C), 129,9 (CH), 129,4 (CH), 129,1 (CH), 127,9 (CH), 115,5 (C), 114,7 (C), 63,8 (CH₂), 57,8 (CH), 41,2 (CH₂), 36,9 (CH₂), 33,9 (CH₂), ESI -HRMS calculado para C₁₇H₂₁N₅NaOS⁺ (M+Na)⁺, 366,1360, encontrado 366,1362.

[0064] *Exemplo P. Síntese de (2S) -2 -[({4 - amino -5H -pirrolo [3,2 -d]pirimidin -7 -il}metil)amino] -3 -(1H -imidazol -4 -il)propan -1 -ol (P.4).*



[0065] (4*S*) -4 -{[1 -(Trifenilmetil) -1*H* -imidazol -4 -il]metil} -1,3 -oxazolidin -2 -ona ou (4*S*) -4 -{[1 -(trifenilmetil) -1*H* -imidazol -5 -il]metil} -1,3 -oxazolidin -2 -ona (**P.1**). Seguiu -se um procedimento modificado da literatura [Madrigal, et al.¹⁴]. Dicloridrato de (*S*) -Histidinol (0,500 g, 2,34 mmol) e carbonato de dietil (2,86 mL, 23,61 mmol) foram submetidos a agitação em conjunto em etanol (24 mL), então adicionou -se metóxido de sódio em solução de metanol (25%, 1,6 mL, 7,0 mmol). A mistura foi aquecida sob refluxo durante 72 h, então o solvente foi evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (CHCl₃ -MeOH -28% aq. NH₄OH, 9:1:0,1) para se proporcionar (4*S*) -4 -(1*H* -imidazol -4 -ilmetil) -1,3 -oxazolidin -2 -ona na forma de um sólido incolor (0,26 g, 1,56 mmol, 90 - 95% puro). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 7,61 (d, *J* = 1,0 Hz, 1H), 6,93 (s, 1H), 4,45 -4,40 (m, 1H), 4,18 -4,12 (m, 2H), 2,86 (dd, *J* = 14,7, 4,8

Hz, 1H), 2,80 (dd, $J = 14,8, 6,1$ Hz, 1H). Ele foi dissolvido em DMF (4 mL) então trietilamina (0,42 mL, 3,00 mmol) e cloreto de tritil (0,489 g, 1,70 mmol) foram adicionados. A mistura foi submetida a agitação durante 60 h sob a temperatura ambiente, então diluída com Et₂O (60 mL) e a mistura lavada com H₂O (4 x 5mL), solução salina (5 mL), submetida a secagem e o solvente foi evaporado. O resíduo foi cromatografado em sílica gel (gradiente de 0 - 5% MeOH em EtOAc) para se proporcionar P.1 na forma de uma espuma incolor (0,520 g, 54%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 7,41 (d, $J = 1,4$ Hz, 1H), 7,39 -7,34 (m, 9H), 7,16 -7,11 (m, 6H), 6,82 (m, 1H), 4,39 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,19 -4,11 (m, 2H), 2,78 (dd, $J = 14,6, 4,9$ Hz, 1H), 2,73 (dd, $J = 14,6, 6,1$ Hz, 1H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 162,1 (C), 143,6 (C x 3), 139,8 (CH), 136,6 (C), 130,9 (CH), 129,32 (CH), 129,27 (CH), 121,6 (CH), 76,9 (C), 70,4 (CH₂), 53,4 (CH), 33,9 (CH₂), ESI - HRMS calculado para C₂₆H₂₃N₃NaO₂⁺, (M+Na)⁺, 432,1683, encontrado 432,1677.

[0066] (2S) -2 -Amino -3 -[1 -(trifenilmetil) -1H -imidazol -4 -il]propan -1 -ol ou (2S) -2 -amino -3 -[1 -(trifenilmetil) -1H -imidazol -5 -il]propan -1 -ol (P.2). O composto P.1 (0,510 g, 1,25 mmol) foi dissolvido em 2 - propanol (7 mL) e hidróxido de potássio (2 M, 3 mL, 6 mmol) foi adicionado. A mistura foi aquecida sob 80°C durante 6 h, então sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (CHCl₃ -MeOH -28% aq. NH₄OH, 9:1:0.1) para se proporcionar P.2 na forma de uma goma incolor (0,478 g, 100%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 7,40 (d, $J = 1,4$ Hz, 1H), 7,38 -7,34 (m, 9H), 7,18 -7,13 (m, 6H), 6,75 (m, 1H), 3,52 (dd, $J = 10,9, 4,5$ Hz, 1H), 3,35 (dd, $J = 10,9, 6,8$ Hz, 1H), 3,09 -3,03 (m, 1H), 2,65 (dd, J

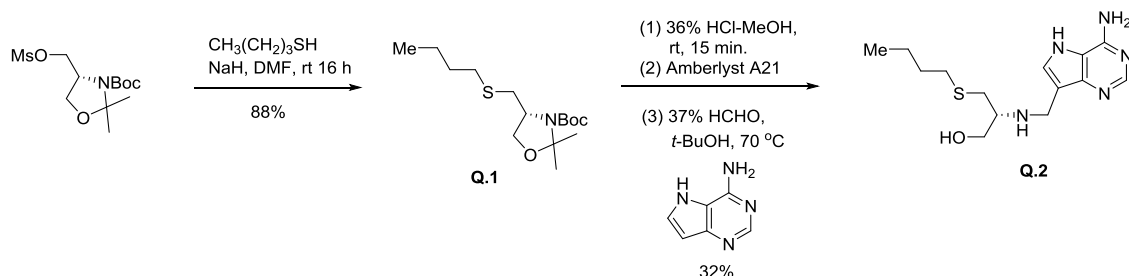
= 14,4, 6,0 Hz, 1H), 2,50 (dd, J = 14,4, 7,4 Hz, 1H), ^{13}C NMR (125,7 MHz, CD_3OD , linha de centro δ 49,0): δ 143,7 (C), 139,7 (CH), 139,2 (C), 130,8 (CH), 129,3 (CH), 129,2 (CH), 121,0 (CH), 76,8 (C), 66,7 (CH_2), 53,8 (CH), 33,0 (CH_2), ESI -HRMS calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}^+$, $(\text{M}+\text{H})^+$, 384,2071, encontrado 384,2068.

[0067] (2S) -2 -[({4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il} metil) amino] -3 -[1 -(trifenilmetil) -1H -imidazol -4 -il]propan -1 -ol ou (2S) -2 -[({4 -amino -5H -pirrolo [3,2 -d] pirimidin -7 -il} metil)amino] -3 -[1 -(trifenilmetil) -1H -imidazol -5 -il]propan -1 -ol (P.3). O composto P.2 (0,200 g, 0,52 mmol), 9 -deaza adenina (0,070 g, 0,52 mmol) a solução aquosa de formaldeído (37%, 0,051 mL, 0,68 mmol) foram aquecidos sob 70°C em terc -butanol (3 mL) durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (10% 7M $\text{NH}_3/\text{MeOH} -\text{CHCl}_3$) para se proporcionar P.3 na forma de uma espuma incolor (0,101 g, 37%). ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 8,03 (s, 1H), 7,39 (s, 1H), 7,35 (d, J = 1,3 Hz, 1H), 7,33 -7,29 (m, 9H), 7,12 -7,08 (m, 6H), 6,75 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 3,96 (d, J = 13,7 Hz, 1H), 3,93 (d, J = 13,6 Hz, 1H), 3,61 (dd, J = 11,3, 4,8 Hz, 1H), 3,49 (dd, J = 11,3, 6,1 Hz, 1H), 3,02 -2,97 (m, 1H), 2,72 (dd, J = 14,5, 6,5 Hz, 1H), 2,69 (dd, J = 14,5, 6,7 Hz, 1H), ^{13}C NMR (125,7 MHz, CD_3OD , linha de centro δ 49,0): δ 152,0 (C), 150,8 (CH), 146,6 (C), 143,7 (C x 3), 139,5 (CH), 139,2 (C), 130,8 (CH), 129,24 (CH), 129,20 (CH), 128,9 (CH), 121,2 (CH), 115,4 (C), 114,8 (C), 76,8 (C), 64,3 (CH_2), 59,4 (CH), 41,3 (CH_2), 30,7 (CH_2), ESI -HRMS calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{N}_7\text{O}^+$, $(\text{M}+\text{H})^+$, 530,2663, encontrado 530,2666.

[0068] (2S) -2 -[({4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il}metil) amino] -3 -(1H -imidazol -4 -

il)propan -1 -ol (P.4). Ácido trifluoro acético (0,6 mL, 8 mmol) foi adicionado a uma solução submetida a agitação de P.3 (0,100 g, 0,19 mmol) e trietilsilano (0,090 mL, 0,57 mmol) em CH₂Cl₂ (3 mL). Depois de 2 h, o solvente foi evaporado e o resíduo dissolvido em MeOH e o solvente evaporado (3 x). O resíduo foi novamente dissolvido em MeOH, sílica gel adicionado e o solvente evaporado. Cromatografia flash em sílica gel (CHCl₃ -MeOH -28% aq. NH₄OH, 7:2,5:0,5) proporcionou P.4 na forma de uma goma incolor que foi cristalizada ao assentar (0,050 g, 92%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,14 (s, 1H), 7,52 (d, *J* = 0,9 Hz, 1H), 7,42 (s, 1H), 6,80 (s, 1H), 4,01 (d, *J* = 13,6 Hz, 1H), 3,98 (d, *J* = 13,6 Hz, 1H), 3,63 (dd, *J* = 11,3, 4,7 Hz, 1H), 3,50 (dd, *J* = 11,3, 5,9 Hz, 1H), 3,01 -2,96 (m, 1H), 2,76 (d, *J* = 6,7 Hz, 2H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 152,0 (C), 150,8 (CH), 146,6 (C), 136,1 (CH), 134,8 (b, C), 129,0 (CH), 119,4 (b, CH), 115,4 (C), 114,3 (C), 64,0 (CH₂), 59,3 (CH), 41,3 (CH₂), 29,2 (CH₂), ESI -HRMS calculado para C₁₃H₁₈N₇O⁺, (M+H)⁺, 288,1568, encontrado 288,1567.

[0069] *Exemplo Q. Síntese de (2R) -2 -[(4 - amino -5H -pirrolo[3,2 -d] pirimidin -7 -il} metil) amino] -3 -(butilsulfanil)propan -1 -ol (Q.2).*



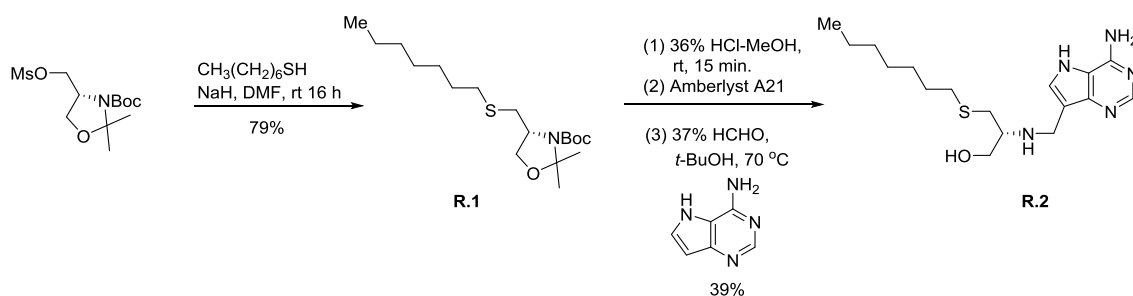
[0070] *terc -Butil (4R) -4 -[(butilsulfanil)metil] -2,2 -dimetil -1,3 -oxazolidina -3 -carboxilato (Q.1).* Hidreto de sódio (60%, 0,097 g, 2,4 mmol) foi adicionado por partes a uma solução de butano e -

1 -tiol (0,53 mL, 4,85 mmol) em DMF (5 mL). Depois de 15 min. uma solução do mesilato bruto (0,500 g, 1,62 mmol, a partir da etapa 1 da preparação de K.1) em DMF (1 mL) foi adicionado. A mistura foi submetida a agitação durante 16 h, então H₂O (6 mL) foi adicionado. Depois de extração com Et₂O (100 mL), o extrato foi lavado com H₂O (4 x 5 mL), solução salina (5 mL), submetido a secagem e o solvente evaporado. O resíduo foi cromatografado em sílica gel (gradiente de 0 - 10% EtOAc em hexanos) para se proporcionar Q.1 na forma de um óleo incolor (0,429 g, 88%). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 4,06 -3,92 (m, 2,5H), 3,91 -3,85 (m, 0,5H), 2,94 (d, *J* = 13,0 Hz, 0,5H), 2,80 (d, *J* = 13,0 Hz, 0,5H), 2,62 -2,47 (m, 3H), 1,65 -1,53 (m, 5H), 1,50 -1,35 (m, 14H), 0,91 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CDCl₃, linha de centro δ 77,0): δ 152,1, 151,4 (C), 94,3, 93,7 (C), 80,2, 79,9 (C), 66,5, 66,3 (CH₂), 57,4, 57,2 (CH), 34,6, 33,9 (CH₂), 32,0, 31,9, (2 x CH₂), 28,5, 28,4 (CH₃), 27,7, 26,9 (CH₃), 24,5, 23,2 (CH₃), 21,9 (CH₂), 13,6 (CH₃), ESI -HRMS calculado para C₁₅H₂₉NNaO₃S⁺, (M+Na)⁺, 326,1761, encontrado 326,1760.

[0071] (2R) -2 -[(4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il}metil) amino] -3 -(butilsulfanil)propan -1 -ol (Q.2). O composto Q.1 (0,400 g, 1,32 mmol) foi dissolvido em MeOH (4 mL) e ácido clorídrico aq. (36%, 1 mL) foi adicionado. Depois de 15 min. o solvente foi evaporado e a goma resultante dissolvida em MeOH (10 mL) e neutralizada com resina Amberlyst A21, então fez -se passar através de uma coluna curta da mesma resina e foi eluída com MeOH. As frações que continham produto foram evaporadas para apenas um resíduo oleoso que foi dissolvido em terc butanol (4 mL), então 9 -deaza adenina (0,177 g, 1,32 mmol) e solução aquosa de formaldeído (37%, 0,12 mL, 1,60 mmol) foi adicionada e a mistura submetida a agitação

sob 70°C durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (gradiente de 5 - 15% 7M NH₃/MeOH em CHCl₃) para se proporcionar Q,2 na forma de um sólido incolor (0,131 g, 32%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,16 (s, 1H), 7,49 (s, 1H), 4,06 (d, *J* = 13,8 Hz, 1H), 3,97 (d, *J* = 13,9 Hz, 1H), 3,69 (dd, *J* = 11,2, 5,1 Hz, 1H), 3,63 (dd, *J* = 11,2, 5,4 Hz, 1H), 2,81 -2,76 (m, 1H), 2,69 (dd, *J* = 13,5, 6,3 Hz, 1H), 2,53 (dd, *J* = 13,5, 6,9 Hz, 1H), 2,31 (ddd, *J* = 12,5, 8,0, 6,5 Hz, 1H), 2,25 (ddd, *J* = 12,5, 8,1, 6,7 Hz, 1H), 1,45 -1,35 (m, 2H), 1,33 -1,25 (m, 2H), 0,85 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 152,1 (C), 150,9 (CH), 146,6 (C), 129,1 (CH), 115,5 (C), 114,6 (C), 63,9 (CH₂), 57,8 (CH), 41,2 (CH₂), 34,5 (CH₂), 32,7 (CH₂), 32,6 (CH₂), 22,9 (CH₂), 13,9 (CH₃), ESI -HRMS calculado para C₁₄H₂₄N₅OS⁺, (M+H)⁺, 310,1697, encontrado 310,1702.

[0072] *Exemplo R. Síntese de (2R) -2 -[({4 - amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il}metil)amino] -3 - (heptilsulfanil)propan -1 -ol (R.2).*



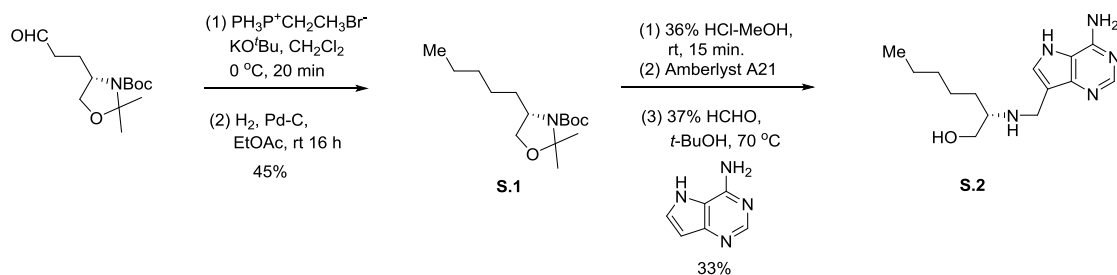
[0073] *terc -Butil (4R) -4 - [(heptilsulfanil)metil] -2,2 -dimetil -1,3 -oxazolidina -3 -carboxilato (R.1).* Hidreto de sódio (60%, 0,162 g, 4,05 mmol) foi adicionado por partes a uma solução de heptano -1 -tiol (0,641 g, 4,85 mmol) em DMF (5 mL) sob a temperatura ambiente. Depois de 15 min., foi adicionada a solução do

mesilato bruto (0,500 g, 1,62 mmol, proveniente da etapa 1 da preparação de K.1) em DMF (1 mL). A mistura foi submetida a agitação durante 16 h, então H₂O (6 mL) foi adicionado. Depois de extração com Et₂O (100 mL), o extrato foi lavado com H₂O (4 x 5 mL), solução salina (5 mL) submetido a secagem e evaporado para a forma de um resíduo oleoso que foi cromatografado em sílica gel (gradiente de 0 - 12% EtOAc em hexanos) para se proporcionar R.1 na forma de um óleo incolor (0,443 g, 79%). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 4,05 -3,98 (m, 1,5H), 3,97 -3,93 (m, 1H), 3,91 -3,85 (m, 0,5H), 2,93 (d, *J* = 13,5 Hz, 0,5H), 2,80 (d, *J* = 12,9 Hz, 0,5H), 2,62 -2,45 (m, 3H), 1,63 -1,53 (m, 5H), 1,51 -1,43 (m, 12H), 1,41 -1,22 (m, 8H), 0,88 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CDCl₃, linha de centro δ 77,0): δ 152,1, 151,5 (C), 94,3, 93,7 (C), 80,2, 79,9 (C), 66,5, 66,3 (CH₂), 57,4, 57,2 (CH), 34,7, 33,8 (CH₂), 32,4, 31,7 (2 x CH₂), 30,0, 29,8 (CH₂), 28,9, 28,8, (2 x CH₂), 28,5, 28,4 (CH₃), 27,7, 26,9 (CH₃), 24,5, 23,2 (CH₃), 22,6 (CH₂), 14,0 (CH₃), ESI -HRMS calculado para C₁₈H₃₅NNaO₃S⁺, (M+Na)⁺, 368,2230, encontrado 368,2227.

[0074] (2*R*) -2 -[({4 -Amino -5*H* -pirrolo[3,2 -*d*]pirimidin -7 -il}metil) amino] -3 - (heptilsulfanil)propan -1 -ol (R.2). O composto R.1 (0,420 g, 1,22 mmol) foi dissolvido em MeOH (4 mL) e ácido clorídrico aq. (36%, 1 mL) foi adicionado. Depois de 15 min. o solvente foi evaporado para a forma de uma goma que foi dissolvida em uma mistura 7:3 de MeOH -CHCl₃ (10 mL) e neutralizada com resina Amberlyst A21, então fez -se passar através de uma coluna curta da mesma resina e foi eluída com uma mistura 7:3 de MeOH -CHCl₃. As frações que continham produto foram evaporadas para a forma de um resíduo oleoso que foi dissolvido em *terc* -butanol (4 mL)

então 9 -deaza adenina (0,130 g, 0,97 mmol) e solução aquosa de formaldeído (37%, 0,087 mL, 1,16 mmol) foram adicionados e a mistura foi submetida a agitação sob 70°C durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (gradiente de 5 - 15% 7M NH₃/MeOH em CHCl₃) para se proporcionar R.2 bruto (210 mg). Cromatografia adicional em sílica gel (gradiente de 0 - 5% aq. NH₄OH (28%) em 2 -PrOH) proporcionou R.2 na forma de um sólido incolor (0,134 g, 34%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,16 (s, 1H), 7,49 (s, 1H), 4,06 (d, *J* = 13,8 Hz, 1H), 3,97 (d, *J* = 13,8 Hz, 1H), 3,69 (dd, *J* = 11,2, 5,1 Hz, 1H), 3,63 (dd, *J* = 11,2, 5,4 Hz, 1H), 2,81 -2,76 (m, 1H), 2,69 (dd, *J* = 13,5, 6,3 Hz, 1H), 2,54 (dd, *J* = 13,5, 6,9 Hz, 1H), 2,32 (ddd, *J* = 12,5, 7,9, 6,8 Hz, 1H), 2,26 (ddd, *J* = 12,6, 7,9, 6,9 Hz, 1H), 1,47 -1,37 (m, 2H), 1,33 -1,20 (m, 8H), 0,88 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 152,1 (C), 150,9 (CH), 146,6 (C), 129,1 (CH), 115,4 (C), 114,6 (C), 63,8 (CH₂), 57,9 (CH), 41,2 (CH₂), 34,5 (CH₂), 32,9 (CH₂ × 2), 30,6 (CH₂), 30,0 (CH₂), 29,8 (CH₂), 26,6 (CH₂), 14,4 (CH₃), ESI -HRMS calculado para C₁₇H₃₀N₅OS⁺, (M+H)⁺, 352,2166, encontrado 352,2157.

[0075] *Exemplo S. Síntese de (2S) -2 -[(4 - amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il)metil)amino]heptan -1 -ol (S.2).*



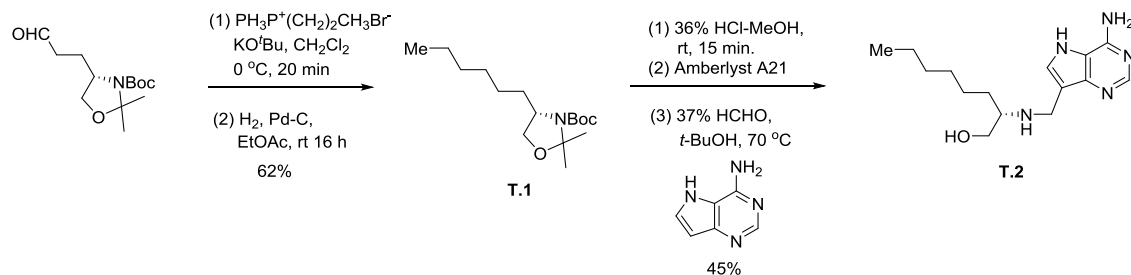
[0076] *terc -Butil (4S) -2,2 -dimetil -4 -pentil -1,3 -oxazolidina -3 -carboxilato (S.1). terc -*

Butil (4*S*) -2,2 -dimetil -4 -(3 -oxopropil) -1,3 -oxazolidina -3 -carboxilato [Goswami, *et al.*¹⁵] (0,400 g, 1,55 mmol, purificado em sílica gel com um gradiente de 0 - 50% EtOAc em hexanos) e brometo de etil trifenil fosfônio [Paleček, J. *et al.*¹⁶] (0,866 g, 2,33 mmol, submetidos a secagem sobre P₂O₅ então evaporados 2 x a partir de tolueno anidro) foram dissolvidos em CH₂Cl₂ anidro (7 mL) e resfriados para 0°C. Uma solução de *terc* -butóxido de potássio em THF (1,6 M, 1,5 mL, 2,4 mmol) foi adicionada gota a gota e a mistura submetida a agitação durante 20 min., [método semelhante àquele descrito em Ksander, *et al.*¹⁷]. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (gradiente de 0 - 5% EtOAc em hexanos para se proporcionar o produto de Wittig na forma de um óleo incolor (0,304 g, 73%). Este último produto (0,430 g, 1,60 mmol) e 10% Pd em carbono (60 mg) foram submetidos a agitação em conjunto em EtOAc (15 mL) sob uma atmosfera de hidrogênio durante 16 h. A mistura foi filtrada através de Celite, então o filtrado foi evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (gradiente de 0 - 5% EtOAc em hexanos) para se proporcionar S.1 na forma de um óleo incolor (0,359 g, 61%). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 3,93 -3,71 (m, 3H), 1,83 -1,42 (m, 17H), 1,36 -1,20 (m, 6H), 0,93 -0,80 (m, 3H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CDCl₃, linha de centro δ 77,0): δ 152,1, 151,9 (C), 93,6, 93,0 (C), 79,8, 79,3 (C), 67,1, 66,8 (CH₂), 57,8, 57,4 (CH), 33,6, 32,8 (CH₂), 31,7 (CH₂), 28,5 (CH₃), 27,5, 26,7 (CH₃), 25,9 (CH₂), 24,6, 23,3 (CH₃), 22,6 (CH₂), 13,9 (CH₃), ESI -HRMS calculado para C₁₅H₂₉NNaO₃⁺, (M+Na)⁺, 294,2040, encontrado 294,2038.

[0077] (2*S*) -2 -[({4 -Amino -5*H* -pirrolo [3,2 -*d*]pirimidin -7 -il} metil) amino]heptan -1 -ol (S.2). O

composto S.1 (0,358 g, 1,32 mmol) foi dissolvido em MeOH (4 mL) e ácido clorídrico aq. (36%, 1 mL) foi adicionado. Depois de 15 min. o solvente foi evaporado para a forma de um sólido incolor que foi dissolvido em MeOH (10 mL), neutralizado com resina Amberlyst A21 então levado a passar através de uma coluna curta da mesma resina e eluído com MeOH. As frações que continham produto foram evaporadas para a forma de um resíduo oleoso que foi dissolvido em *tert*-butanol (4 mL), então 9 -deaza adenina (0,177 g, 1,32 mmol) e solução aquosa de formaldeído (0,12 mL, 1,59 mmol) foram adicionados e a mistura foi submetida a agitação sob 70°C durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (gradiente de 5 - 15% 7M NH₃/MeOH in CHCl₃) para se proporcionar S.2 na forma de um sólido incolor (0,122 g, 33%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,16 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 3,64 (dd, *J* = 11,2, 4,5 Hz, 1H), 3,48 (dd, *J* = 11,2, 6,5 Hz, 1H), 2,68 -2,64 (m, 1H), 1,52 -1,38 (m, 2H), 1,32 -1,17 (m, 6H), 0,86 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 152,1 (C), 150,8 (CH), 146,6 (C), 129,0 (CH), 115,4 (C), 114,8 (C), 64,4 (CH₂), 59,2 (CH), 41,2 (CH₂), 33,1 (CH₂), 32,0 (CH₂), 26,8 (CH₂), 23,6 (CH₂), 14,4 (CH₃), ESI -HRMS calculado para C₁₄H₂₄N₅O⁺, (M+H)⁺, 278,1976, encontrado 278,1974.

[0078] *Exemplo T. Síntese de (2S) -2 -[(4 - amino -5H -pirrolo[3,2 -d] pirimidin -7 -il}metil) amino] octan -1 -ol (T.2).*



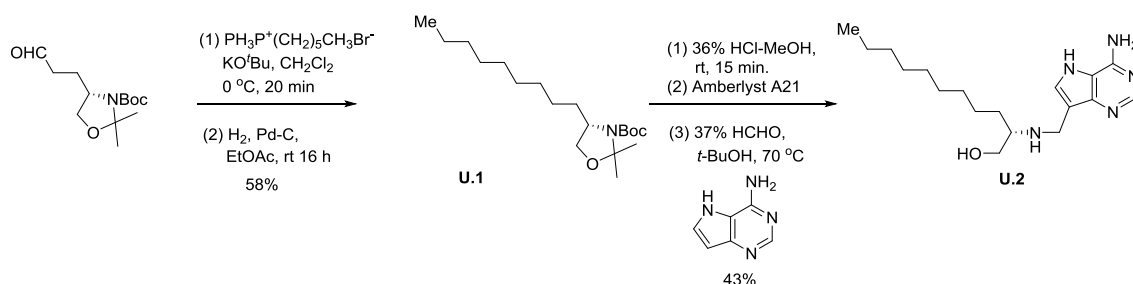
[0079] *tert*-Butyl (4*S*)-4-hexyl-2,2-dimethyl-1,3-oxazolidine-3-carboxylate (T.1). *tert*-Butyl (4*S*)-2,2-dimethyl-4-(3-oxopropyl)-1,3-oxazolidine-3-carboxylate [Goswami, et al.¹⁵] (0,500 g, 1,94 mmol, purificado em sílica gel com um gradiente de 0 - 50% EtOAc em hexanos) e cloreto de *n*-propiltrifenilfosfônio (1,12 g, 2,91 mmol, submetido a secagem sobre P₂O₅ então evaporado 2 x a partir de tolueno anidro) foram dissolvidos em CH₂Cl₂ anidro (7 mL) e resfriados para 0°C. Uma solução de *tert*-butóxido de potássio em THF (1,6 M, 1,8 mL, 2,90 mmol) foi adicionada gota a gota e a mistura foi submetida a agitação durante 20 min., [método semelhante àquele descrito em Ksander, et al.¹⁷]. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (gradiente de 0 - 4% EtOAc em hexanos para se proporcionar o produto de Wittig na forma de um óleo incolor (0,361 g, 66%), Este último produto (0,360 g, 1,27 mmol) e Pd a 10% em carbono (60 mg) foram submetidos a agitação em conjunto em EtOAc (15 mL) sob uma atmosfera de hidrogênio durante 16 h. A mistura foi filtrada através de Celite, então o filtrado foi evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (gradiente de 0 - 5% EtOAc em hexanos) para se proporcionar T.1 na forma de um óleo incolor (0,342 g, 94%). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 3,93 -3,71 (m, 3H), 1,82 -1,42 (m, 17H), 1,36 -1,19 (m, 8H), 0,92 -0,85 (m, 3H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CDCl₃, linha de

centro δ 77,0): δ 152,1, 151,9 (C), 93,5, 93,0 (C), 79,8, 79,3 (C), 67,1, 66,7 (CH₂), 57,8, 57,4 (CH), 33,6, 32,9 (CH₂), 31,8 (CH₂), 29,1 (CH₂), 28,5 (CH₃), 27,5, 26,7 (CH₃), 26,2 (CH₂), 24,6, 23,3 (CH₃), 22,5 (CH₂), 14,0 (CH₃), ESI - HRMS calculado para C₁₆H₃₂NO₃⁺, (M+H)⁺, 286,2377, encontrado 286,2375.

[0080] (2S) -2 -[({4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il}metil) amino] octan -1 -ol (T.2). O composto T.1 (0,320 g, 1,12 mmol) foi dissolvido em MeOH (4 mL) e ácido clorídrico aquoso (36%, 1 mL) foi adicionado. Depois de 15 min. o solvente foi evaporado para proporcionar um sólido incolor que foi dissolvido em uma mistura 4:1 de MeOH -CHCl₃ (10 mL), neutralizado com resina Amberlyst A21 então levado a passar através de uma coluna curta da mesma resina e eluído com 4:1 MeOH -CHCl₃. As frações que continham produto foram evaporadas para um sólido de cor amarela que foi dissolvido em *terc* -butanol (4 mL) então 9 -deaza adenina (0,150 g, 1,12 mmol) e solução aquosa de formaldeído (37%, 0,101 mL, 1,35 mmol) foram adicionados e a mistura foi submetida a agitação sob 70°C durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente , então o solvente foi evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (gradiente de 5 - 15% 7M NH₃/MeOH em CHCl₃) para se proporcionar T.2 na forma de um sólido incolor (0,148 g, 45%). ¹H NMR (500 MHz, 1:1 CD₃OD -CDCl₃): δ 8,20 (s, 1H), 7,40 (s, 1H), 3,98 (d, *J* = 13,7 Hz, 1H), 3,95 (d, *J* = 13,7 Hz, 1H), 3,73 (dd, *J* = 11,4, 4,0 Hz, 1H), 3,50 (dd, *J* = 11,4, 6,6 Hz, 1H), 2,74 - 2,69 (m, 1H), 1,54 - 1,39 (m, 2H), 1,34 - 1,22 (m, 8H), 0,88 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H), ¹³C NMR (125,7 MHz, 1:1 CD₃OD -CDCl₃, linha de centros δ 49,0 e δ 78,3): δ 151,2 (C), 150,2 (CH), 146,0 (C), 128,1 (CH), 115,0 (C), 114,2 (C), 63,6 (CH₂), 59,0 (CH), 40,7 (CH₂), 32,4 (CH₂), 31,6 (CH₂), 30,0

(CH₂), 26,7 (CH₂), 23,1 (CH₂), 14,3 (CH₃), ESI -HRMS calculado para C₁₅H₂₅N₅NaO⁺, (M+Na)⁺, 314,1952, encontrado 314,1953.

[0081] *Exemplo U. Síntese de (2S) -2 -[({4 - amino -5H -pirrolo[3,2 -d] pirimidin -7 -il} metil) amino] undecan -1 -ol (U.2).*



[0082] *terc -Butil (4S) -2,2 -dimetil -4 - nonil -1,3 -oxazolidina -3 -carboxilato (U.1). Etapa 1.* Trifenilfosfina (3,70 g, 14,11 mmol) e 1 -bromo -hexano (2,97 mL, 21,16 mmol) foram submetidos a agitação e aquecidos sob refluxo em tolueno (10 mL) durante 16 h. O brometo de *n* -hexiltrifenil fosfônio resultante (3,30 g, 55%) foi filtrado e submetido a secagem sobre P₂O₅ então evaporado 2 x a partir de tolueno anidro.

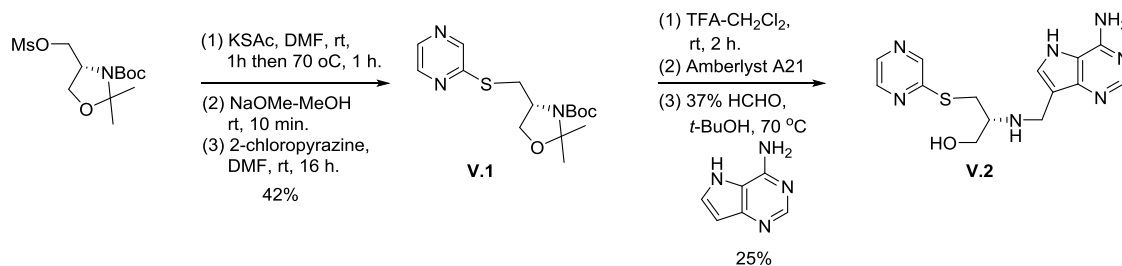
[0083] *Etapa 2.* O sal de fosfônio proveniente da etapa 1 (1,30 g, 3,04 mmol) e *terc* -butil (4S) -2,2 -dimetil -4 -(3 -oxopropil) -1,3 -oxazolidina -3 -carboxilato [Goswami, et al,¹⁵] (0,500 g, 1,94 mmol, purificado em sílica gel com um gradiente de 0 - 50% EtOAc em hexanos) foram dissolvidos em CH₂Cl₂ (7 mL) e resfriados para 0°C. Uma solução de *terc* -butóxido de potássio em THF (1,6 M, 1,9 mL, 3,00 mmol) foi adicionada gota a gota e a mistura submetida a agitação durante 20 min., [método similar àquele descrito em Ksander, et al,¹⁷]. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (gradiente de 0 - 5% EtOAc em hexanos para se

proporcionar o produto de Wittig na forma de um óleo incolor (0,370 g, 59%), Este último produto (0,340 g, 1,04 mmol) e Pd a 10% em carbono (60 mg) foram submetidos a agitação em conjunto em EtOAc (15 mL) sob uma atmosfera de hidrogênio durante 16 h, A mistura foi filtrada através de Celite e o filtrado evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (gradiente de 0 - 5% EtOAc em hexanos) para se proporcionar U.1 na forma de um óleo incolor (0,340 g, 99%). ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 3,93 -3,70 (m, 3H), 1,82 -1,42 (m, 17H), 1,35 -1,82 (m, 14H), 0,88 (t, J = 6,9 Hz, 3H), ^{13}C NMR (125,7 MHz, CDCl_3 , linha de centro δ 77,0): δ 152,2, 151,9 (C), 93,6, 93,0 (C), 79,8, 79,3 (C), 67,1, 66,8 (CH_2), 57,8, 57,5 (CH), 33,6, 32,9 (CH_2), 31,9 (CH_2), 29,6, 29,5, 29,3 (4 x CH_2), 28,5 (CH_3), 27,5, 26,8 (CH_3), 26,3 (CH_2), 24,6, 23,3 (CH_3), 22,6 (CH_2), 14,1 (CH_3), ESI - HRMS calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{37}\text{NNaO}_3^+$, $(\text{M}+\text{Na})^+$, 350,2666, encontrado 350,2663.

[0084] (2S) -2 -[({4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il}metil) amino] undecan -1 -ol (U.2). O composto U.1 (0,310 g, 0,947 mmol) foi dissolvido em MeOH (4 mL) e adicionou -se ácido clorídrico aquoso (36%, 1 mL). Depois de 15 min. o solvente foi evaporado para formar um sólido incolor que foi dissolvido em uma mistura 4:1 de MeOH - CHCl_3 , neutralizado com resina Amberlyst A21, então levado a passar através de uma coluna curta da mesma resina e eluído com 4:1 MeOH - CHCl_3 . As frações que continham produto foram evaporadas para a forma de um óleo de cor amarela o qual foi dissolvido em *terc* -butanol (4 mL) então 9 -deaza adenina (0,127 g, 0,95 mmol) e solução aquosa de formaldeído (37%, 0,085 mL, 1,10 mmol) foram adicionados e a mistura foi submetida a agitação sob 70°C durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo cromatografado

em sílica gel (gradiente de 5 - 15% 7M NH₃/MeOH em CHCl₃) para se proporcionar U.2 na forma de um sólido incolor (0,135 g, 43%). ¹H NMR (500 MHz, 1:1 CD₃OD -CDCl₃): δ 8,20 (s, 1H), 7,40 (s, 1H), 3,96 (s, 1H), 3,73 (dd, *J* = 11,4, 3,9 Hz, 1H), 3,50 (dd, *J* = 11,4, 6,6 Hz, 1H), 2,74 -2,69 (m, 1H), 1,55 -1,39 (m, 2H), 1,35 -1,21 (m, 14H), 0,89 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H), ¹³C NMR (125,7 MHz, 1:1 CD₃OD -CDCl₃, linha de centros δ 49,0 e δ 78,3): δ 151,2 (C), 150,2 (CH), 146,0 (C), 128,1 (CH), 115,0 (C), 114,2 (C), 63,6 (CH₂), 59,0 (CH), 40,7 (CH₂), 32,5 (CH₂), 31,6 (CH₂), 30,4 (CH₂), 30,1 (2 x CH₂), 29,9 (CH₂), 26,8 (CH₂), 23,2 (CH₂), 14,3 (CH₃), ESI -HRMS calculado para C₁₈H₃₂N₅O⁺, (M+H)⁺, 334,2602, encontrado 334,2605.

[0085] *Exemplo V. Síntese de (2R) -2 -[(4 - amino -5H -pirrolo[3,2 -d] pirimidin -7 -il} metil) amino] -3 -(pirazin -2 -ilsulfanil)propan -1 -ol (V.2).*



[0086] *terc -Butil (4R) -2,2 -dimetil -4 - [(pirazin -2 -ilsulfanil)metil] -1,3 -oxazolidina -3 - carboxilato (V.1). Etapa 1.* Tioacetato de potássio (0,588 g, 5,05 mmol)) e mesilatos proveniente da etapa 1 da preparação de K.1 (0,520 g, 1,68 mmol) foram submetidos a agitação em conjunto em DMF (5 mL) sob a rt durante 16 h, então sob 70°C durante 1 h. Água (5 mL) foi adicionada e a mistura extraída com Et₂O (100 mL). O extrato foi lavado com H₂O (4 x 5 mL), solução salina (5 mL), submetido a secagem, o solvente evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (gradiente de 0 - 30% EtOAc em hexanos) para se proporcionar *terc* -butil (4R) -4 -[(acetilsulfanil) metil]

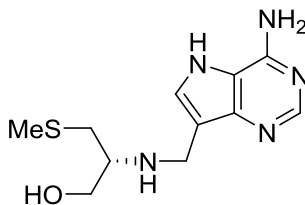
-2,2 -dimetil -1,3 -oxazolidina -3 -carboxilato na forma de um óleo incolor (0,347 g, 71%).

[0087] *Etapa 2.* Metóxido de sódio em solução de metanol (25%, 0,27 mL, 1,2 mmol) foi adicionado a uma solução do tioacetato proveniente da *etapa 1* (0,340 g, 1,17 mmol) em MeOH (5 mL)). Depois de 10 min. o solvente foi evaporado e o resíduo dissolvido em DMF (5 mL), então 2 -cloropirazina (0,32 mL, 3,6 mmol) adicionado e a mistura submetida a agitação durante 16 h. Água (5 mL) foi adicionada, então a mistura foi extraída com Et₂O (100 mL). O extrato foi lavado com H₂O (4 x 5 mL), solução salina (5 mL), submetido a secagem e evaporado. O resíduo foi cromatografado em sílica gel (gradiente de 0 - 30% EtOAc em hexanos) para se proporcionar V.1 na forma de um óleo incolor (0,224 g, 59%). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8,55, 8,48 (2 x bs, 1H), 8,36, 8,33 (2 x bs, 1H), 8,22 (bs, 1H), 4,23, 4,14 (2 x bs, 1H), 4,06 -3,93 (m, 2H), 3,76 -3,63 (m, 1H), 3,37 -3,27 (m, 0,5H), 3,17 -3,07 (m, 0,5H), 1,67 -1,59 (m, 3H), 1,53 -1,45 (m, 12H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CDCl₃, linha de centro δ 77,0): δ 156,5, 156,1 (C), 152,2, 151,6 (C), 143,7, 143,6 (2 x CH), 139,8, 139,7 (CH), 94,5, 93,9 (C), 80,5, 80,2 (C), 66,4, 66,3 (CH₂), 56,9, 56,5 (CH), 31,4, 31,0 (CH₂), 28,5 (CH₃), 27,5, 26,9 (CH₃), 24,4, 23,2 (CH₃), ESI -HRMS calculado para C₁₅H₂₃N₃NaO₃S⁺ (M+Na)⁺, 348,1353, encontrado 348,1350.

[0088] (2R) -2 -[({4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il}metil) amino] -3 -(pirazin -2 -ilsulfanil) propan -1 -ol (V.2). O composto V.1 (0,220 g, 0,68 mmol) foi dissolvido em CH₂Cl₂ (8 mL) e adicionou -se ácido trifluoroacético (2 mL). Depois de 2 h o solvente foi evaporado e o resíduo dissolvido em MeOH (10 mL) e neutralizado com resina Amberlyst A21, então levado a passar através de uma coluna curta da mesma resina e eluído

com MeOH. As frações que continham produto foram evaporadas para formarem uma goma de cor amarela que foi dissolvida em *tert*-butanol (4 mL), então solução aquosa de formaldeído (37%, 0,061 mL, 0,81 mmol) e 9 -deaza adenina (0,091 g, 0,68 mmol) foram adicionados e a mistura aquecida sob 70°C durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (gradiente de 10 - 15% 7M NH₃/MeOH em CHCl₃) para se proporcionar V.2 na forma de um sólido incolor (0,055 g, 25%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,35 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 8,28 (dd, *J* = 2,6, 1,7 Hz, 1H), 8,14 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 8,12 (s, 1H), 7,43 (s, 1H), 4,05 (d, *J* = 13,9 Hz, 1H), 4,02 (d, *J* = 13,8 Hz, 1H), 3,74 (dd, *J* = 11,3, 4,9 Hz, 1H), 3,64 (dd, *J* = 11,3, 5,5 Hz, 1H), 3,39 -3,31 (m, 2H + solvente deuterado residual), 3,01 -2,97 (m, 1H), ¹³C NMR (125,7 MHz, CD₃OD, linha de centro δ 49,0): δ 158,2 (C), 152,0 (C), 150,8 (CH), 146,5 (C), 145,2 (CH), 144,6 (CH), 140,3 (CH), 129,0 (CH), 115,4 (C), 114,7 (C), 63,7 (CH₂), 58,4 (CH), 41,4 (CH₂), 31,6 (CH₂), ESI -HRMS calculado C₁₄H₁₈N₇OS⁺ (M+H)⁺, 332,1289, encontrado 332,1287.

[0089] *Exemplo W. (2R) -2 -[({4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il} metil)amino] -3 - (metilsulfanil)propan -1 -ol (W.1).*

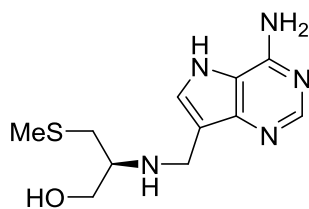


W.1

[0090] Preparado de acordo com a literatura [Clinch, et al.¹⁸].

[0091] *Exemplo X. (2S) -2 -[({4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d]pirimidin -7 -il} metil) amino] -3 -*

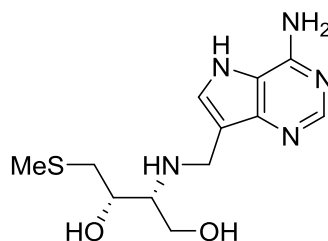
(metilsulfanil) propan -1 -ol (X.1).



X.1

[0092] Preparado de acordo com a literatura [Clinch, et al.¹⁸].

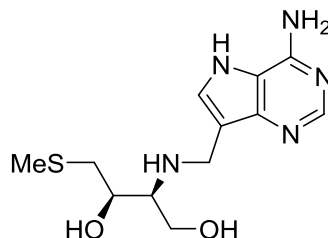
[0093] *Exemplo Y. (2R,3S) -2 -[(4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d] pirimidin -7 -il}metil) amino] -4 - (metilsulfanil)butano -1,3 -diol (Y.1).*



Y.1

[0094] Preparado de acordo com a literatura [Clinch, et al.¹⁸].

[0095] *Exemplo Z. (2S,3R) -2 -[(4 -Amino -5H -pirrolo[3,2 -d] pirimidin -7 -il}metil) amino] -4 - (metilsulfanil) butano -1,3 -diol (Z.1).*

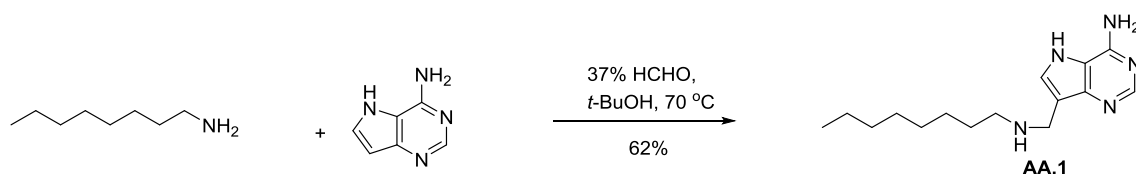


Z.1

[0096] Preparado de acordo com a literatura [Clinch, et al.¹⁸].

[0097] *Exemplo A A. Síntese de 7 - [(octilamino)metil] -5H -pirrolo [3,2 -d]pirimidin -4 -*

amina (A A.1).



[0098] 7 -[(Octilamino)metil] -5H -pirrolo [3,2 -d] pirimidin -4 -amina (A A.1). Octan -1 -amina (0,100 g, 0,77 mmol), solução aquosa de formaldeído (37%, 0,076 mL, 1,01 mmol) e 9 -deaza adenina (0,105 g, 0,78 mmol) foram aquecidos em *terc* -butanol (3 mL) sob 70°C durante 16 h. Sílica gel foi adicionado para absorver todo o solvente, então o solvente foi evaporado e o resíduo cromatografado em sílica gel (gradiente de 5 - 15% 7 M NH_3/MeOH em CHCl_3) para se proporcionar A A.1 na forma de um sólido incolor (0,132 g, 62%). ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 8,16 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 3,91 (s, 2H), 2,61 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,52 (pent, J = 7,4 Hz, 2H), 1,34 -1,21 (m, 10H), 0,88 (t, J = 7,1 Hz, 3H), ^{13}C NMR (125,7 MHz, CD_3OD , linha de centro δ 49,0): δ 152,1 (C), 150,8 (CH), 146,6 (C), 129,0 (CH), 115,4 (C), 114,5 (C), 49,9 (CH_2), 43,7 (CH_2), 33,0 (CH_2), 30,5 (CH_2), 30,4 (CH_2), 30,3 (CH_2), 28,4 (CH_2), 23,7 (CH_2), 14,4 (CH_3), ESI -HRMS calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_5^+$, $(\text{M}+\text{H})^+$, 276,2183, encontrado 276,2181.

Resultados e Discussão

[0099] Os antibióticos comumente usados nas infecções por *H. pylori* incluem amoxicilina, metronidazol e tetraciclina. Os efeitos anti -*H. pylori* dos compostos selecionados foram comparados àqueles antibióticos em uso comum.

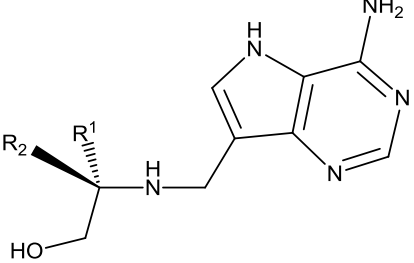
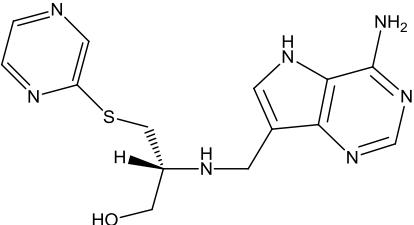
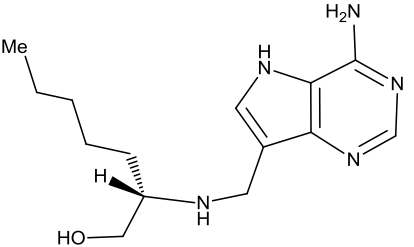
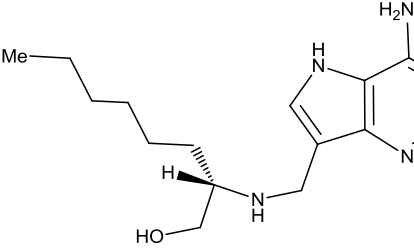
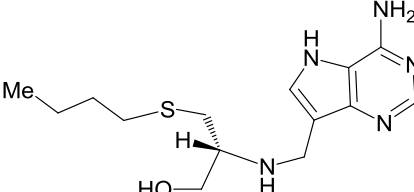
[0100] Na maioria das bactérias, MTANs são expressos e catalisam a hidrólise das ligações N - ribossídicas de 5' - metiltioadenosina e S -adenosil

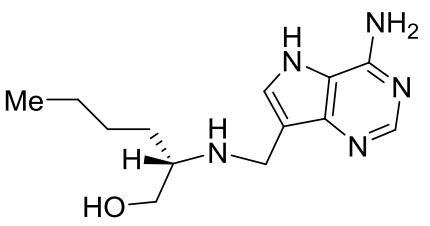
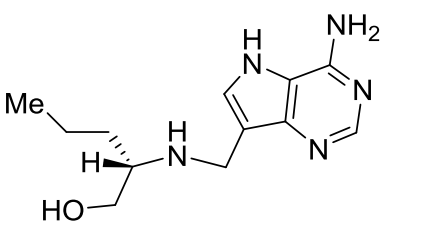
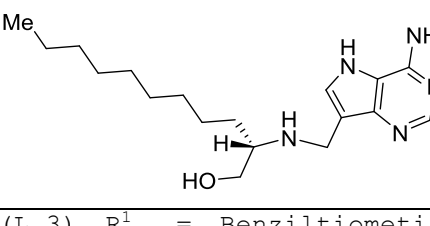
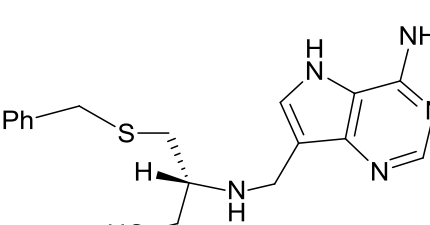
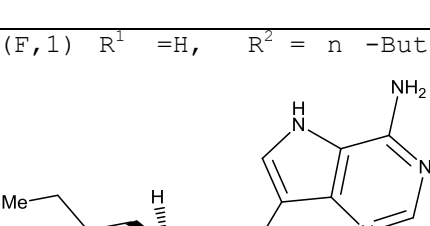
homocisteína. As duas reações estão envolvidas na detecção de *quorum* bacteriano, reciclagem de enxofre via *S* - adenosilmetionina e síntese de poliamina¹³; não obstante, a maior parte das MTANs bacterianas não são essenciais para a proliferação bacteriana, tal como avaliado pelas condições de crescimento planctônicas.

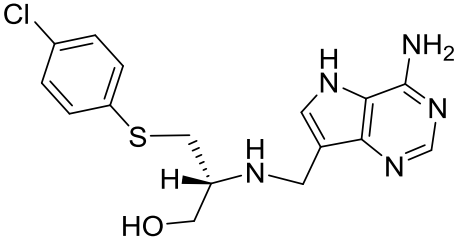
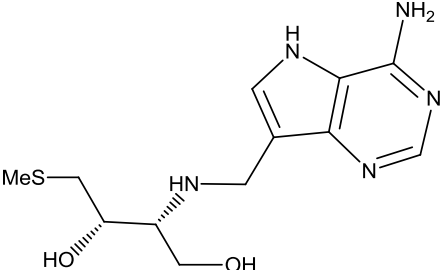
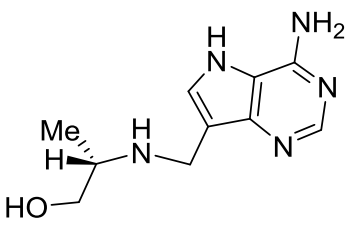
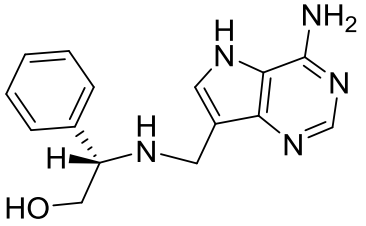
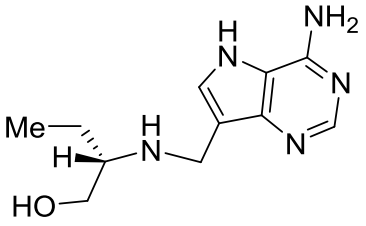
[0101] A análise do genoma bacteriano prevê o caminho mediado por *HpMTAN* para a biossíntese de menaquinona como sendo raro, mas também estando presente nas espécies *Campylobacter*⁴. A *Campylobacter jejuni* é a principal causa mundial de gastroenterite bacteriana¹¹.

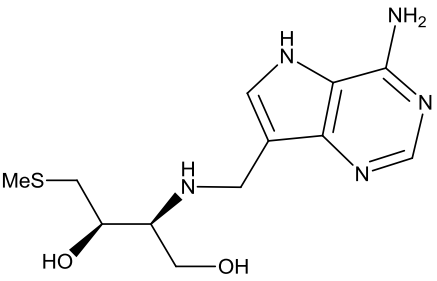
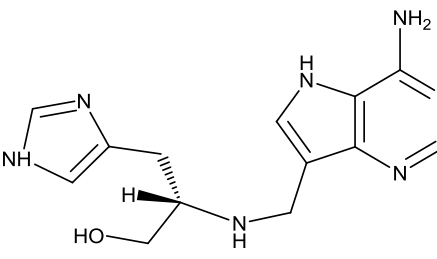
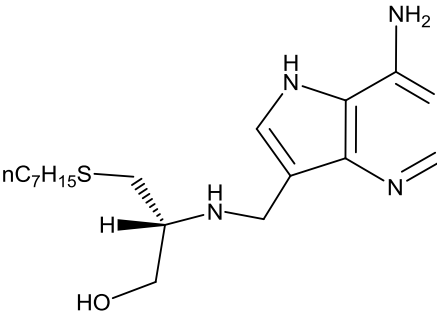
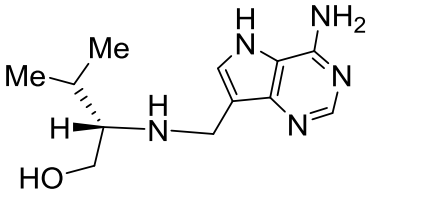
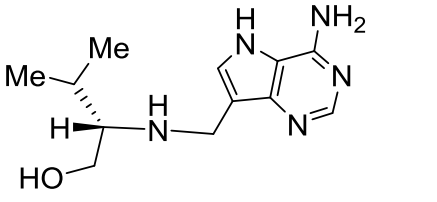
[0102] A resistência a fármacos foi desenvolvida rapidamente no *H. pylori*, e atualmente cerca de 30% das infecções por *H. pylori* são resistentes aos fármacos de primeira linha de único agente¹². Como um resultado, a atual abordagem comumente utiliza terapia de triplo -agente para as infecções pelo *H. pylori* e inclui dois antibióticos com diferentes mecanismos de ação. Mesmo com terapia de triplo agente, mais de 20% das infecções pelo *H. pylori* não são facilmente eradicadas². A resistência na população de *H. pylori* é, sem dúvida, parcialmente devida à exposição do *H. pylori* aos antibióticos de amplo espectro durante o tratamento de outras infecções bacterianas. Além disso, a atual erradicação do *H. pylori* requer antibióticos durante dois semanas ou por mais tempo e ocorre um aumento no desenvolvimento de resistência se o tratamento for interrompido. A Tabela 1 resume as constantes de dissociação contra *H. pylori* MTAN e os valores de MIC90 contra *H. pylori* para compostos específicos da invenção. As combinações de medicamentos que utilizam estes compostos podem também abordar questões atuais da resistência aos antibióticos.

Tabela 1. Inibidores de Amina Acíclica de *Helicobacter pylori* MTAN e seus valores MIC90 contra o *H. pylori*.

	Inibição de <i>H. pylori</i> MTAN		Inibição de crescimento de <i>H. pylori</i>
Composto número, $R^1 =$, $R^2 =$	Ki (nM)	Ki* (nM)	MIC90 (ng/mL)
(V,2) $R^1 =$ Pirazin -2 - iltiometil, $R^2 = H$ 	0,10 ± 0,01		8
(S,2) $R^1 = n$ -Pentil, $R^2 = H$ 	0,10 ± 0,01		8
(T,2) $R^1 = n$ -Hexil, $R^2 = H$ 	0,030 ± 0,003		8
(Q,2) $R^1 = n$ -Butiltiometil, $R^2 = H$ 	0,11 ± 0,01		16

(E,1), $R^1 = n\text{-Butil}$, $R^2 = H$ 	$0,9 \pm 0,2$		16
(D,1) $R^1 = n\text{-Propil}$, $R^2 = H$ 	$1,2 \pm 0,4$		40
(U,2) $R^1 = H$, $R^2 = n\text{-Nonil}$ 	$0,12 \pm 0,01$		80
(L,3) $R^1 = \text{Benziltiometil}$, $R^2 = H$ 	$0,7 \pm 0,1$	$0,21 \pm 0,02$	>80
(F,1) $R^1 = H$, $R^2 = n\text{-Butil}$ 	$0,8 \pm 0,1$		>80
(K,3) $R^1 = 4\text{-Clorofeniltiometil}$, $R^2 = H$	$0,9 \pm 0,1$		>80

			
(Y,1) $R^1 = (S)$ -1 -hidroxi -2 -metiltioet -1 -il, $R^2 = H$ (Síntese em WO 08 030118) 	5 ± 2		>80
(B,1) $R^1 = \text{Metil}$, $R^2 = H$ 	13 ± 2		>80
(J,1) $R^1 = \text{Fenil}$, $R^2 = H$ 	13 ± 2		>80
(C,1) $R^1 = \text{etil}$, $R^2 = H$ 	>5		>80
(Z,1) $R^1 = H$, $R^2 = (R)$ -1 - Hidroxi -2 -metiltioet -1 -	>10		>80

il (Síntese em WO 08 030118) 			
(P,4) R^1 = Imidazol -4 - ilmetil, R^2 = H 	>50		>80
(R,2) R^1 = n -Heptiltiometil, R^2 = H 	$0,05 \pm 0,01$		80
(G,1) R^1 = 2 -Propil, R^2 = H 	>5		>80
(H,1) R^1 = 2 -Metilpropil, R^2 = H 	>5		>80

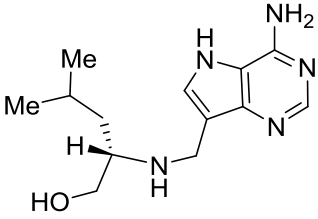
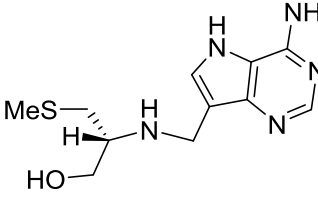
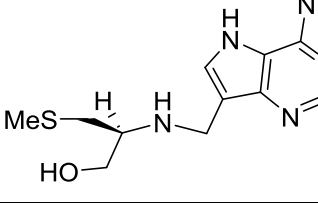
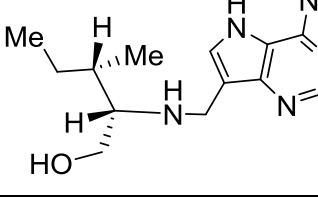
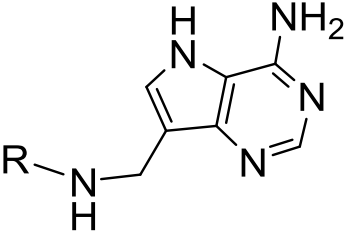
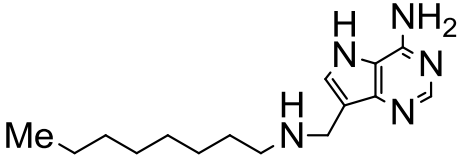
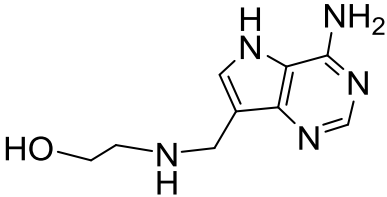
			
(W,1) R^1 = Metiltiometil, R^2 = H 	>5		>80
(X,1) R^1 = H, R^2 = Metiltiometil 	>5		>80
(I,1) R^1 = (S) -2 -Butil, R^2 = H 	>5		>80

Tabela 2. Outros Inibidores de Amina Acíclica de *Helicobacter pylori* MTAN e seus valores MIC90 contra o *H. pylori*,

 Composto número, R =	Inibição de <i>H. pylori</i> MTAN		Inibição de crescimento de <i>H. pylori</i>
	Ki (nM)	Ki* (nM)	MIC90 (ng/mL)

(A A,1), R = n -Octil 	0,2 ± 0,04		>80
(A,1), R = 2 -Hidroxietil 	>5		>80

EXEMPLO 2

Atividade *In vitro* do Composto T.2 (Hexil -SerMe -imucilina A)

[0103] Estas experiências que estão expostas em seguida foram realizadas no UNT Health Science Center (Study lead: William J Weiss, Director of Pre -Clinical Services), Fort Worth, TX, USA.

[0104] (a) *Preparação da placa de amostras:* Aliquotas de uma diluição em série de 2 vezes de Hexyl - SerMe -Immucillin A (a partir de 62,5 µg/mL - 6,25 µg/mL em DMSO, 0,02 mL) foram misturadas em separado 2 mL de ágar fundido MHb, e vertida para separar células em cada alvéolo de uma placa de 12 alvéolos, deixadas assentar durante 20 - 30 minutos e secar em uma cabine de segurança biológica durante 10 minutos antes da inoculação.

[0105] (b) *Inoculação:* Estoque inoculado congelado de cepas de *H. pylori* UNT020 -1 (Sydney Strain SS1) e UNT189 -1 (ATCC43504) foi estriado separadamente em Columbia + ágar em sangue de ovelha a 5% e incubado de forma micro aerofílica durante 72 h sob 37°C. As culturas de placa das cepas *H. pylori* foram então colhidas em solução salina estéril a 0,9% e foi determinado o OD sob

530 nm da suspensão. O OD de cada suspensão foi ajustado para 1,5 - 2,0 por meio de diluição em solução salina estéril a 0,9%. A suspensão de UNT020 -1 foi, além disso, diluída 2:5, mas a suspensão UNT189 -1 não foi mais diluída, e estas foram usadas para inocular as placas de ágar. Amostras das suspensões (3 µL) foram salpicadas nos alvéolos de ágar de MHIb na placa de 12 alvéolos. O CFU/mL de cada inóculo foi confirmado por meio de geração de uma diluição em série 10 vezes de cada inóculo em solução salina estéril a 0,9% e salpicando 8 µL de cada diluição em placas de ágar Columbia + sangue de ovelha a 5%. Depois de se permitir que os salpicos secassem durante 10 min., as placas foram colocadas em uma câmara micro aerofílica e incubadas sob 37 °C durante 72 h.

[0106] *Resultados:* As Concentrações Inibidoras Mínimas (MICs) para o Hexyl -SerMe -imucilina A foram determinadas contra isolados de *H. pylori* UNT020 -1 (Sydney Strain SS1) e UNT189 -1 (ATCC43504). Hexyl -SerMe -Imucilina A exibiu excelente atividade contra as duas cepas *H. pylori* com um MIC de 1,9 ng/mL em cada caso.

A concentração do Composto T.2 (Hexyl -SerMe -imucilina A) na mucina gástrica de camundongo em seguida a uma única dose oral sob 10 mg/kg

[0107] Estas experiências que se seguem foram realizadas no UNT Health Science Center (Study lead: William J Weiss, Director of Pre -Clinical Services), Fort Worth, TX, USA.

[0108] (a) *Dosagem oral de camundongos com 10 mg/kg Hexyl -SerMe -Imucilina A:* Camundongos fêmeas C57/BL6 variando de 5 - 6 semanas de idade e 18 - 22 gramas de peso (Harlan Laboratories) foram dosados por meio de cânula oral com de Hexyl -SerMe -Imucilina A (0,4 mL de uma solução de 0.5 mg/mL em água para injeção).

[0109] (b) *Amostragem de mucina:* Camundongos (3 camundongos / ponto de tempo) foram sacrificados por inalação de CO₂ sob 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12 e 24 h, então a camada de mucina raspada a partir do estômago dissecado longitudinalmente utilizando-se uma lâmina de vidro, coletada e ponderada.

[0110] (c) *Preparação de homogenados de mucina gástrica:* Aproximadamente 30 mg de mucina de camundongo foram pesados em um tubo homogeneizado de 2 mL (preenchido com 3,0 mm i.d. glóbulos de zircônio) e misturados com 0,2 mL de tampão PBS. Isto foi homogeneizado durante 3 min. sob 4.000 rpm em um homogeneizador Beadbug D1030 (Benchmark Scientific).

[0111] (d) *Extração de homogenados de mucina gástrica:* Amostras de homogeneizado de mucina (50 µL) e de padrão interno (vide adiante) em água (10 µL) foram tratadas com ácido tricloroacético (30% p/v, 30 µL), diluídas com água (160 µL), submetidas a vórtice durante 10 s e sonicadas durante 10 min., então centrifugadas sob 14.500 rpm durante 5 min. A amostra do sobrenadante (160 µL) foi transferida para dentro de frascos de auto amostragem. O padrão interno era compreendido por Butiltio -DADMe -Imucilina -H sob 5,0 e 20,0 µg/mL.

[0112] (f) *Análise de HPLC -MS -MSs:* Aliquotas de sobrenadante (10 µL) foram injetadas para análise no sistema de HPLC Surveyor (Thermo) equipado com uma Coluna ACE 3 C18 (50 × 3 mm, partículas de 3 µm), com eluição de gradiente sob 30°C com fase móvel de 400 µL/min. compreendida de misturas de ácido trifluoroacético a 0,1% em água (A) e metanol (B) da seguinte forma: 0 - 5 min., A:B 9:1; 5 - 6,1 min., A:B 1:9; 6,1 -10 min. A:B 9:1. Hexil -SerMe -Imucilina A eluída em 4,41 ± 0,003 min. A detecção foi ESI MS/MS utilizando-se um LCQ Deca (Thermo)

em modalidade positive de monitoração de detecção selecionada (SRM) utilizando-se o evento MS/MS m/z 292.2 → 147.2 e voltagem de pulverização de íons de 4,5 kV.

[0113] (g) *Resultados:* Os resultados para Hexyl -SerMe -Imucilina A em mucina gástrica em seguida à administração de 10 mg/kg por meio de sonda oral em camundongos estão ilustrados na Tabela e Figura adiante. Um nível elevado e prolongado de Hexyl -SerMe -Imucilins A foi detectado na mucina gástrica, com o valor de C_{max} foi de 65,5 µg/g, exposição total $[AUC_{(0 - inf)}]$ foi de 78,6 µg -h/g e a meia vida terminal foi de 2,72 h.

Tabela 3. A concentração de Hexyl -SerMe -Imucilina A na mucina gástrica de camundongo contra (vs) tempo em seguida a uma única dose de 10 mg/kg PO.

Tempo (h)	Hexyl -SerMe -Imucilina A (µg/g)					
	Animal -1	Animal -2	Animal -3	Média	SD	SEM
0,25	60,42	64,36	45,91	56,89	9,71	4,34
0,50	46,24	90,18	60,18	65,53	22,46	10,04
1,00	20,39	12,20	12,04	14,88	4,77	2,13
2,00	2,02	1,08	16,24	6,44	8,49	3,80
4,00	0,67*	3,74	0,91	1,77	1,71	0,76
8,00	0,65*	1,62	0,53*	0,93	0,60	0,27
12,0	0,96	0,95	0,33*	0,74	0,36	0,16
24,0	0,54*	0,39*	0,30*	0,41	0,12	0,06
* abaixo de LLOQ						

REFERÊNCIAS

1. Kuipers, E. J., Thijs, J.C. & Festen, H. P. *Aliment. Pharm. Therap.* 9 Suppl 2, 59 -69 (1995).
2. Malfertheiner, P. *et al. Lancet* 377, 905 -913 (2011).

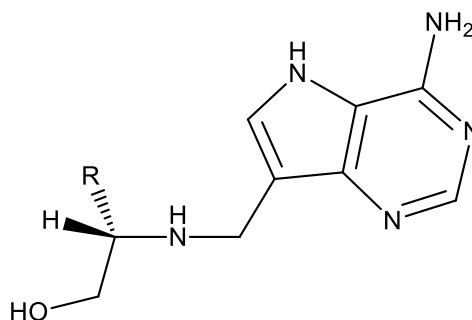
3. Popp, J.L., Berliner, C. & Bentley, R. *Anal. Biochem.* 178, 306 -310 (1989).
4. Li, X., Apel, D., Gaynor, E. C. & Tanner, M. E. *J. Biol. Chem.* 286, 19392 -19398 (2011).
5. Dairi, T. *J. Antibiot.* 62, 347 -352 (2009).
6. Gutierrez, J.A. et al. *Nature Chem. Biol.* 5, 251 -257 (2009).
7. Longshaw, A.I., Adanitsch, F., Gutierrez, J.A., Evans, G.B., Tyler, P.C., Schramm, V.L. Design e Síntese de Potent "Sulfur -Free" Transition State Analogue Inhibitors of 5' -Metilthioadenosine Nucleosidase e 5' -Metilthioadenosine Phosphorylase. *J. Med. Chem.* 53, 6730 -6746 (2010).
8. Singh, V. et al. Femtomolar transition state analogue inhibitors of 5' -metilthioadenosine/S -adenosylhomocysteine nucleosidase from *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 280, 18265 -18273 (2005).
9. Singh, V. & Schramm, V.L. *J. Am. Chem. Soc.* 129, 2783 -2795 (2007).
10. Gutierrez, J. A. et al. Picomolar inhibitors as transition -state probes of 5' -metilthioadenosine nucleosidases. *ACS Chem. Biol.* 2, 725 -734 (2007).
11. Man, S.M. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 8, 669 -685 (2011)
12. Vakil, N. *Am. J. Gastro.* 104, 26 -30 (2009).
13. Dondoni, A.; Perrone, D.; *Org. Synth., Coll. Vol.* 10. 320 (2004); *Org. Synth.* 77, 64, (2000).
14. Madrigal, B.; Puebla, P.; Caballero, E.; Peláez, R.; Grávalos, D. G.; Medarde, M. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* 334, 177 -179 (2001).
15. Goswami, K.; Paul, S.; Budge, S. T.; Sinha, S. *Tetrahedron* 68, 280 -286 (2012).
16. Paleček, J.; Kvíčala, J.; Paleta, O. *J. Fluorine Chem.*

- 113, 177 -18 (2002).
17. Ksander, G. M.; de Jesus, R.; Yuan, A.; Ghai, R. D.; Trapani, A; McMartin, C.; Bohacek, R. *J. Med. Chem.* 40. 495 -505 (1997).
 18. Clinch, K.; Evans, G. B.; Fröhlich, R. F. G.; Gulab, S. A.; Gutierrez, J. A.; Mason, J. M.; Schramm, V. L.; Tyler, P. C.; Woolhouse, A. D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20, 5181 -5187 (2012).
 19. PCT International Patent Application Publication No. WO 2008/030118, published March 13, 2008.

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de um composto **caracterizado** por ser na fabricação de um medicamento para tratar uma infecção por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) em um indivíduo, em uma quantidade efetiva para inibir o crescimento de *H. pylori*;

em que o composto possui fórmula:



em que R é Q ou CH₂SQ₁, em que Q é alquila C1-C9, arila C1-C9, heteroarila C1-C9, aralquila C1-C9, ou cicloalquila C4-C7, em que Q é opcionalmente substituído por um ou mais grupos halogênio, OH e/ou NH₂, e em que Q₁ é alquila C4-C9, arila C4-C9, heteroarila C4-C9, aralquila C4-C9, ou cicloalquila C4-C7, em que Q₁ é opcionalmente substituído por um ou mais grupos halogênio, OH e/ou NH₂;

ou um sal farmaceuticamente aceitável deste.

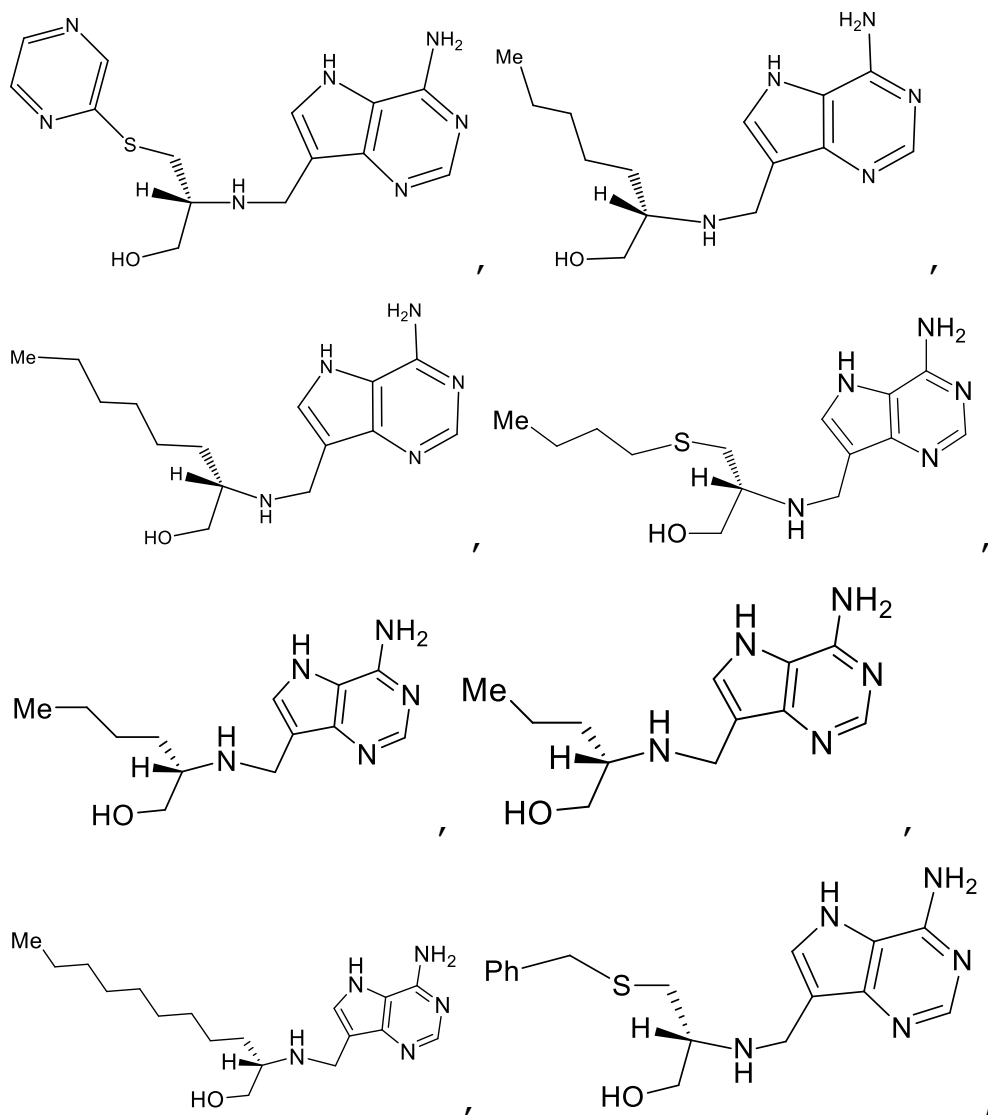
2. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** por R ser Q ou CH₂SQ₁; em que Q é alquila C1-C9; em que Q ou Q₁ é cicloalquila C4-C7; ou em que Q ou Q₁ é arila; ou em que Q ou Q₁ é heteroarila; ou em que Q ou Q₁ é aralquila; ou em que Q ou Q₁ é arila, heteroarila ou aralquila substituída por halogênio.

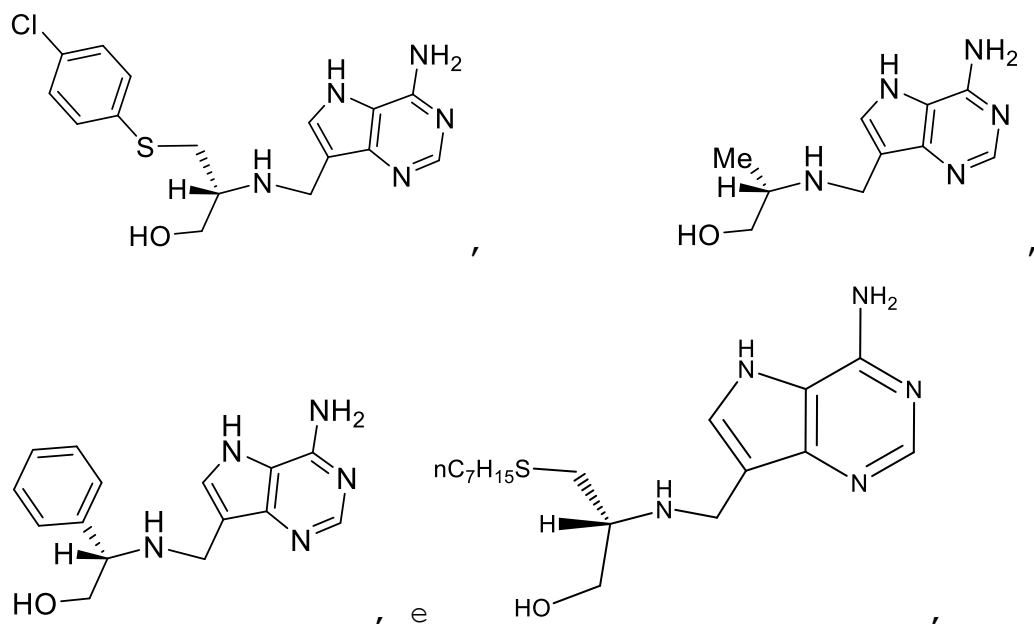
3. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** por R ser Q, em que Q é alquila linear C2-C9, arila linear C2-C9, heteroarila C2-C9, aralquila linear C2-C9 ou cicloalquila C4-C7; e em que Q é opcionalmente

substituído por um ou mais grupos halogênio, OH e/ou NH₂; preferencialmente em que Q é alquila ou heteroarila linear C3-C9.

4. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo halogênio ser Cl, F, Br ou I e estar em uma posição *orto*, *meta* ou *para*.

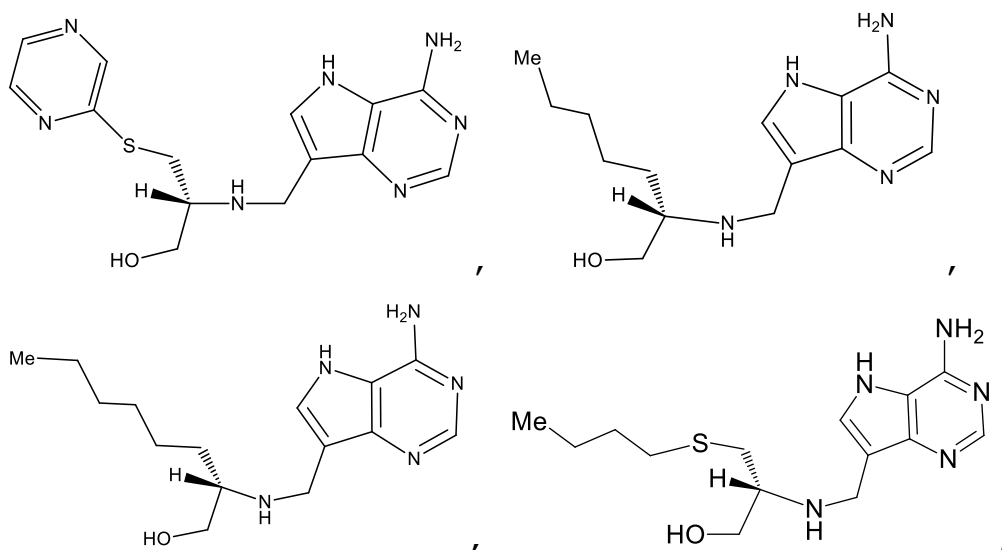
5. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo composto ser selecionado a partir do grupo que consiste em

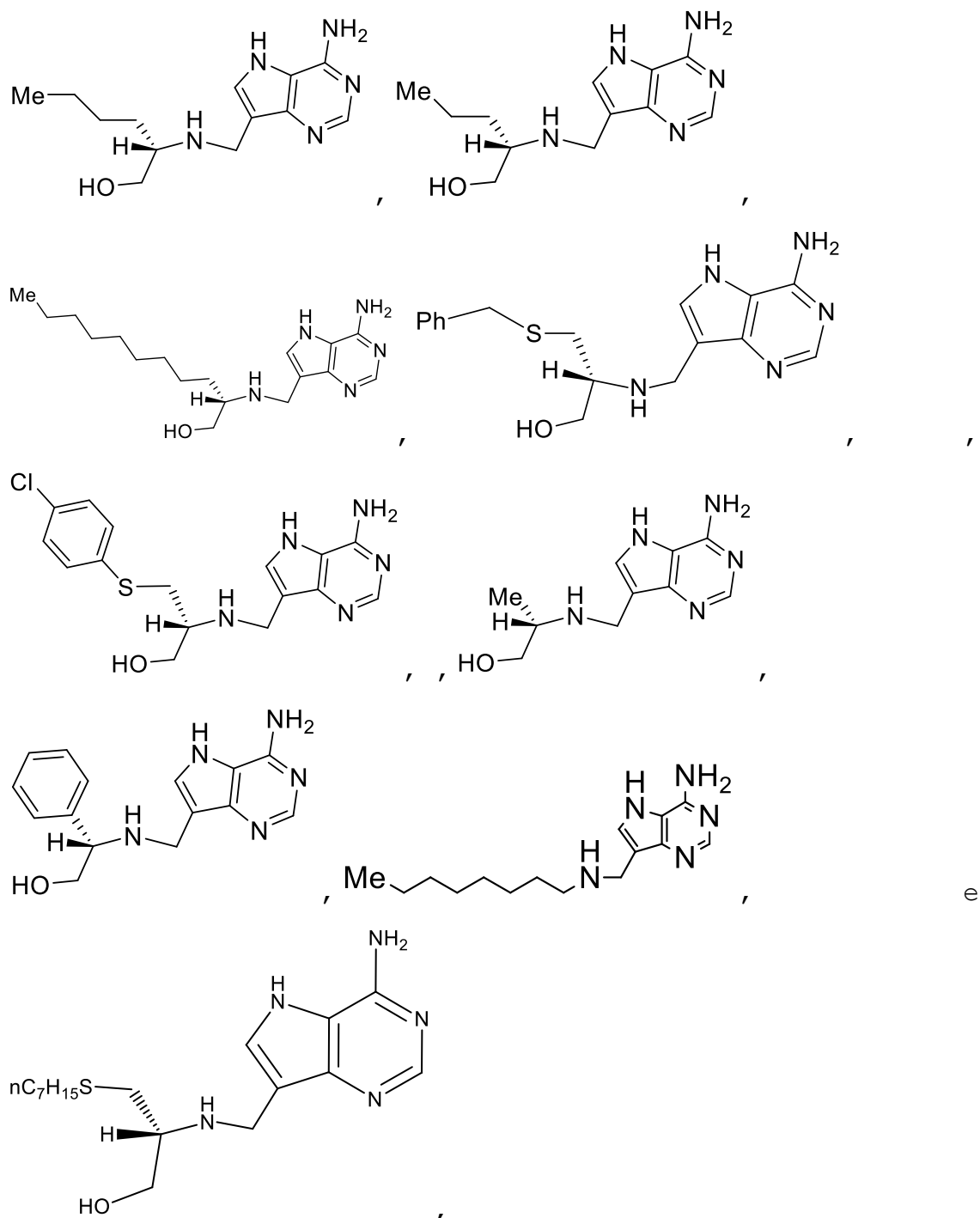




ou um sal farmacologicamente aceitável destes.

6. Uso de um composto **caracterizado** por ser na fabricação de um medicamento para tratar uma infecção por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) em um indivíduo, em uma quantidade efetiva para inibir o crescimento de *H. pylori*, em que o composto é selecionado a partir do grupo que consiste em





ou um sal farmacologicamente aceitável destes.

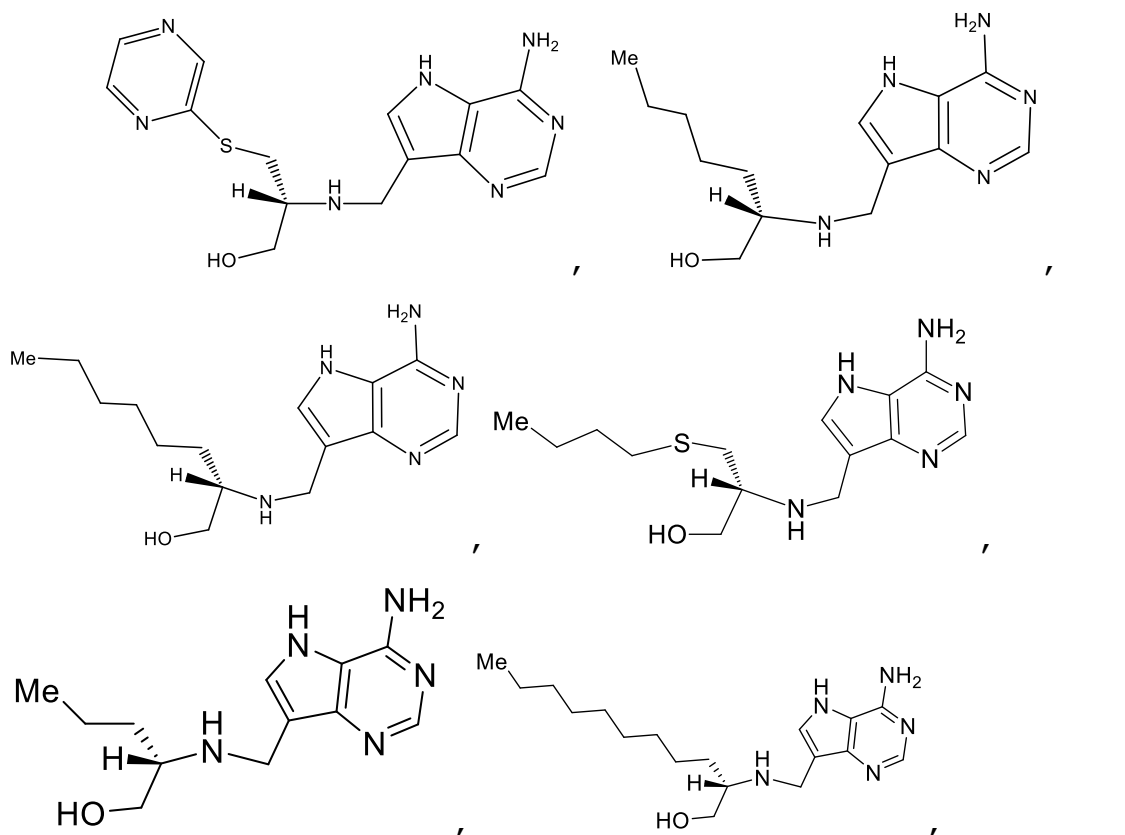
7. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo composto ser administrado em uma quantidade que é efetiva para inibir 5'-metiltioadenosina

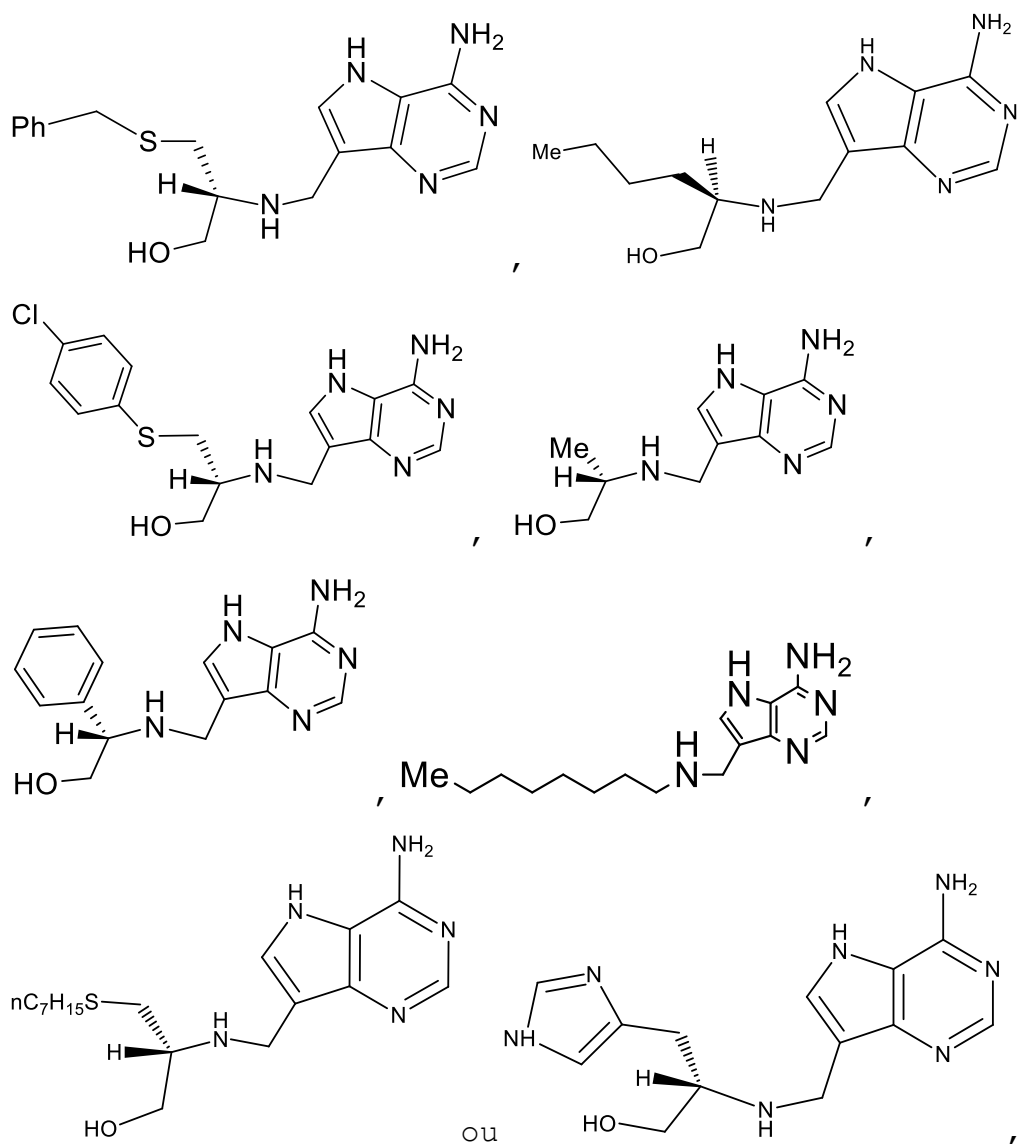
nucleosidase (MTAN) de *H. pylori*; e em que o composto inibe o crescimento de *H. pylori*, mas não inibe o crescimento de uma ou mais bactérias selecionadas a partir do grupo que consiste em *E. coli*, *V. cholerae*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. flexneri*, *S. enterica* e *P. aeruginosa*; e em que o composto é mais efetivo em inibir o crescimento de *H. pylori* do que amoxicilina, metronidazol ou tetraciclina.

8. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo indivíduo ter uma úlcera péptica, uma úlcera gástrica ou uma úlcera duodenal.

9. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo composto ser administrado de forma oral.

10. Composto **caracterizado** por possuir a estrutura





ou um sal farmacologicamente aceitável destes.

11. Composição farmacêutica caracterizada por compreender um composto, conforme definido na reivindicação 10, ou um sal farmaceuticamente aceitável deste, e um veículo farmaceuticamente aceitável.

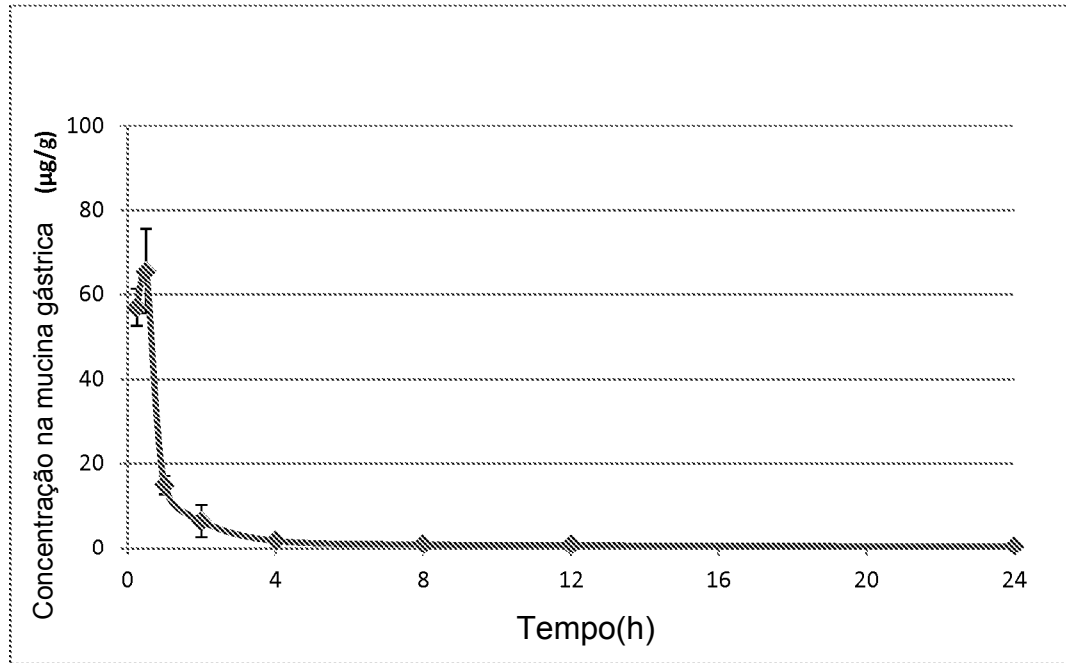


Fig. 1