

OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 362 805**

⑯ Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 33/02 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Número de solicitud europea: **07834863 .8**

⑯ Fecha de presentación : **07.09.2007**

⑯ Número de publicación de la solicitud: **2057165**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **13.05.2009**

④ Título: **Inhibidores aminoacíclicos de nucleósido fosforilasas e hidrolasas.**

⑯ Prioridad: **07.09.2006 US 842867 P**

⑦ Titular/es: **INDUSTRIAL RESEARCH LIMITED**
Gracefield Research Centre
69 Gracefield Road
Lower Hutt, NZ
Albert Einstein College of Medicine of Yeshiva
University

⑯ Fecha de publicación de la mención BOPI:
13.07.2011

⑦ Inventor/es: **Clinch, Keith;**
Evans, Gary Brian;
Furneaux, Richard Hubert;
Kelly, Peter Michael;
Schramm, Vern L.;
Tyler, Peter Charles;
Woolhouse, Anthony David y
Gulab, Shivali Ashwin

⑯ Fecha de la publicación del folleto de la patente:
13.07.2011

⑦ Agente: **Zea Checa, Bernabé**

ES 2 362 805 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

CAMPO TÉCNICO

5 [0001] Esta invención se refiere en general a ciertos análogos de nucleósidos, al uso de estos compuestos como productos farmacéuticos, a composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos, a procedimientos para preparar los compuestos y a usos de estos compuestos para tratar enfermedades o afecciones en las que es deseable inhibir purina nucleósido fosforilasas y nucleósido hidrolasas.

ANTECEDENTES

10 [0002] Los documentos US 5.985.848, US 6.066.722 y US 6.228.741 describen análogos de nucleósidos que son inhibidores de purina nucleósido fosforilasas (PNP) y purina fosforribosil-transferasas (PRT). Los análogos son útiles en el tratamiento de infecciones parasitarias, tumores malignos de células T, enfermedades autoinmunes y trastornos inflamatorios. Los análogos también son útiles para la inmunosupresión en el trasplante de órganos.

15 [0003] El documento US 6.693.193 describe un procedimiento para preparar ciertos compuestos inhibidores de PNP. Esta solicitud reconoce a los compuestos como inhibidores de PNP y aborda la necesidad de métodos más simples para prepararlos. El documento US 10/363.424 describe análogos de nucleósidos adicionales que son inhibidores de PNP y PRT.

[0004] Las PNP catalizan la escisión fosforolítica de ribo- y desoxirribonucleósidos, por ejemplo, los de guanina e hipoxantina, para dar el azúcar-1-fosfato correspondiente y guanina, hipoxantina u otras bases de purina.

20 [0005] Los seres humanos con deficiencia de PNP padecen una inmunodeficiencia de células T específica debido a una acumulación de dGTP que impide la proliferación de los linfocitos T estimulados. Por lo tanto, los inhibidores de PNP son inmunosupresores, y son activos contra tumores malignos de células T y trastornos proliferativos de células T.

25 [0006] Las nucleósido hidrolasas (NH) catalizan la hidrólisis de nucleósidos. Estas enzimas no se encuentran en mamíferos, pero son necesarias para el rescate de nucleósidos en algunos parásitos protozoarios. Algunos parásitos protozoarios usan nucleósido fosforilasas en lugar de, o además de nucleósido hidrolasas con este fin. Puede esperarse que los inhibidores de nucleósido hidrolasas y fosforilasas interfieran con el metabolismo del parásito y, por lo tanto, puedan emplearse provechosamente contra parásitos protozoarios.

30 [0007] La parte de imino-azúcar de los compuestos descritos en las memorias descriptivas de patentes mencionadas anteriormente tiene el átomo de nitrógeno localizado entre C-1 y C-4, para formar compuestos de 1,4-didesoxi-1,4-imino-D-ribitol. La localización del átomo de nitrógeno en el anillo de ribitol puede ser crítica para la unión a enzimas PNP y NH. Además, la localización del enlace entre el resto azúcar y el análogo de base de nucleósido puede ser crítica para la actividad inhibidora enzimática. Los compuestos descritos anteriormente tienen ese enlace en el C-1 del anillo de azúcar.

35 [0008] Los solicitantes también han desarrollado otros inhibidores de nucleósido fosforilasa, fosforribosiltransferasa e hidrolasa, en los que la localización del átomo de hidrógeno en el anillo de azúcar se varía y, además, en los que dos átomos de nitrógeno forman parte del anillo de azúcar. También se han investigado modos alternativos de unir la parte de azúcar y el análogo de base, dando como resultado una clase de inhibidores en los que el resto azúcar está unido al análogo de base de nucleósido mediante un puente de metileno. Estos otros inhibidores se describen en el documento US 10/395.636.

40 [0009] Se ha considerado hasta la fecha que la estructura tridimensional del anillo de imino-azúcar de los compuestos anteriores es crítica para la unión eficaz a PNP y NH y, por lo tanto, para la inhibición de estas enzimas. La estructura de anillo restringe las localizaciones espaciales que pueden adoptar grupos funcionales importantes, tales como el nitrógeno del imino y diversos grupos hidroxilo, cuando interaccionan con las enzimas. Estas restricciones estéricas se han considerado previamente necesarias para la unión de los compuestos en el sitio activo de las enzimas. En ausencia de dichas restricciones estéricas, no se esperaría que los compuestos fueran agentes de unión competentes con los sitios activos de las enzimas y, por consiguiente, no serían inhibidores eficaces de las enzimas.

45 [0010] La visión de que el anillo de imino-azúcar es importante para una inhibición enzimática efectiva se refuerza en J. Biol. Chem., 2005, 280, 30320-30328, que describe una investigación de interacciones de análogos de estado de transición con PNP humana y de *Plasmodium falciparum*. Se describen actividades de inhibición frente a estas PNP para diversos análogos de nucleósidos. La estructura de la gran mayoría de los análogos contiene un anillo de imino-azúcar. Se describen dos compuestos en los que el anillo está, en efecto, abierto para dar sustituyentes de hidroxietilo e hidroxipropilo en el nitrógeno del amino.

50 [0011] El documento J. Med. Chem., 2006, 49, 6037-6045 también describe varios compuestos inhibidores de PNP, algunos de los cuales comprenden un resto de anillo de imino-azúcar, y algunos de los cuales tienen un grupo N-hidroxietil amino acíclico. Se considera que esos compuestos que muestran actividad de inhibición de PNP tienen

sólo una potencia moderada (constantes de inhibición a nivel micromolar o nanomolar).

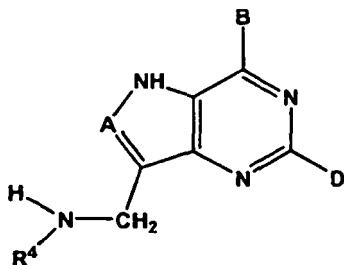
[0012] Aunque hay cierto entendimiento de las características estructurales de los compuestos necesarias para la unión a enzimas PNP y para la actividad de inhibición, continúa siendo difícil predecir con seguridad si un compuesto será un inhibidor débil o potente, o incluso un inhibidor en absoluto, hasta que el compuesto se sintetice y se ensaye en los ensayos apropiados. Los compuestos de anillo de imino-azúcar abierto descritos en las publicaciones *J. Biol. Chem* y *J. Med. Chem* mencionadas anteriormente son demasiado pocos y estructuralmente dispares para servir como predictores de un clase general de inhibidores aminoacíclicos de PNP.

[0013] Los solicitantes han descubierto ahora sorprendentemente que ciertos compuestos análogos a los compuestos descritos anteriormente, que tienen un grupo amina acíclica en lugar de un anillo imino, son inhibidores eficaces de las PNP humana y de *Plasmodium falciparum*.

[0014] Por lo tanto, un objeto de la presente invención es proporcionar compuestos aminoacíclicos que sean inhibidores de PNP o NH, o al menos proporcionar una selección útil.

DECLARACIONES DE LA INVENCIÓN

[0015] Por consiguiente, en un primer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I):



(I)

15

en la que:

R⁴ es dihidroxipropilo, dihidroxibutilo, trihidroxibutilo, dihidroxipentilo o trihidroxipentilo;

A es N o CH;

B es OH o alcoxi; y

20 D es H, OH, NH₂ o SCH₃;

o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una forma profármaco de éster del mismo.

[0016] Preferentemente A es CH. Como alternativa, A may be N.

[0017] También se prefiere que B sea OH.

25 **[0018]** Se prefiere adicionalmente que D sea H o NH₂. Como alternativa, D puede ser preferentemente OH o SCH₃.

[0019] Los compuestos que se incluyen en la reivindicación 1 incluyen:

(2R*,3S*)-3-((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)butano-1,2,4-triol;

clorhidrato de (R)3-((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)-propano-1,2-diol;

30 clorhidrato de (2R,3R)-3-((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)butano-1,2,4-triol;

2-amino-7-((2,4-dihidroxibutilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona;

7-((2,4-dihidroxibutilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona;

2-amino-7-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona;

7-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 2-amino-7-((3-hidroxi-2-(hidroximetil)propilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 7-((3-hidroxi-2-(hidroximetil)propilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 7-(((2R,3R)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(51-1)-ona;
 5 7-(((2S,3S)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 7-(((2R,3S)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 7-(((2S,3R)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 2-amino-7-(((2R,3R)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 2-amino-7-(((2S,3S)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 10 2-amino-7-(((2R,3S)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 2-amino-7-(((2S,3R)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 5-amino-3-(((2R,3R)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;
 5-amino-3-(((2S,3S)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;
 15 5-amino-3-(((2R,3S)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;
 7-((1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-ilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 2-amino-7-((1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-ilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 3-((1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-ilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;
 20 7-((3-hidroxi-2-(hidroximetil)propilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 2-amino-7-((3-hidroxi-2-(hidroximetil)propilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 3-((3-hidroxi-2-(hidroximetil)propilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;
 3-((1,3-dihidroxipropan-2-ilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;
 25 7-((2R,3R)-2,3,4-trihidroxibutilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 7-(((2S,3S)-2,3,4-trihidroxibutilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 2-amino-7-(((2R,3R)-2,3,4-trihidroxibutilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 2-amino-7-(((2S,3S)-2,3,4-trihidroxibutilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 2-amino-7-(((2R,35)-2,3,4-trihidroxibutilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 30 2-amino-7-(((2S,3R)-2,3,4-trihidroxibutilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 5-amino-3-(((2R,3R)-2,3,4-trihidroxibutilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;
 5-amino-3-(((2S,3S)-2,3,4-trihidroxibutilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;
 5-amino-3-(((2R,3S)-2,3,4-trihidroxibutilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;
 35 5-amino-3-(((2S,3R)-2,3,4-trihidroxibutilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;
 (R)-3-((2,3-dihidroxipropilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;
 (S)-3-((2,3-dihidroxipropilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;
 (2R,3R)-7-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;

(2S,3S)-7-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 (2R,3S)-7-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 (2S,3R)-7-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 (2R,3R)2-amino-7-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 5 (2S,3S)-2-amino-7-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 (2R,3S)-2-amino-7-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 (2S,3R)-2-amino-7-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona;
 (2R,3R)-5-amino-3-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;
 (2S,3S)-5-amino-3-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;
 10 (2R,3S)-5-amino-3-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;
 (2S,3R)-5-amino-3-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-1H-pirazolo[4,3-*d*]pirimidin-7(6H)-ona;

[0020] Los compuestos preferidos de la invención también incluyen cada uno de los compuestos que se han identificado anteriormente, en los que el resto 4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-7-ilo (9-deazahipoxantin-9-ilo) se reemplaza por un resto 2-amino-7-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona-7-ilo (9-deazaguanin-9-ilo) o un resto (8-aza-9-deazahipoxantin-9-ilo).

[0021] En un segundo aspecto de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I).

[0022] En otro aspecto de la invención se proporciona un compuesto de fórmula (I) para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad o condición en la que es deseable inhibir una purina nucleósido fosforilasa o una nucleósido hidrolasa, comprendiendo dicho método administrar una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) a un paciente que requiere tratamiento.

[0023] Las enfermedades o afecciones incluyen cáncer, infecciones bacterianas o protozoarias y enfermedades o afecciones mediadas por linfocitos T, tales como psoriasis, artritis y rechazo a trasplante.

[0024] La purina nucleósido fosforilasa es preferentemente purina nucleósido fosforilasa humana (Hs PNP), pero puede ser cualquier otra purina nucleósido fosforilasa incluyendo la purina nucleósido fosforilasa procedente del parásito protozoario *Plasmodium falciparum* (Pf PNP).

[0025] En un aspecto más de la invención se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una o más de estas enfermedades o afecciones.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

30 *Definiciones*

[0026] El término "alquilo" se refiere a cualquier radical hidrocarburo saturado que tiene hasta 30 átomos de carbono e incluye cualquier grupo alquilo C₁-C₂₅, C₁-C₂₀, C₁-C₁₅, C₁-C₁₀ o C₁-C₆, y pretende incluir grupos alquilo tanto de cadena lineal como de cadena ramificada. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen: grupo metilo, grupo etilo, grupo *n*-propilo, grupo *iso*-propilo, grupo *n*-butilo, grupo *iso*-butilo, grupo sec-butilo, grupo *t*-butilo, grupo *n*-pentilo, grupo 1,1-dimetilpropilo, grupo 1,2-dimetilpropilo, grupo 2,2-dimetilpropilo, grupo 1-etylpropilo, grupo 2-etylpropilo, grupo *n*-hexilo y grupo 1-metil-2-etylpropilo.

[0027] El término "alcoxi" se refiere a un grupo hidroxi con el hidrógeno reemplazado por un grupo alquilo.

[0028] El término "profármaco", como se usa en la presente memoria se refiere a un derivado farmacológicamente aceptable del compuesto de fórmula (I), de tal forma que una biotransformación *in vivo* del derivado da el compuesto que se define en la fórmula (I). Los profármacos de compuestos de fórmula (I) pueden prepararse modificando los grupos funcionales presentes en los compuestos de tal modo que las modificaciones se escindan *in vivo* para dar el precursor.

[0029] El término "sales farmacéuticamente aceptables" pretende aplicarse a sales no tóxicas obtenidas a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos, incluyendo, por ejemplo, las siguientes sales de ácidos: acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, canforato, canforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecil-sulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, glicolato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato,

palmoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, p-toluenosulfonato, salicilato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato y undecanoato.

[0030] El término "paciente" incluye animales humanos y no humanos.

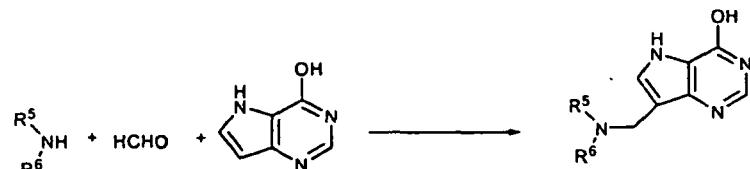
Descripción de Compuestos Inhibidores

5 **[0031]** Los compuestos aminoacíclicos de la invención sorprendentemente son potentes inhibidores de PNP. En base a su conocimiento particular de la enzima PNP, y las actividades inhibidoras enzimáticas de los compuestos del anillo imino, los solicitantes no habían predicho que los compuestos aminoacíclicos serían potentes inhibidores de PNP. Anteriormente se consideraba que una amina acíclica no impedida estéricamente, en lugar de un anillo imino, habría convertido los compuestos en mucho menos potentes. Sin embargo, los compuestos de la invención han resultado ser inhibidores de PNP humana sorprendentemente potentes. De hecho, un compuesto de la invención (Compuesto 17.3) que tiene un K_i^* para la PNP humana de $8,5 \pm 0,6$ pM, una potencia suficiente para tener potencial terapéutico, está disponible por vía oral. Este potente inhibidor de "tercera generación", al igual que los compuestos de partida de DADMe-Inmucilina-H y Inmucilina-H, tiene valores K_d en el intervalo picomolar para su unión a HsPNP. Un elemento estructural común de los inhibidores picomolares para HsPNP es un N secundario y tres grupos hidroxilo. Se espera que la flexibilidad geométrica de los grupos amino alcohol acíclicos unidos individualmente permita colocar estos tres grupos hidroxilo en el sitio catalítico de manera que se correspondan con los encontrados para DADMe-Inmucilina-H y Inmucilina-H.

Síntesis de Compuestos Inhibidores

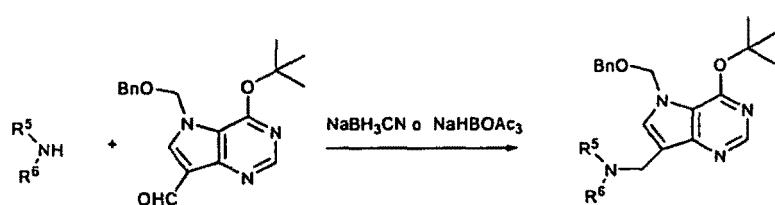
20 **[0032]** Los compuestos de la invención pueden prepararse mediante una diversidad de métodos diferentes. Los siguientes son ejemplos no limitantes representativos.

25 **[0033]** Los compuestos pueden prepararse haciendo reaccionar una amina NHR^5R^6 (en la que R^5 y R^6 pueden ser H y R^4 o versiones protegidas de los mismos) con un aldehído (por ejemplo, formaldehído) y una 9-deazapurina (por ejemplo, 9-deazahipoxantina) en una reacción de Mannich como se muestra en el Esquema 1. La reacción de Mannich se sigue de desprotección, cuando sea necesario.



Esquema 1

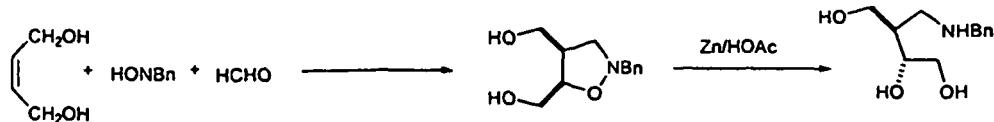
30 **[0034]** Como alternativa, la aminación reductora de un aldehído con la amina NHR^5R^6 (como se muestra en el Esquema 2) puede realizarse usando reactivos, tales como, pero sin limitación, NaBH_3CN o NaAcO_3BH . Siguen etapas de desprotección apropiadas. Se conocen aldehídos protegidos adecuados (por ejemplo, J. Org. Chem. 2004, 69, 2217-2220).



Esquema 2

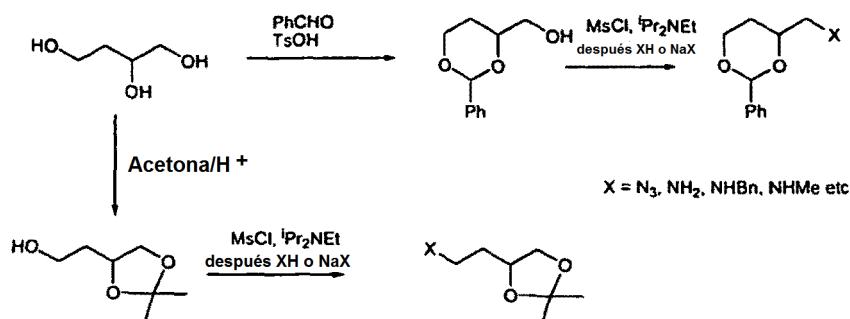
[0035] Las aminas NHR^5R^6 que se han descrito anteriormente pueden prepararse por varios métodos. Los siguientes son ejemplos no limitantes representativos.

35 • Cicloadición de but-2-eno-1,4-diol con una nitrona obtenida a partir de N-bencilhidroxilamina y formaldehído (Esquema 3) seguido de reducción de cinc para dar una amina que puede estar adicionalmente funcionalizada para proporcionar compuestos de la invención.



Esquema 3

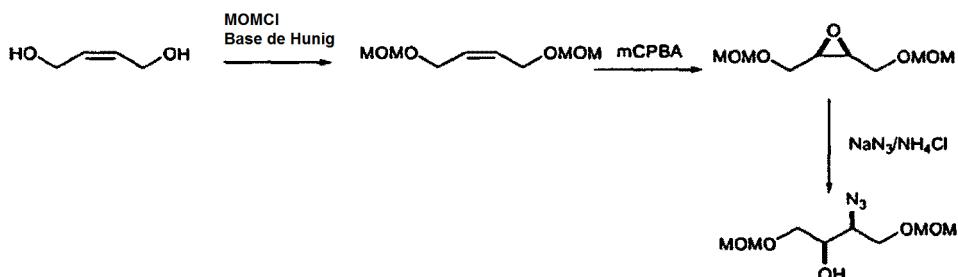
5 • Conversión de butano 1,2,4-triol en el 2,4-O-bencilideno o los derivados de 1,2-O-isopropilideno (Esquema 4). Después, estos compuestos pueden convertirse en aminas que pueden estar adicionalmente funcionalizadas en compuestos de la invención mediante la activación del grupo hidroxi primario, y el desplazamiento y manipulación apropiada de los grupos protectores.



Esquema 4

10 • Los compuestos, tales como (R)- o (S)-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanol pueden convertirse en aminas usando la química descrita en el Esquema 4 y después las aminas pueden convertirse en los compuestos de la invención.

• El but-2-eno 1,4-diol puede estar protegido, epoxidado y con el anillo abierto como se muestra en el Esquema 6 para dar precursores a aminas que después puedan convertirse en compuestos de la invención.



15

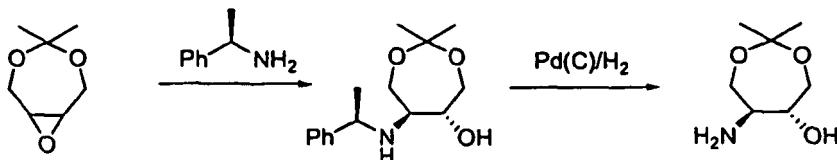
Esquema 5

20 • El tartrato D- y L-dietilo puede convertirse en aminas quirales como se muestra en el Esquema 6 (A. Breuning, R. Vicik y T. Schirmeister, Tetrahedron Asymm., 2003, 14, 3301 y Z. Tang, Z.-H. Yang, X.-H. Chen, L.-F. Cun, A.-Q. Mi, Y.-Z. Jiang y L.-Z. Gong, J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 9285) a partir de los cuales pueden obtenerse otras aminas útiles.



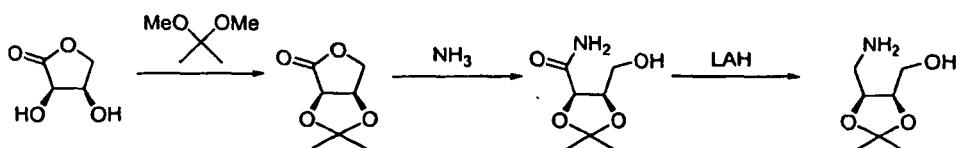
Esquema 6

• La reacción de 4,4-dimetil-3,5,8-trioxabiciclo[5.1.0]octano con un enantiómero de α -metilbencilamina (J. Org. Chem. 1998, 63, 7582-7583) da mezclas diastereoméricas de amino alcoholes (Esquema 7). La cristalización del diastereómero deseado seguido de hidrogenólisis proporciona acceso al amino alcohol enantioméricamente puro.



Esquema 7

• Pueden tratarse diversas lactonas y ésteres protegidos con amoníaco para dar amido alcoholes, que pueden convertirse en los amino alcoholes correspondientes en tratamiento con hidruro de litio y aluminio (Esquema 8).



Esquema 8

Aspectos Generales

[0036] Los compuestos de la invención son útiles tanto en forma de base libre como en forma de sales.

[0037] Se apreciará que los compuestos de la invención incluyen todos los isómeros ópticos y estereoisómeros de la fórmula (I).

[0038] También se apreciará que la representación de un compuesto de fórmula (I), en la que B y/o D es un grupo hidroxi, es de la forma tautomérica de tipo enol de una amida correspondiente, y este existirá en gran medida en forma de amida. El uso de la representación tautomérica de tipo enol es simplemente para permitir a las fórmulas menos estructurales representar los compuestos de la invención.

20 [0039] Los compuestos activos pueden administrarse a un paciente por una diversidad de vías, incluyendo por vía oral, parenteral, mediante un pulverizador de inhalación, tópica, rectal, nasal, bucal o a través de un depósito implantado. La cantidad de compuesto que se va a administrar variará ampliamente de acuerdo con la naturaleza del paciente y la naturaleza y extensión del trastorno que se va a tratar.

25 Típicamente, la dosis para un ser humano adulto estará en el intervalo de menos de 1 a 1000 miligramos, preferentemente de 0,1 a 100 miligramos. La dosis específica requerida para cualquier paciente en particular dependerá de una diversidad de factores, incluyendo la edad del paciente, el peso corporal, su salud general, sexo, etc. Para la administración oral, los compuestos pueden formularse en preparaciones sólidas o líquidas, por ejemplo comprimidos, cápsulas, polvos, soluciones, suspensiones y dispersiones. Dichas preparaciones se conocen bien en la técnica al igual que otros regímenes de dosificación no enumerados en la presente memoria. En la forma de comprimidos, los compuestos pueden comprimirse por compresión con bases de comprimidos convencionales, tales como lactosa, sacarosa y almidón de maíz, junto con un aglutinante, un agente disgregante y un lubricante. El aglutinante puede ser, por ejemplo, almidón de maíz o gelatina, el agente disgregante puede ser almidón de patata o ácido algínico, y el lubricante puede ser estearato de magnesio. Para la administración oral en forma de cápsulas, pueden emplearse diluyentes, tales como lactosa y almidón de maíz seco. Pueden añadirse otros componentes, tales como colorantes, edulcorantes o saporíferos.

30 [0040] Cuando se necesitan suspensiones acuosas para su uso oral, el ingrediente activo puede combinarse con vehículos, tales como agua y etanol, y pueden usarse agentes emulsionantes, agentes de suspensión y/o tensioactivos. También pueden añadirse colorantes, edulcorantes o aromatizantes.

35 [0041] Los compuestos también pueden administrarse por inyección en un diluyente fisiológicamente aceptable, tal como agua o solución salina. El diluyente puede comprender uno o más ingredientes distintos, tales como etanol, propilenglicol, un aceite o un tensioactivo farmacológicamente aceptable.

40 [0042] Los compuestos también pueden administrarse por vía tópica. Los vehículos para la administración tópica de los compuestos incluyen aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, compuestos de propilenglicol,

polioxietileno, polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Los compuestos pueden estar presentes como ingredientes en lociones o cremas, para su administración tópica a la piel o las membranas mucosas. Dichas cremas pueden contener los compuestos activos suspendidos o disueltos en uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Los vehículos adecuados incluyen aceite mineral, monoestearato de sorbitán, polisorbato 60, cerca de éster cetílico, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

5

[0043] Los compuestos pueden administrarse adicionalmente por medio de sistemas de liberación sostenida. Por ejemplo, pueden incorporarse en un comprimido o cápsula de disolución lenta.

EJEMPLOS

10 **[0044]** Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la invención. Se ha de apreciar que la invención no se limita a los ejemplos.

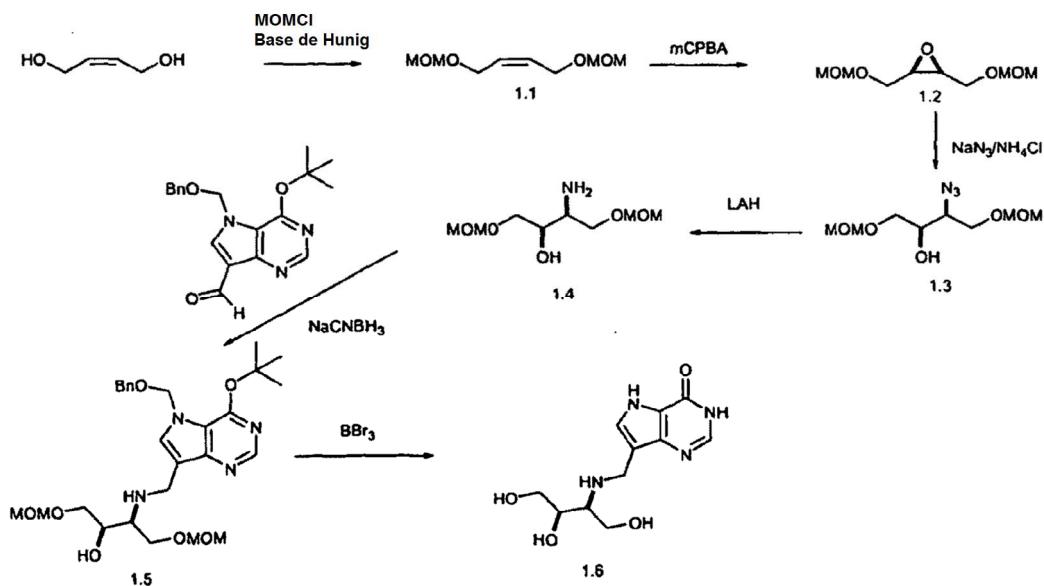
Métodos Generales

15 **[0045]** Los disolventes anhidros se obtuvieron en el mercado. Las reacciones sensibles al aire se realizaron en una atmósfera de argón. Las soluciones orgánicas se secaron sobre $MgSO_4$ y los disolventes se evaporaron a presión reducida. Los disolventes para cromatografía se destilaron antes de su uso. La cromatografía de capa fina (t.l.c.) se realizó sobre láminas de vidrio o aluminio recubiertas con sílice 60 F₂₅₄. Los compuestos orgánicos se visualizaron bajo la luz UV o mediante el uso de un baño de sulfato de cerio (IV) (0,2%, p/v) y molibdato de amonio (5%) en ácido sulfúrico (2 M), uno de I_2 (0,2%) y KI (7%) en H_2SO_4 (M), o ninhidrina al 0,1% en EtOH. La cromatografía ultrarrápida en columna se realizó sobre gel de sílice Scharlau o Merck 60 (40-60 μm). Las rotaciones ópticas se registraron en un polarímetro Perkin-Elmer 241 con una longitud de trayectoria de 1 dm y estaban en unidades de $10^{-1} \text{ deg cm}^2 \text{ g}^{-1}$; las concentraciones estaban en g/100 ml. Los espectros de RMN se registraron en un Bruker AC300E. A menos que se indique otra cosa, los espectros de 1H a 300 MHz se midieron en $CDCl_3$, CD_3OD (referencia interna Me_4Si , δ 0) o D_2O (sin referencia interna), y los espectros de ^{13}C a 75,5 MHz en $CDCl_3$ (referencia, línea central de disolvente, δ 77,4), CD_3OD (referencia, línea central de disolvente δ 49,5) o D_2O (sin referencia interna). Los espectros de masas por electronebulización positiva se registraron en un espectrómetro de masas en tandem Waters Q-TOF Premier.

20

Ejemplo 1 - Síntesis de (2R*,3S*)-3-((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)butano-1,2,4-triol

25 **[0046]**



Ejemplo 1.1 - Síntesis de 1,4-bis-metoximatoxi-cis-but-2-eno

30

[0047] Este compuesto se preparó de acuerdo con el método descrito en C. Saluzzo, A-M. La Spina, D. Picq, G. Alvernhe, D. Anker, D. Wolf y G. Haufe, Bull. Chim. Soc. Fr., 1994, 131, 831-843.

Ejemplo 1.2 - Síntesis de meso-2,3-bis((metoximatoxi)metil)oxirano

35

[0048] A una solución agitada del producto del Ejemplo 1.1 (3,66 g, 20,8 mmol) en DCM (40 ml) se le añadió en porciones ácido m-cloroperbenzoico (57%, 7,55 g, 24,9 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se evaporó, se repartió entre éter y bicarbonato sódico acuoso saturado, la capa etérea se secó ($MgSO_4$) y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre

sílice, eluyendo con acetato de etilo al 17% en éter de petróleo, dando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (1,88 g, 47%). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) 3,26 (2H, m), 3,39 (6H, s), 3,65 (2H, m), 3,75 (2H, dd, $J = 4,3, 11,6$ Hz), 4,67 (4H, ABC).

Ejemplo 1.3 - Síntesis de *rac*-(6*R*,7*S*)-7-azido-2,4,9,11-tetraoxadodecan-6-ol

5 [0049] El producto del Ejemplo 1.2 (1,88 g, 9,77 mmol), cloruro de amonio (1,83 g, 34,2 mmol) y azida sódica (2,22 g, 34,2 mmol) se calentaron en dimetilformamida (15 ml) a 110 °C durante 5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua (5 x), se secó (MgSO_4) y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con 2:1 de petróleo:acetato de etilo, dando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (786 mg, 34%). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) 2,77 (1H, s a), 3,39 (3H, s), 3,40 (3H, s), 3,64 (3H, m), 3,80 (2H, m), 3,91 (1H, m), 4,67 (2H, m), 4,68 (2H, m); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) 55,9, 62,8, 68,1, 70,1, 70,8, 97,1, 97,5.

Ejemplo 1.4- Síntesis de (6*RS*,7*SR*)-7-amino-2,4,9,11-tetraoxadodecan-6-ol

15 [0050] A una solución agitada del producto del Ejemplo 1.3 (392 mg, 1,67 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) se le añadió gota a gota hidruro de litio y aluminio (1,0 M en éter, 3,33 ml). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se repartió entre bicarbonato sódico acuoso y acetato de etilo y la capa acuosa se evaporó. El residuo se trituró con acetato de etilo caliente (4 x) y la solución se evaporó para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (261 mg, 75%). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) 3,07 (1H, m), 3,38 (3H, s), 3,38 (3H, s), 3,53 (1H, dd, $J = 6,8, 9,7$ Hz), 3,67 (5H, m), 4,64 (2H, s), 4,66 (2H, s); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) 52,7, 55,7, 55,7, 70,7, 70,9, 70,9, 97,1, 97,3.

20 **Ejemplo 1.5 - Síntesis de (6*RS*,7*SR*)-7-((5-(benciloximetil)-4-terc-butoxi-5*H*-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-7-il)metilamino)-2,4,9,11-tetraoxadodecan-6-ol**

25 [0051] El producto del Ejemplo 1.4 (151 mg, 0,722 mmol) y aldehído (G.B. Evans et al., J. Med. Chem. 2005, 48, 4679-4689) (204 mg, 0,601 mmol) se evaporaron tres veces en metanol (10 ml) antes de la adición de metanol (10 ml), ácido acético (5 gotas) y cianoborohidruro sódico (76 mg, 1,20 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas y se evaporó sobre sílice. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con 95:5 de diclorometano:metanol (más trietilamina al 1%), dando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (319 mg, 100%). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) 1,69 (9H, s), 2,93 (1H, m), 3,35 (3H, s), 3,36 (3H, s), 3,62 (2H, m), 3,75 (3H, m), 3,98 (1H, d, J Hz), 4,18 (1H, d, J Hz), 4,47 (2H, s), 4,62 (2H, s), 4,65 (2H, s), 5,73 (2H, s), 7,29 (6H, m), 8,46 (1H, s).

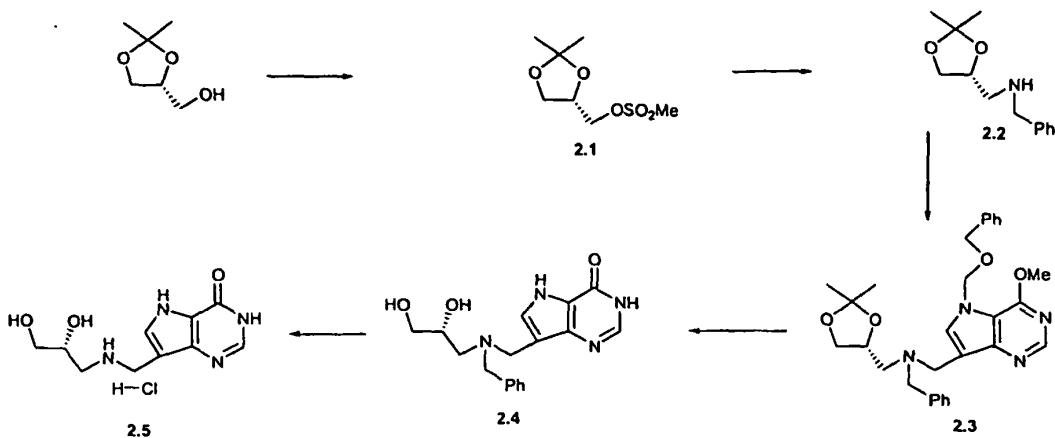
30 **Ejemplo 1.6 - Síntesis de 7-(((2*RS*,3*SR*)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-3*H*-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5*H*)-ona**

35 [0052] El producto del Ejemplo 1.5 (104 mg, 0,195 mmol) se agitó en DCM (10 ml) a -78 °C y se añadió gota a gota tribromuro de boro (1,0 M en DCM, 1,95 ml). La reacción se agitó a -78 °C durante 45 minutos antes de la adición de metanol (10 ml). Los disolventes se evaporaron y el residuo se co-evaporó con metanol (2 x). El residuo se repartió entre agua y DCM y la capa acuosa se evaporó. El residuo se agitó en amoniaco metanólico durante 10 minutos, después se evaporó sobre sílice y se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con 5:4,5:0,5 de DCM:metanol:amoniaco, dando el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (27 mg, 52%). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) 2,76 (1H, c, $J = 5,2$ Hz), 3,48 (1H, dd, $J = 6,3, 11,9$ Hz), 3,60 (2H, m), 3,70 (2H, m), 3,85 (2H, ABC), 7,34 (1H, s), 7,78 (1H, s); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) 40,2, 59,8, 59,8, 63,5, 71,2, 113,1, 117,5, 129,2, 142,4, 143,5, 155,4; m/z (ESI+) 537 (2MH+, 20%). 269 (MH+, 100%); HRMS (ESI+) $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_4$ requiere 269,1241, observado 269,1250. El producto, compuesto 1.6, es una mezcla 1:1 de los enantiómeros de los Ejemplos 17 y 18 que se muestran a continuación.

[0053]

Ejemplo 2 - Síntesis de clorhidrato de (R)-7-((2,3-dihidroxipropilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

[0054]



5 **Ejemplo 2.1 - Síntesis de metanosulfonato de (S)-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metilo**

[0055] El compuesto del título se preparó a partir de (R)-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanol (Sigma-Aldrich, 99% de ee) mediante un procedimiento bibliográfico conocido (H.S. Kim, D. Barak, T.K. Harden, J.L. Boyer and K.A. Jacobson, *J. Med. Chem.*, 2001, 44, 3092). ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz), δ ppm, 4,37 (m, 1H), 4,23 (d, 2H, *J* = 5,3 Hz), 4,11 (dd, 1H, *J* = 8,7, 6,5 Hz), 3,83 (dd, 1H, *J* = 8,7, 5,4 Hz), 3,07 (s, 3H), 1,45 (s, 3H), 1,37 (s, 3H). ¹³C RMN (CDCl₃, 75,5 MHz), δ ppm, 110,2, 73,2, 69,2, 65,8, 37,6, 31,5, 26,6, 25,1. [α]_D²⁵ +3,1 (c, 0,72, CHCl₃).

10 **Ejemplo 2.2 - Síntesis de (R)-N-bencil-1-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanamina**

[0056] El compuesto del título se preparó de la misma manera que el método descrito para preparar el enantiómero (S) (M. Lemaire, F. Posada, J.-G. Gourcy y G. Jeminet, *Synlett*, 1995, 627). Una solución de metanosulfonato de (S)-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metilo (3,0 g, 14,27 mmol) y bencilamina (6,23 ml, 57,1 mmol) se calentó a reflujo junto con CH₃CN (38 ml) durante 48 h. El análisis por TLC (8:2 de EtOAc-hex) mostró un nuevo producto (uv/molibdato o ninhidrina) con R_f -0,3 junto con un material de partida más procesado. El disolvente se evaporó, el residuo se disolvió en EtOAc, se lavó con NaHCO₃ acuoso sat., secó y el disolvente se evaporó. El residuo se sometió a cromatografía (EtOAc-hex, 6:4 y después 8:2) para dar (R)-N-bencil-1-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanamina (2,56 g, 11,57 mmol, rendimiento del 81%) en forma de un aceite de color amarillo. [α]_D²¹ -3,7 (c, 0,885, CHCl₃). ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz), δ ppm, 7,32-7,20 (m, 5H), 4,25, (m, 1H), 4,03 (dd, 1H, *J* = 8,0, 6,4 Hz), 3,82 (s, 2H), 3,68 (dd, 1H, *J* = 8,0, 6,8 Hz), 2,74 (d, 2H, *J* = 5,7 Hz), 1,40 (s, 3H), 1,35 (s, 3H). ¹³C RMN (CDCl₃, 75,5 MHz), δ ppm, 140,6, 128,8, 128,4, 127,3, 109,5, 75,8, 67,9, 54,4, 52,1, 27,3, 25,8.

Ejemplo 2.3-(R)-N-bencil-1-(5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)-N-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)metanamina

[0057] A una solución de (R)-N-bencil-1-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanamina (0,372 g, 1,682 mmol) y 5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidina-7-carbaldehído (0,5 g, 1,682 mmol) en 1,2-dicloroetano (30 ml) se le añadieron triacetoxiborohidruro sódico (0,463 g, 2,186 mmol) y MgSO₄ anhídrico (1 g). La mezcla se agitó durante 6 h. El análisis por TLC (EtOAc-hexanos, 8:2) mostró la reacción básicamente terminada. Después de la disolución con CH₂Cl₂, la mezcla se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera, se secó y el disolvente se evaporó. El residuo se sometió a cromatografía (EtOAc-hex, 1:1, uv y molibdato) para dar (R)-N-bencil-1-(5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)-N-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)metanamina (0,631 g, 1,255 mmol, rendimiento del 74,7%) en forma de una goma incolora. [α]_D²¹ -21,9 (c, 0,905, MeOH). ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz), δ ppm, 8,55 (s, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,37-7,18 (m, 10H), 5,73 (s, 2H), 4,46 (s, 2H), 4,38-4,29 (m, 1H), 4,10, (s, 3H), 4,05-3,98 (m, 2H), 3,79 (d, 1H, *J* = 13,9 Hz), 3,63 (d, 1H, *J* = 13,9 Hz), 3,53, (t, 1H, *J* = 7,9 Hz), 2,73 (dd, 1H, *J* = 13,3, 5,9 Hz), 2,64 (dd, 1H, *J* = 13,3, 5,9 Hz), 1,32 (s, 6H). ¹³C RMN (CDCl₃, 75,5 MHz), δ ppm, 156,2 (C), 150,7 (C), 150,0 (CH), 139,6 (C), 136,9 (C), 132,2 (CH), 128,8 (CH), 128,4 (CH), 128,2 (CH), 128,0 (CH), 127,7 (CH), 126,9 (CH), 115,7 (C), 114,7(C), 109,0 (C), 77,0 (CH₂), 74,7 (CH₂), 70,1 (CH₂), 68,4 (CH₂), 59,2 (CH₂), 56,2 (CH₂) 53,5 (CH₃), 47,8 (CH₂), 26,8 (CH₃), 25,6 (CH₃). +ESMS Observado 503,2643 (M+H)⁺ C₂₉H₃₅N₄O₄ requiere 503,2658.

Ejemplo 2.4-(R)-7-((bencil(2,3-dihidroxipropil)amino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

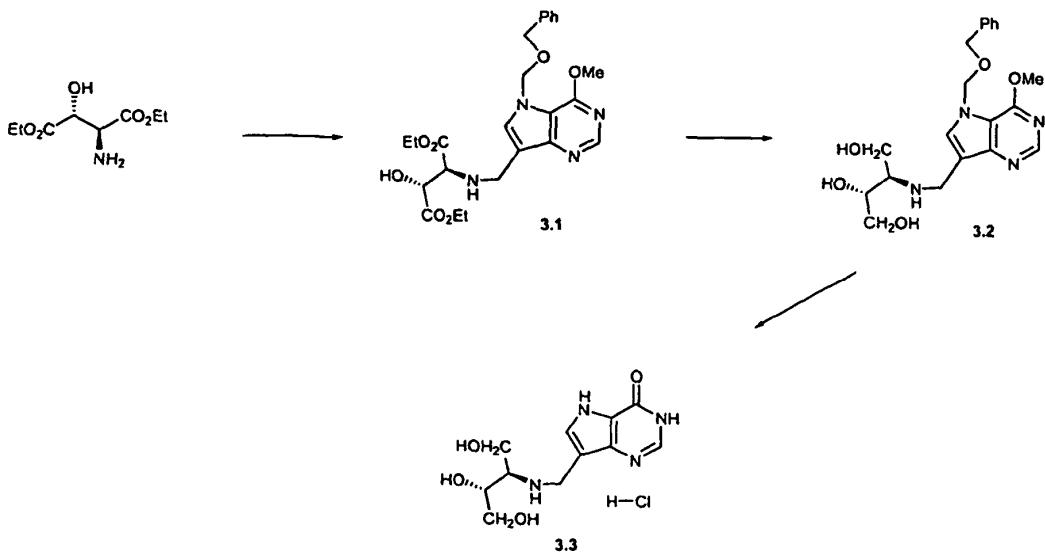
[0058] Se calentó (R)-N-bencil-1-(5-(bencilogoximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)-N-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)metanamina (0,6 g, 1,194 mmol) se calentó a 100 °C en HCl (15 ml, 37%) durante 3 h. El análisis por TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-NH}_3$ 6 M en MeOH, 9:1) mostró la reacción terminada. El disolvente se evaporó, el residuo se disolvió en MeOH, se neutralizó con resina Amberlyst A21, se filtró y el disolvente se evaporó. El residuo se sometió a cromatografía ($\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-NH}_3$ 6 M en MeOH, 9:1 y después 85:15) para dar (R)-3-(bencil((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metil)amino)propano-1,2-diol (0,36 g, 1,096 mmol, rendimiento del 92%) en forma de un sólido incoloro, $[\alpha]_D^{22} +13,0$ (c 0,715, MeOH). ^1H RMN (CD_3OD , 300 MHz), δ ppm, 7,90 (s, 1H), 7,37 (s, 1H), 7,31-7,16 (m, 5H), 3,97-3,78 (m, 3H), 3,69 (d, 1H, J = 13,8 Hz), 3,63 (d, 1H, J = 13,8 Hz), 3,50 (dd, 1H, J = 11,2, 4,8 Hz), 3,42 (dd, 1H, J = 11,2, 5,7 Hz), 2,60 (d, 2H, J = 6,4 Hz). ^{13}C RMN (CD_3OD , 75,5 MHz), δ ppm, 156,1 (C), 145,5(C), 142,5 (CH), 140,2(C), 130,2 (CH), 129,4 (CH), 129,2 (CH), 128,1 (CH), 119,3 (C), 115,0 (C), 70,6 (CH), 66,3 (CH₂), 60,0 (CH₂), 57,6 (CH₂), 49,0 (CH₂). +ESMS Observado 329,1600 $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_3$ (M+H) requiere 329,1614.

Ejemplo 2.5-Clorhidrato de (R)-7-((2,3-dihidroxipropilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

[0059] Se disolvió (R)-3-(bencil((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metil)amino)propano-1,2-diol (0,1 g, 0,305 mmol) en agua caliente (20 ml), se enfrió a ta y se añadió Pd al 10%-C (50 mg). Se añadió hidrógeno de un globo y la mezcla se agitó a ta. Después de 4 h, el análisis por TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH-cNH}_3$, 5:4:5:0,5) mostró que la reacción había terminado. El hidrógeno se reemplazó por Ar, la mezcla se calentó a 80 °C para garantizar que el producto estaba en solución, después la mezcla se filtró a través de Celite y el disolvente se evaporó para dar (R)-3-((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)propano-1,2-diol en forma de un sólido incoloro (0,072 g, 99%). El producto se convirtió en su sal clorhidrato con HCl al 5%. ^1H RMN ($\text{D}_2\text{O} + \text{DCl}$, 300 MHz), δ ppm, 9,07 (s, 1H), 7,91 (s, 1H), 4,53 (s, 2H), 4,06 (m, 1H), 3,69-3,57 (m, 2H), 3,33 (dd, 1H, J = 12,9, 2,9 Hz), 3,17 (dd, 1H, J = 12,9, 9,8 Hz). ^{13}C RMN ($\text{D}_2\text{O+DCl}$, 75,5 MHz), δ ppm, 153,8 (C), 146,1 (CH), 134,1 (C), 133,1 (CH), 119,6 (C), 104,1 (C), 68,5 (CH), 64,5 (CH₂), 50,2 (CH₂), 41,8 (CH₂) $[\alpha]_D^{18}$ +12,6 (c, 0,565, H₂O). +ESMS Observado 261,0952 (M+Na)⁺ C₁₀H₁₄N₄O₃Na requiere 261,0964.

Ejemplo 3 - Síntesis de clorhidrato de 7-(((2*R*,3*R*)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-3*H*-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5*H*)-ona

[0060]



Ejemplo 3.1 - Síntesis de 2-((5-(bencioximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)-3-hidroxisuccinato de (2S,3R)-diétilo

[0061] Se añadió triacetoxiborohidruro sódico (0,545 g, 2,57 mmol) a una solución de 2-amino-3-hidroxisuccinato de (2S,3R)-diethilo (0,406 g, 1,978 mmol), éste último preparado a partir de L-tartrato de diethilo por métodos conocidos (A. Breuning, R. Vicki y T. Schirmeister, Tetrahedron Asymm., 2003, 14, 3301 y Z. Tang, Z.-H. Yang, X.-H. Chen, L.-F. Cun, A.-Q. Mi, Y.-Z. Jiang y L.-Z. Gong, J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 9285) y 5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidina-7-carbaldehído (0,588 g, 1,978 mmol) en 1,2-dicloroetano (30 ml) y la mezcla se agitó a tasa durante 1 h. El análisis por TLC (EtOAc) mostró que toda la amina se había eliminado (ninhidrina) pero todavía había presente algo de aldehído y un nuevo producto intermedio. Se añadió más cantidad de 2-amino-3-hidroxisuccinato de (2S,3R)-diethilo (121 mg). La mezcla se agitó durante 3 h más, después se diluyó con CH_2Cl_2 , se

lavó con NaHCO₃ acuoso sat., se secó y se evaporó. El residuo se sometió a cromatografía (EtOAc-hexanos, 9:1 y después EtOAc) para dar 2-((5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-7-il)metilamino)-3-hidroxisuccinato de (2S,3R)-diétilo (0,668 g, 1,373 mmol, rendimiento del 69,4%) en forma de una goma de color amarillo pálido.

[α]_D²¹ -5,9 (c0,54, EtOH). ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz), δ ppm, 8,55 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 7,33-7,23 (m, 5H), 5,70 (s, 2H), 4,62 (d, 1H, J = 3,4 Hz), 4,48 (s, 2H), 4,23-4,15 (m, 5H), 4,10 (s, 3H), 3,99 (d, 1H, J = 13,8 Hz), 3,85 (d, 1H, J = 3,3 Hz), 2,25 (s a, 2H, intercambiado a D₂O), 1,26 (t, 3H, J = 7,1 Hz), 1,25 (t, 3H, J = 7,1 Hz). ¹³C RMN (CDCl₃, 75,5 MHz), δ ppm, 171,9(C), 171,1 (C), 156,2 (C), 150,0 (CH), 149,8 (C), 136,9 (C), 130,9 (CH), 128,4 (CH), 127,9 (CH), 127,6 (CH), 116,1 (C), 77,0 (CH₂), 72,0 (CH), 70,2 (CH₂), 63,8 (CH), 61,4 (CH₂), 61,3 (CH₂), 53,5 (CH₃), 42,6 (CH₂), 14,1 (CH₃). +ESMS Observado 487,2174 (M+H)⁺ C₂₄H₃₁N₄O₇ requiere 487,2193.

10 **Ejemplo 3.2 - Síntesis de (2R,3R)-3-((5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-7-il)metilamino)butano-1,2,4-triol**

[0062] A una solución a reflujo de 2-((5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-7-il)metilamino)-3-hidroxisuccinato de (2S,3R)-diétilo (0,6 g, 1,233 mmol) en THF (10 ml) y metanol (0,499 ml, 12,33 mmol) se le añadió en porciones borohidruro de litio (0,134 g, 6,17 mmol) durante aproximadamente 1 h. El análisis por TLC (CH₂Cl₂-MeOH-cNH₃, 9:1:0,1) todavía mostró material de partida (uv, ninhidrina o molibdato). Se añadió más cantidad de MeOH (0,5 ml) y se añadieron pequeñas porciones de LiBH₄ (total -134 mg) durante 1 h hasta que el análisis por TLC mostró que la reacción había finalizado. El disolvente se evaporó y el residuo se sometió a cromatografía (CH₂Cl₂-Me-OH-cNH₃, 95:5:0,5 y después 85:15:0,5) para dar una goma incolora que cristalizó pronto (214 mg, 41%). La goma era de la suficiente pureza como para seguir a la siguiente etapa, pero recristalizó una pequeña cantidad disolviendo una porción del (2R,3R)-3-((5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-7-il)metilamino)butano-1,2,4-triol en crudo en MeOH y evaporando el disolvente para dejar una goma móvil. La goma se disolvió en acetato de etilo caliente, se enfrió a ta y se sembró. El sólido incoloro se retiró por filtración y se secó para dar grupos de muchos cristales diminutos bajo el microscopio. P.f. = 108-109 °C. [α]_D¹⁸ -6,1 (c0,59, MeOH). ¹H RMN (CD₃OD, 300 MHz), δ ppm, 8,42 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,28-7,16 (m, 5H), 5,75 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,10 (s, 3H), 3,83-3,68 (m, 3H), 3,63 (d, 2H, J = 5,5 Hz), 3,31 (pentup., 1H, J = 1,6 Hz). ¹³C RMN (CD₃OD, 75,5 MHz), δ ppm, 158,0 (C), 150,8 (CH), 150,7 (C), 138,8 (C), 134,2 (CH), 129,3 (CH), 128,8 (CH), 128,6 (CH), 117,0 (C), 116,1 (C), 78,5 (CH₂), 72,1 (CH), 71,5 (CH₂), 65,6 (CH₂), 62,3 (CH), 61,0 (CH₂), 54,3 (CH₃), 41,6 (CH₂). +ESMS Observado 403,1980 (M+H)⁺ C₂₀H₂₇N₄O₅ requiere 403,1981.

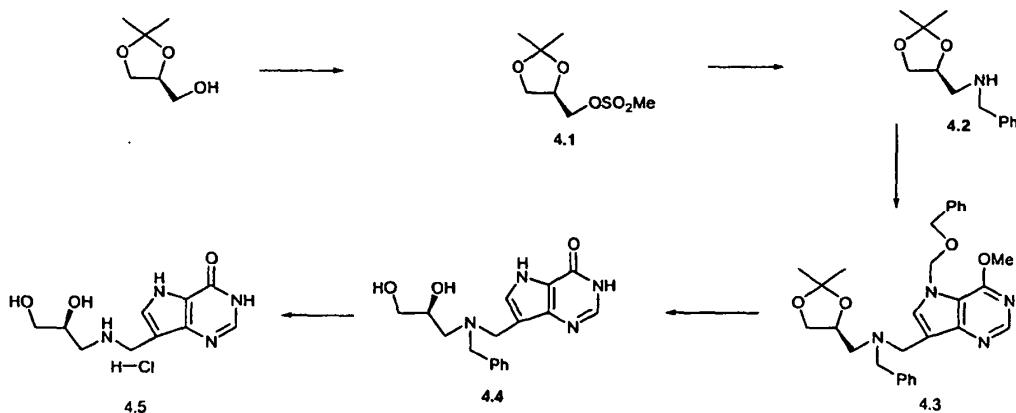
30 **Ejemplo 3.3 - Síntesis de clorhidrato de 7-((2R,3R)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4 (5H)-ona**

[0063] Se calentó a reflujo (2R,3R)-3-((5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-7-il)metilamino)butano-1,2,4-triol (0,1 g, 0,248 mmol) en HCl (4 ml, 37%) durante 2 h. El análisis por TLC (CH₂Cl₂-MeOH-cNH₃, 5:4,5:0,5) mostró que la reacción había terminado. El disolvente se evaporó, el residuo se disolvió en MeOH y se neutralizó con resina Amberlyst A21. La mezcla se filtró, el disolvente se evaporó y el residuo se sometió a cromatografía (CH₂Cl₂-MeOH-cNH₃, 7:3:0,3 y después 5:4,5:0,5) para dar la forma de base libre del producto en forma de un sólido incoloro que se convirtió con HCl al 5% en clorhidrato de 7-((2R,3R)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil-3H-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5H)-ona en forma de un sólido incoloro (0,055 g, 0,180 mmol, rendimiento del 72,6%), [α]_D²² +15,4 (c0,56, H₂O). ¹H RMN (D₂O, 300 MHz), δ ppm, 8,82 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 4,61 (s, 2H), 4,19 (m, 1H), 4,06-3,89 (m, 2H), 3,72 (d, 2H, J = 5,6 Hz), 3,56 (m, 1H). ¹³C RMN (D₂O, 75,5 MHz), δ ppm, 154,4 (C), 145,6 (CH), 136,0 (C), 133,6 (CH), 119,4 (C), 104,9 (C), 69,4 (CH), 63,4 (CH₂), 61,4 (CH), 58,0 (CH₂), 40,4 (CH₂). +ESMS Observado 269,1252 (M+H)⁺ C₁₁H₁₇N₄O₄ requiere 269,1250 - base libre.

[0064]

Ejemplo 4-Clorhidrato de (S)-7-((2,3-dihidroxipropilamino)metil)-3H-pirrolo(3,2-d)pirimidin-4(5H)-ona

[0065]

**Ejemplo 4.1-Metanosulfonato de (R)-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metilo**

5 **[0066]** El compuesto del título se preparó a partir de (S)-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanol (Sigma-Aldrich, 99% de ee) mediante un procedimiento bibliográfico conocido (H.S. Kim, D. Barak, T.K. Harden, J.L. Boyer and K.A. Jacobson, *J. Med. Chem.*, 2001, 44, 3092). $[\alpha]_D^{21} -3,1$ (c, 0,83, CHCl_3). La ^1H RMN y la ^{13}C RMN eran idénticas a las del compuesto 2.1.

Ejemplo 4.2-(S)-N-bencil-1-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanamina

10 **[0067]** El compuesto del título se preparó de la misma manera que se ha descrito por M. Lemaire, F. Posada, J.-G. Gourcy y G. Jeminet, *Synlett*, 1995, 627. Una solución de metanosulfonato de (R)-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metilo (3,9 g, 18,55 mmol) y bencilamina (8,10 ml, 74,2 mmol) se calentó a refluro en CH_3CN (50 ml) durante 48 h. El disolvente se evaporó, el residuo se disolvió en EtOAc , se lavó con NaHCO_3 acuoso sat., se secó y el disolvente se evaporó. El residuo se sometió a cromatografía (EtOAc-hex , 6:4 y después 8:2) para dar (S)-N-bencil-1-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanamina (3,1 g, 14,01 mmol, rendimiento del 76%) en forma de un aceite de color amarillo. $[\alpha]_D^{21} +4,3$ (c, 0,69, CHCl_3). La ^1H RMN y la ^{13}C RMN eran idénticas a las del compuesto 2.2.

Ejemplo 4.3-(S)-N-bencil-1-(5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)-N-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)metanamina

20 **[0068]** A una solución de (S)-N-bencil-1-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanamina (0,670 g, 3,03 mmol) y 5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidina-7-carbaldehído (0,9 g, 3,03 mmol) en 1,2-dicloroetano (30 ml) se le añadió triacetoxiborohidruro sódico (0,834 g, 3,94 mmol) y MgSO_4 anhídrido (2 g). La mezcla se agitó durante 5 h. Despues de la disolución con CH_2Cl_2 , la mezcla se lavó con NaHCO_3 acuoso sat. y salmuera, se secó y el disolvente se evaporó. El residuo se sometió a cromatografía (EtOAc-hex , 1:1, uv y molibdato) para dar (S)-N-bencil-1-(5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)-N-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-metanamina (1,18 g, 2,34 mmol, rendimiento del 78%) en forma de una goma de color amarillo pálido. $[\alpha]_D^{21} +21,6$ (c, 0,92, MeOH). La ^1H RMN y la ^{13}C RMN eran idénticas a las del compuesto 2. +ESMS Observado 503,2635 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_4$ requiere 503,2658.

Ejemplo 4.4-(S)-7-((bencil(2,3-dihidroxipropil)amino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

30 **[0069]** Se calentó (S)-N-bencil-1-(5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)-N-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)metanamina (1,1 g, 2,189 mmol) a 100 °C en HCl (15 ml, 37%) durante 3 h. El análisis por TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-NH}_3$ 6 M en MeOH , 9:1) mostró que la reacción había terminado. El disolvente se evaporó, el residuo se disolvió en MeOH , se neutralizó con resina Amberlyst A21, se filtró y el disolvente se evaporó. El residuo se sometió a cromatografía ($\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-NH}_3$ 6 M en MeOH , 9:1 y después 85:15) para dar (S)-3-(bencil((4-hidroxipirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metil)amino)propano-1,2-diol (0,427 g, 1,3 mmol, rendimiento del 59,4%) en forma de un sólido incoloro, $[\alpha]_D^{20} -12,7$ (c 0,715, MeOH). La ^1H RMN y la ^{13}C RMN eran idénticas a las del compuesto 2.4. +ESMS Observado 329,1618 $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}$) requiere 329,1614.

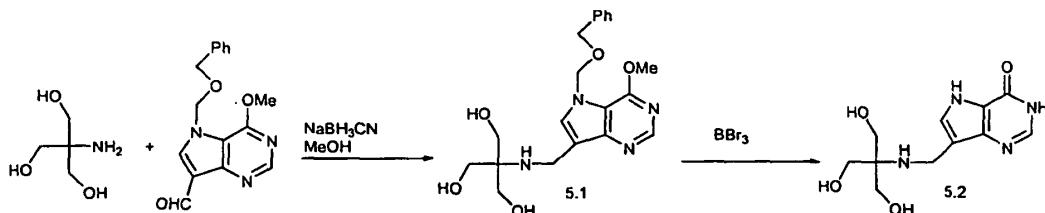
[0070]

Ejemplo 4.5-Clorhidrato de (S)-7-((2,3-dihidroxipropilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

[0071] Se disolvió (S)-3-(bencil((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metil)amino)propano-1,2-diol (0,1 g, 0,305 mmol) en MeOH (10 ml), se diluyó con agua (10 ml) y se añadió Pd al 10%-C (50 mg). Se añadió H₂ de un globo y la mezcla se agitó durante 45 min. El H₂ se reemplazó por Ar y la mezcla se filtró a través de Celite. El Celite se extrajo con porciones de agua caliente y los filtrados combinados se evaporaron para dar un sólido (53 mg). El sólido se sometió a cromatografía sobre gel de sílice (CH₂Cl₂-MeOH-cNH₃, 5:4, 5:0,5) para dar la forma de base libre del producto en forma de un sólido incoloro. El producto se convirtió con HCl al 5% en su clorhidrato en forma de una espuma incolora y se cristalizó en MeOH para dar clorhidrato de (S)-3-((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)propano-1,2-diol (35 mg, 41,8%). P.f. 241-242 °C. $[\alpha]_D^{20}$ -12,9 (c, 0,535, H₂O). La ¹H RMN y la ¹³C RMN eran idénticas a las del compuesto 2.5. +ESMS Observado 239,1136 (M+H)⁺ C₁₀H₁₅N₄3N requiere 239,1144.

Ejemplo 5 - Síntesis de 7-((1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-ilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

[0072]

**Ejemplo 5.1 - Síntesis de 2-((5-(bencloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol**

[0073] Se añadió cianoborohidruro sódico a una suspensión de 5-(bencloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidina-7-carbaldehído (50 mg, 168 µmol) y 2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol (20,37 mg, 168 µmol) en metanol (5 ml) y se agitó durante una noche a t.a. La reacción en crudo se absorbió sobre sílice y se eluyó con MeOH al 20%/EtOAc para dar 2-((5-(bencloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol (24 mg, 59,6 mmol, rendimiento del 35,5%) en forma de un jarabe. ¹H RMN (d4-MeOH) 8,42 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,23 (m, 5H), 5,74 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,11 (s, 3H), 4,04 (s, 2H), 3,68 (s, 6H). ¹³C RMN (d4-MeOH) 158,4, 151,2, 150,9, 139,1, 134,4, 129,7, 129,2, 129,0, 117,5, 116,4, 78,9, 71,9, 62,9, 62,6, 54,8, 36,6.

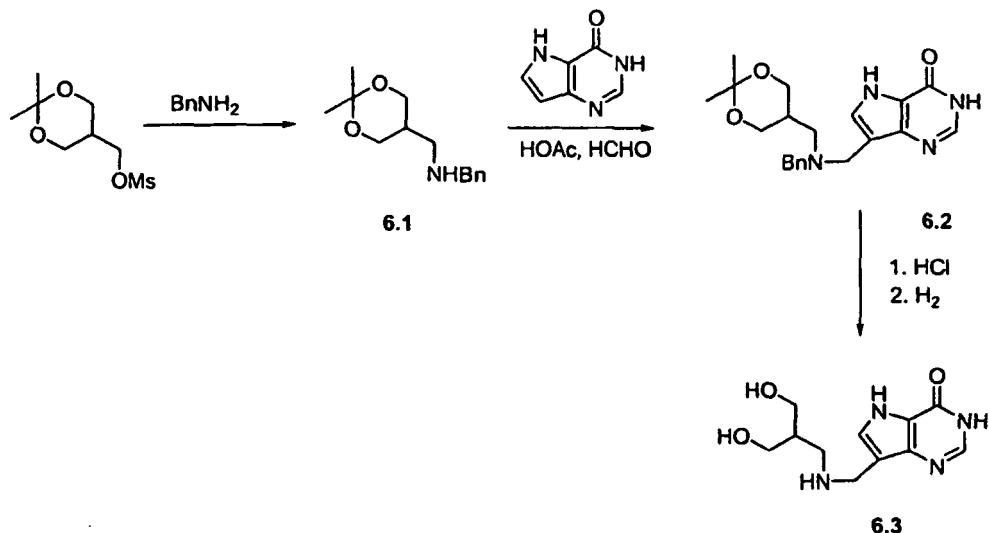
Ejemplo 5.2 - Síntesis de 2-((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol

[0074] Se añadió gota a gota tribromuro de boro (1 ml, 1,0 mmol) a una solución de 2-((5-(bencloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol (30 mg, 74,5 µmol) en diclorometano (5 ml) y se agitó a t.a. Un sólido de color blanco precipitó en la reacción después de 1 h y después la reacción se interrumpió con metanol, se concentró al vacío y se co-destiló con metanol (3 x 25 ml) para dar un residuo en crudo. El residuo se disolvió en metanol, se absorbió sobre sílice y se sometió a cromatografía eluyendo con 5:4,5:0,5 de DCM:MeOH:NH₄OH para dar 2-((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol (7 mg, 26,1 mmol, rendimiento del 35,0%) en forma de un sólido de color blanco que se convirtió en la sal HCl para el análisis de RMN. P.f. 223-224 °C (placas de EtOH). ¹H RMN (D₂C, referencia a la acetona interna en 2,225 ppm) δ 9,06, (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 4,59 (s, 2H), 3,91 (s, 6H). ¹³RMN (D₂C, referencia a la acetona interna en δ 31,5) δ 153,7, 146,0, 134,2, 133,0, 119,4, 104,7, 67,6, 59,3, 36,4. +ESMS Observado 269,1263 (M+H)⁺ C₁₁H₁₇N₄C₄ requiere 269,1250.

[0075]

Ejemplo 6 - Síntesis de 7-((3-hidroxi-2-(hidroximetil)propilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

[0076]

**Ejemplo 6.1 - Síntesis de N-bencil(2,2-dimetil-1,3-dioxan-5-il)metanamina**

5 **[0077]** Una solución de metanosulfonato de (2,2-dimetil-1,3-dioxan-5-il)metilo (1,70 g, 7,58 mmol) en bencilamina (10 ml, 92 mmol) se agitó a 80 °C y se controló por TLC. Por lo tanto, después de 2 h, la reacción se completó y se concentró al vacío. El residuo se diluyó con tolueno (que contenía una pequeña cantidad de acetato de etilo), se lavó con agua, se secó y se concentró al vacío. La cromatografía en columna sobre sílice eluyendo con acetato de etilo dio N-bencil(2,2-dimetil-1,3-dioxan-5-il)metanamina (1,51 g, rendimiento del 85%) en forma de un aceite de color amarillo. ^{13}C RMN (CD_3OD) δ 140,8, 129,4 (2 x CH), 128,1, 99,3, 64,0 (2 x CH_2), 54,7, 33,7, 25,6, 23,0.

Ejemplo 6.2 - Síntesis de 7-((bencil((2,2-dimetil-1,3-dioxan-5-il)metil)amino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

15 **[0078]** Se añadió gota a gota ácido acético (0,122 ml, 2125 μmol) a una solución de N-bencil(2,2-dimetil-1,3-dioxan-5-il)metanamina (100 mg, 425 μmol) en 1,4-dioxano (2 ml, 2,34E+04 μmol) seguido de la adición de 3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona (115 mg, 850 μmol). La suspensión resultante se calentó a 95 °C (temp. del baño) y se mantuvo a esa temperatura durante una noche. La reacción se enfrió a temperatura ambiente. La cromatografía en columna sobre sílice eluyendo con NH_3 al 5% 7 N/MeOH dio, presumiblemente, 7-((bencil((2,2-dimetil-1,3-dioxan-5-il)metil)amino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona (56 mg, 146 μmol , rendimiento del 34,5%) que se llevó a la siguiente etapa sin caracterización adicional.

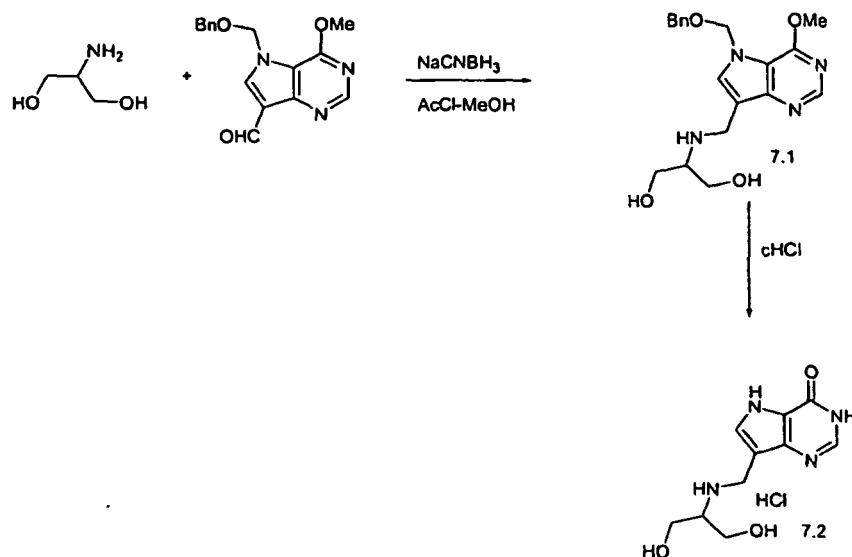
Ejemplo 6.3 - Síntesis de 7-((3-hidroxi-2-(hidroximetil)propilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

20 **[0079]** Se añadió cHCl a una solución agitada de 7-((bencil((2,2-dimetil-1,3-dioxan-5-il)metil)amino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona (50 mg, 131 μmol) en metanol (2 ml). Después de 0,5 h, la reacción se concentró al vacío y se co-destiló con metanol. La reacción en crudo se absorbió en forma de una solución de metanol sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía sobre sílice eluyendo con NH_3 al 0% 7 N/MeOH para dar, presumiblemente, 7-((2,2-dimetil-1,3-dioxan-5-il)metilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona (19 mg, rendimiento del 42,4%) en forma de un sólido de color blanco, que se llevó a la siguiente etapa sin caracterización. Una solución de 7-((2,2-dimetil-1,3-dioxan-5-il)metilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona (19 mg, 55,5 μmol) y paladio al 10% sobre carbono (56 mg, 526 μmol) en agua (2 ml, 1,11 E+05 μmol) se agitó en una atmósfera de hidrógeno (0,101 mg, 50,2 μmol) durante 72 h. La reacción se filtró a través de Celite® y el filtrado se concentró al vacío para producir un residuo en crudo que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con 5:4:5:0,5 de DCM:MeOH:NH₄OH para dar clorhidrato de 7-((3-hidroxi-2-(hidroximetil)propilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona (4 mg, rendimiento del 27,6%) en forma de un sólido de color blanco. ^{13}C RMN (D_2O) δ 152,6, 145,0, 133,2, 131,7, 118,4, 102,8, 60,8 (2 x CH_2), 47,6, 41,1, 39,8.

[0080]

Ejemplo 7 - Síntesis de clorhidrato de 7-((1,3-dihidroxipropan-2-ilamino)metil)-3*H*-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5*H*)-ona

[0081]



5 **Ejemplo 7.1 - Síntesis de 2-((5-(benciloximetil)-4-metoxi-5*H*-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-7-il)metilamino)propano-1,3-diol**

[0082] Se añadió cloruro de acetilo (0,117 ml, 1,65 mmol) a una solución agitada de 2-aminopropano-1,3-diol (0,3 g, 3,29 mmol) y 5-(benciloximetil)-4-metoxi-5*H*-pirrolo[3,2-*d*]pirimidina-7-carbaldehído (0,196 g, 0,659 mmol, preparado como en G.B. Evans, R.H. Furneaux, A. Lewandowicz, V.L. Schramm y P.C. Tyler, *J. Med. Chem.*, 2003, 46, 3412) en MeOH (5 ml). Se añadió cianoborohidruro sódico (0,062 g, 0,988 mmol) y la mezcla se agitó a t a durante una noche. El disolvente se evaporó y el residuo se sometió a cromatografía sobre gel de sílice (CH₂Cl₂-MeOH-NH₄OH al 28%, 95:5:0,5 y después 9:1:0,05) para dar 2-((5-(benciloximetil)-4-metoxi-5*H*-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-7-il)metilamino)-propano-1,3-diol (0,188 g, 77%) en forma de un sólido incoloro. ¹H RMN (CD₃OD) δ 8,42, (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,25-7,16 (m, 5H), 5,75 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,10 (s, 3H), 4,03 (s, 2H), 3,68 (dd, *J*=11,2, 5,9 Hz, 2H), 3,58 (dd, *J*=11,2, 5,9 Hz, 2H), 2,81 (pentup., *J*=5,6 Hz, 1H). ¹³C RMN (CD₃OD, 75,5 MHz, referencia a la línea central de CD₃OD en δ 49,0) δ 157,9, 150,8, 150,6, 138,7, 134,1, 129,3, 128,8, 128,6, 117,0, 116,2, 78,5, 71,5, 62,5 (CH₂ x 2), 61,3, 54,3, 41,4. +ESMS Observado 373,1865 (M+H)⁺ C₁₉H₂₅N₄O₄ requiere 373,1876.

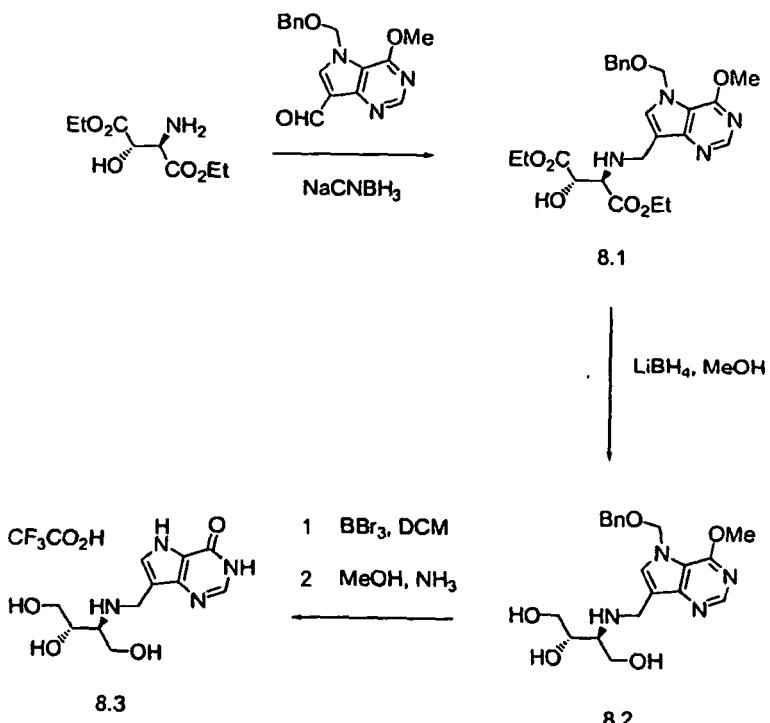
Ejemplo 7.2 - Síntesis de clorhidrato de 7-((1,3-dihidroxipropan-2-ilamino)metil)-3*H*-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5*H*)-ona

20 **[0083]** El producto del Ejemplo 7.1 (0,18 g, 0,483 mmol) se calentó a reflujo en HCl al 37% durante 1,5 h. El disolvente se evaporó, el residuo se disolvió en una mezcla 1:1 de MeOH:H₂O, se neutralizó con resina Amberlyst A21, se filtró y el disolvente se evaporó. El residuo se sometió a cromatografía sobre gel de sílice (¹PrOH-agua-NH₄OH al 28%, 92:0,4:0,4) para dar la forma de base libre del producto que se convirtió con HCl al 5% en clorhidrato de 7-((1,3-dihidroxipropan-2-ilamino)metil)-3*H*-pirrolo[3,2-*d*]pirimidin-4(5*H*)-ona (0,085 g, 64,0%) en forma de un sólido incoloro. ¹H RMN (D₂O, referencia a la acetona interna en δ 2,225) δ 8,74, (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 4,58 (s, 2H), 3,98 (dd, *J*=12,7, 4,6 Hz, 2H), 3,89 (dd, *J*=12,6, 5,9 Hz, 2H), 3,53 (m, 1H). ¹³C RMN (D₂O, referencia a la acetona interna en δ 31,5) δ 154,5, 145,4, 136,8, 133,4, 119,3, 105,3, 60,9, 58,9, 39,8. +ESMS Observado 239,1153 (M+H)⁺ C₁₀H₁₅N₄O₃ requiere 239,1144-base libre.

[0084]

Ejemplo 8 - Síntesis de 7-((2S,3S)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

[0085]



Ejemplo 8.1 - Síntesis de 2-((5-(benciloximeto)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)-3-hidroxisuccinato de (2R,3S)-diethilo

[0086] Una mezcla de 2-amino-3-hidroxisuccinato de (2R,3S)-diethilo (preparado como se describe en A. Breuning, R. Vicik y T. Schirmeister, Tetrahedron Asymm., 2003, 14, 3301 y Z. Tang, Z.-H. Yang, X.-H. Chen, L.-F. Cun, A.-Q. Mi, Y.-Z. Jiang y L.-Z. Gong, J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 9285) (0-109 g, 0,53 mmol), cianoborohidruro sódico (0,055 g, 0,88 mmol) y 5-(benciloximeto)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-carbaldehído (0,131 g, 0,44 mmol) se evaporaron en metanol (3 x). El residuo se disolvió en metanol (10 ml) y se añadió ácido acético (5 gotas). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se evaporó sobre gel de sílice y se sometió a cromatografía (acetato de etilo-petróleo, 2:1 y después acetato de etilo-triethylamina, 1:99), dando un aceite incoloro (0,166 g, 77%). ^1H RMN (CDCl_3) δ 8,55 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 7,33-7,23 (m, 5H), 5,70 (s, 2H), 4,62 (d, J = 3,4 Hz, 1H), 4,48 (s, 2H), 4,23-4,15 (m, 5H), 4,10 (s, 3H), 3,99 (d, J = 13,8 Hz, 1H), 3,85 (d, J = 3,3 Hz, 1 H), 2,25 (s a, 2H), 1,26 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 1,25 (t, J = 7,1 Hz, 3H).

Ejemplo 8.2 - Síntesis de (2S,3S)-3-((5-(benciloximeto)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)butano-1,2,4-triol

[0087] A una solución agitada del producto del Ejemplo 8.1 (0,166 g, 0,34 mmol) en éter dietílico (10 ml) se le añadió metanol (0,14 ml, 3,41 mmol) y después borohidruro de litio (0,85 ml, 1,71 mmol, 2,0 M en THF). Después de 30 min, la mezcla de reacción se diluyó con metanol y después se concentró. El residuo se disolvió en metanol, se diluyó con amoniaco acuoso concentrado (1 ml) y se evaporó sobre gel de sílice. El material se sometió a cromatografía sobre gel de sílice (DCM-metanol-amoniaco conc., 85:15:2, después 70:30:2 y después 50:50:4). Esto dio tres compuestos distintos; en primer lugar, el compuesto del título y después dos formas de sal diferentes del compuesto del título. Los tres compuestos se combinaron para dar un aceite incoloro (0,103 g, 75%). ^1H RMN (CD_3OD) δ 8,42 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,28-7,16 (m, 5H), 5,75 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,10 (s, 3H), 3,83-3,68 (m, 3H), 3,63 (d, J = 5,5 Hz, 2H), 3,31 (pentup., J = 1,6 Hz, 1H).

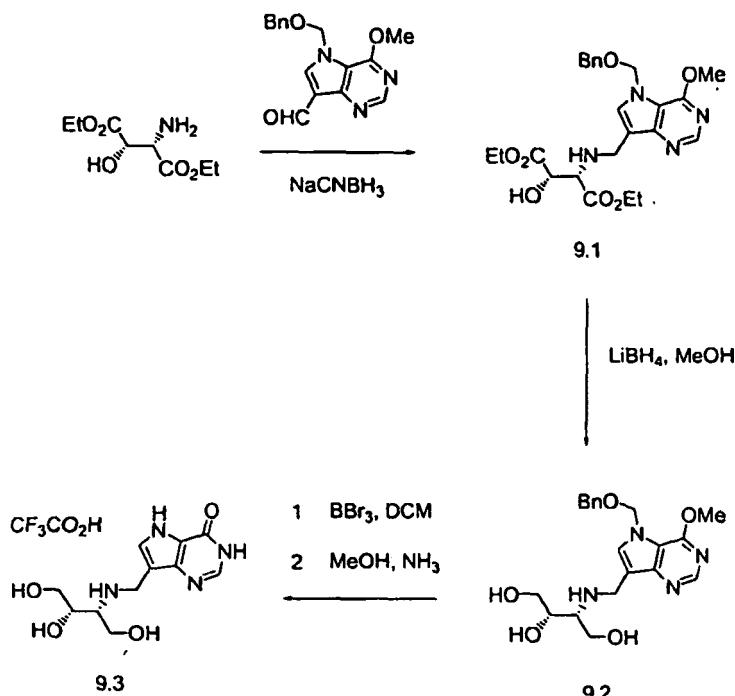
Ejemplo 8.3 - Síntesis de la sal del ácido trifluoroacético de 7-((2S,3S)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

[0088] A una solución agitada del producto del Ejemplo 8.2 (0,103 g, 0,26 mmol) en DCM (10 ml) a -78 °C se le añadió tribromuro de boro (2,56 ml, 2,56 mmol, 1,0 M en DCM). Después de 15 min, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se co-evaporó con metanol (3 x). El residuo se agitó en metanol (solución 7 N de

amoniaco) durante 10 min y se evaporó sobre gel de sílice. El material se sometió a cromatografía sobre gel de sílice (cloroformo-metanol-amoniaco conc., 10:9:1) y después sobre HPLC Polar-RP (TFA-metanol-agua, 0,1:1:99 en aumento hasta 0,1:1:4), dando un sólido de color blanco (0,018 mg, 26%). ^1H RMN (D_2O) δ 8,32 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 4,53 (s, 2H), 4,13 (dc, J = 5,7, 1,1 Hz, 1H), 3,95 (ddd, J = 12,5, 4,5, 1,1 Hz, 1H), 3,86 (ddd, J = 11,2, 7,2, 1,1 Hz, 1H), 3,64 (m, 2H), 3,46 (m, 1H).

5

Ejemplo 9 - Síntesis de 7-(((2R,3S)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona [0089]



Ejemplo 9.1 - Síntesis de 2-((5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il) metilamino)-3-hidroxisuccinato de (2R,3S)-dietilo

10

[0090] Una mezcla de 2-amino-3-hidroxisuccinato de (2S,3S)-dietilo (preparado como se describe en A. Baruch, S.H.L. Verhelst, M. Bogyo, K.A.H. Chehade, *Synthesis*, 2005, 2, 240-244 y Z. Tang, Z.-H. Yang, X.-H. Chen, L.-F. Cun, A.-Q. Mi, Y.-Z. Jiang y L.-Z. Gong, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 9285) (0,871 g, 4,24 mmol), cianoborohidruro sódico (0,444 g, 7,07 mmol) y 5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-carbaldehído (1,051 g, 3,54 mmol) se evaporó en metanol (3 x). El residuo se disolvió en metanol (20 ml) y se añadió ácido acético (10 gotas). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla de reacción se evaporó sobre gel de sílice y se sometió a cromatografía (trietilamina-metanol-DCM, 1:3:99), dando un aceite incoloro (2,577 g, 150%). La ^1H RMN reveló que el producto estaba contaminado con amina de partida (co-polar) y una pequeña cantidad de residuos de borohidruro. ^1H RMN (CDCl_3) δ 8,52 (s, 1H), 7,38-7,23 (m, 6H), 5,69 (s, 2H), 4,52 (s a, 1H), 4,47 (s, 2H), 4,32-4,10 (m, 6H), 4,10 (s, 3H), 3,73 (s a, 1H), 1,27 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 1,21 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

15

Ejemplo 9.2 - Síntesis de (2S,3R)-3-((5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)butano-1,2,4-triol

20

[0091] A una solución agitada del producto del Ejemplo 9.1 (1,718 g, 3,53 mmol) en éter dietílico (30 ml) se le añadió metanol (1,43 ml, 35,3 mmol) y después borohidruro de litio (8,83 ml, 17,7 mmol, 2,0 M en THF). Después de 1 h, a la mezcla de reacción se le añadió metanol (1,43 ml, 35,3 mmol) y la agitación continuó. Después de 1 h, la mezcla de reacción se diluyó adicionalmente con metanol y después se concentró. El residuo se disolvió en metanol (20 ml), se diluyó con ácido clorhídrico (20 ml, 1 M) y se concentró. El residuo se sometió a cromatografía sobre gel de sílice (metanol [amoniaco 7 N]-DCM, 15:85), dando un sólido de color blanco (0,940 g, 66%). ^1H RMN (CD_3OD) δ 8,43 (s, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,28-7,15 (m, 5H), 5,77 (s, 2H), 4,52 (s, 2H), 4,12 (ABc, 2H), 4,11 (s, 3H), 3,80 (dd, J = 11,7, 5,3 Hz, 1H), 3,80-3,60 (m, 3H), 3,59 (dd, J = 11,0, 4,9 Hz, 1H), 2,90 (c, J = 4,9 Hz, 1H). ^{13}C RMN (CD_3OD) δ 158,4, 151,4, 151,0, 139,1, 135,0, 129,7, 129,2, 129,1, 117,5, 115,3, 79,0, 72,5, 72,0, 65,6, 62,0, 61,6, 54,8, 42,1.

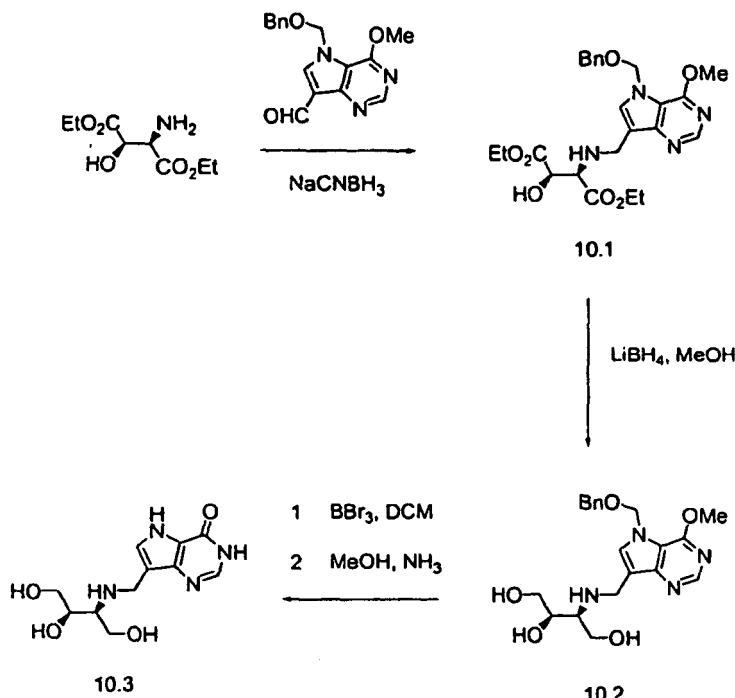
[0092]

Ejemplo 9.3 - Síntesis de la sal del ácido trifluoroacético de 7-(((2R,3S)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

[0093] A una solución agitada del producto del Ejemplo 9.2 (0,940 g, 2,34 mmol) en DCM (30 ml) a -78 °C se le añadió tribromuro de boro (23,4 ml, 23,4 mmol, 1,0 M en DCM). Después de 15 min, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se co-evaporó con metanol (3 x). El residuo se agitó en metanol (solución de amoniaco 7 N) durante 10 min y se evaporó sobre gel de sílice. El material se sometió a cromatografía sobre gel de sílice (cloroformo-metanol-amoniaco conc., 10: 9:1) y después sobre HPLC Polar-RP (TFA-metanol-agua, 0,1:3:97 en aumento hasta 0,1:50:50), dando un sólido cristalino de color blanco (0,234 mg, 26%). ¹H RMN (D₂O) δ ppm 8,03 (s, 1H), 7,59 (s, 1H), 4,41 (ABc, 2H), 3,88 (dd, *J* = 13,2, 4,2 Hz, 1H), 3,80 (m, 1H), 3,72 (dd, *J* = 13,2, 5,3 Hz, 1H), 3,60 (dd, *J* = 12,5, 3,4 Hz, 2H), 3,47 (dd, *J* = 12,5, 4,5 Hz, 1H), 3,26 (m, 1H). +ESMS observado 269,1258 (M+H)⁺ C₁₁H₁₇N₄O₄ requiere 269,1250.

Ejemplo 10 - Síntesis de 7-(((2S,3R)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

[0094]

15 **Ejemplo 10.1 - Síntesis de 2-((5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)-3-hidroxisuccinato de (2S,3R)-dietilo**

[0095] Una mezcla de 2-amino-3-hidroxisuccinato de (2R,3R)-dietilo (preparado como se describe en A. Baruch, S.H.L. Verhelst, M. Bogyo, K.A.H. Chehade, *Synthesis*, 2005, 2, 240-244 y Z. Tang, Z.-H. Yang, X.-H. Chen, L.-F. Cun, A.-Q. Mi, Y.-Z. Jiang y L.-Z. Gong, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 9285) (0,083 g, 0,40 mmol), cianoborohidruro sódico (0,042 g, 0,67 mmol) y 5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-carbaldehído (0,100 g, 0,34 mmol) se evaporó en metanol (3 x). El residuo se disolvió en metanol (10 ml) y se añadió ácido acético (5 gotas). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla de reacción se evaporó sobre gel de sílice y se sometió a cromatografía (triétilamina-acetato de etilo-petróleo, 1:66:33), dando un aceite incoloro (0,114 g, 70%). La ¹H RMN reveló que el producto estaba ligeramente contaminado con amina de partida (co-polar). ¹H RMN (CDCl₃) δ 8,52 (s, 1H), 7,38-7,23 (m, 6H), 5,69 (s, 2H), 4,52 (s a, 1H), 4,47 (s, 2H), 4,32-4,10 (m, 6H), 4,10 (s, 3H), 3,73 (s a, 1H), 1,27 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H), 1,21 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).

Ejemplo 10.2 - Síntesis de (2R,3S)-3-((5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)butano-1,2,4-triol

[0096] A una solución agitada del producto del Ejemplo 10.1 (0,114 g, 0,23 mmol) en éter dietílico (10 ml) se le añadió metanol (0,10 ml, 2,34 mmol) y después borohidruro de litio (0,59 ml, 1,17 mmol, 2,0 M en THF). Después de 30 min, la mezcla de reacción se diluyó con metanol y se evaporó sobre gel de sílice. El material se sometió a

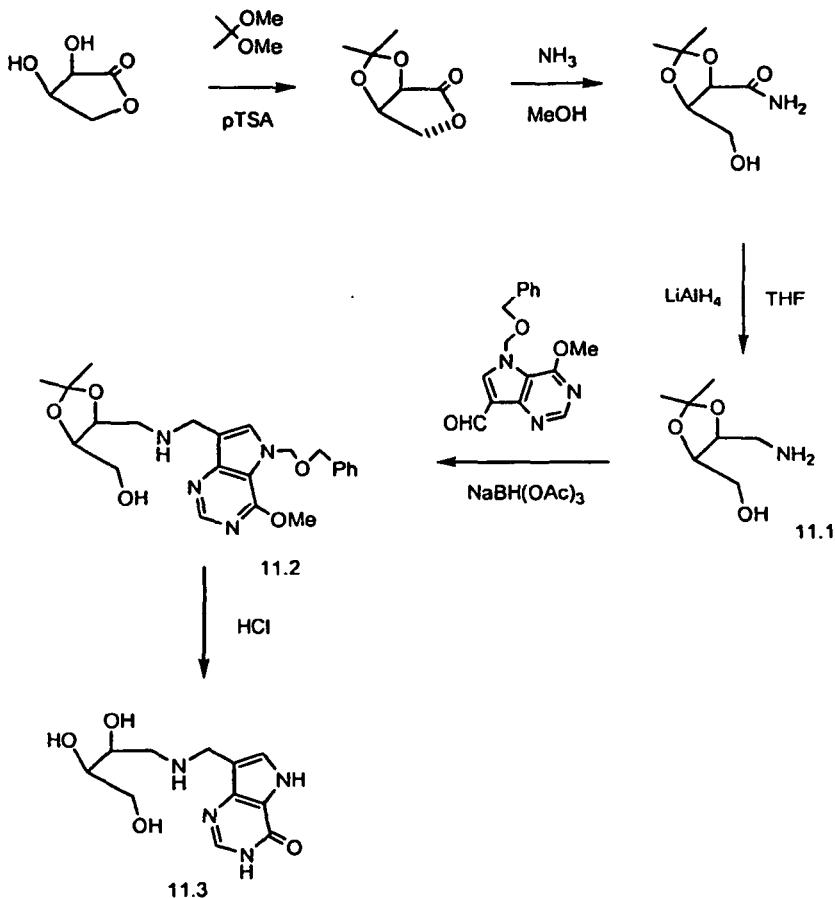
cromatografía (amoniaco conc.-metanol-DCM, 0,5:5:95 y después 0,5:15:85), dando una goma incolora (0,056 g, 59%). ^1H RMN (CD_3OD) δ 8,43 (s, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,28-7,15 (m, 5H), 5,77 (s, 2H), 4,52 (s, 2H), 4,12 (ABc, 2H), 4,11 (s, 3H), 3,80 (dd, J = 11,7, 5,3 Hz, 1H), 3,80-3,60 (m, 3H), 3,59 (dd, J = 11,0, 4,9 Hz, 1H), 2,90 (c, J = 4,9 Hz, 1H). ^{13}C RMN (CD_3OD) δ 158,4, 151,4, 151,0, 139,1, 135,0, 129,7, 129,2, 129,1, 117,5, 115,3, 79,0, 72,5, 72,0, 65,6, 62,0, 61,6, 54,8, 42,1.

Ejemplo 10.3 - Síntesis de 7-((2S,3R)-1,3,4-trihidroxibutan-2-ilamino)metil-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4-(5H)-ona

[0097] A una solución agitada del producto del Ejemplo 10.2 (0,056 g, 0,14 mmol) en DCM (7 ml) a -78 °C se le añadió tribromuro de boro (1,39 ml, 1,39 mmol, 1,0 M en DCM). Después de 15 min, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se co-evaporó con metanol (3 x). El residuo se agitó en metanol (solución 7 N de amoniaco) durante 10 min y se evaporó sobre gel de sílice. El material se sometió a cromatografía sobre gel de sílice (cloroformo-metanol-amoniaco conc., 10:9:1), dando un sólido de color blanco (17 mg, 46%). ^1H RMN (D_2O) δ 8,03 (s, 1H), 7,59 (s, 1H), 4,41 (ABc, 2H), 3,88 (dd, J = 13,2, 4,2 Hz, 1H), 3,80 (m, 1H), 3,72 (dd, J = 13,2, 5,3 Hz, 1H), 3,60 (dd, J = 12,5, 3,4 Hz, 2H), 3,47 (dd, J = 12,5, 4,5 Hz, 1H), 3,26 (m, 1H). +ESMS observado 269,1262 ($\text{M}+\text{H}$)+ $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{O}_4$ requiere 269,1250.

Ejemplo 11 - Síntesis de 7-((2S,3R)-2,3,4-trihidroxibutilamino)metil-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

[0098]



Ejemplo 11.1 - Síntesis de (2S,3R)-O-isopropilideno-4-hidroxibutilamina

[0099] Se añadió gota a gota una solución de 2,3-O-isopropilideno-D-eritronamida (D.L. Mitchell Canad. J. Chem., 1963, 41, 214) (2,80 g, 16,0 mmol) en THF anhídrico (aprox. 45 ml) durante aproximadamente 30 minutos a una suspensión agitada de hidruro de litio y aluminio (2,43 g, 64,0 mmol) en THF (40 ml) mantenida a temperatura ambiente. Después, la mezcla se calentó a reflujo durante una noche antes de enfriarse y tratarse según el modo Fieser. Los materiales inorgánicos se retiraron por filtración y el filtrado se concentró para dar (2S,3R)-O-isopropilideno-4-hidroxibutilamina (2,17 g, 84%) en forma de un jarabe móvil que se consideró lo suficientemente puro para la reacción posterior. ^1H RMN (CDCl_3) δ 4,31 (td, J = 6,7,4,2 Hz, 1H), 4,23 (td, J = 6,6, 3,9 Hz, 1H), 3,71 (d de ABc, rama del campo inferior J = 12,0, 7,0 Hz, rama del campo superior J = 12,0, 4,2 Hz, 2H), 3,01 (d de ABc,

rama del campo inferior $J = 12,6, 7,1$ Hz, rama del campo superior $J = 12,6, 4,9$ Hz, 2H), 1,45 (s, 3H), 1,36 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 108,3, 77,6, 77,5, 60,8, 41,2, 27,8, 25,3.

Ejemplo 11.2 - Síntesis de N-[5-(Bencilogoximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il]metilamino (2S,3R)-2,3-O-isopropilideno-2,3,4-butanotriol

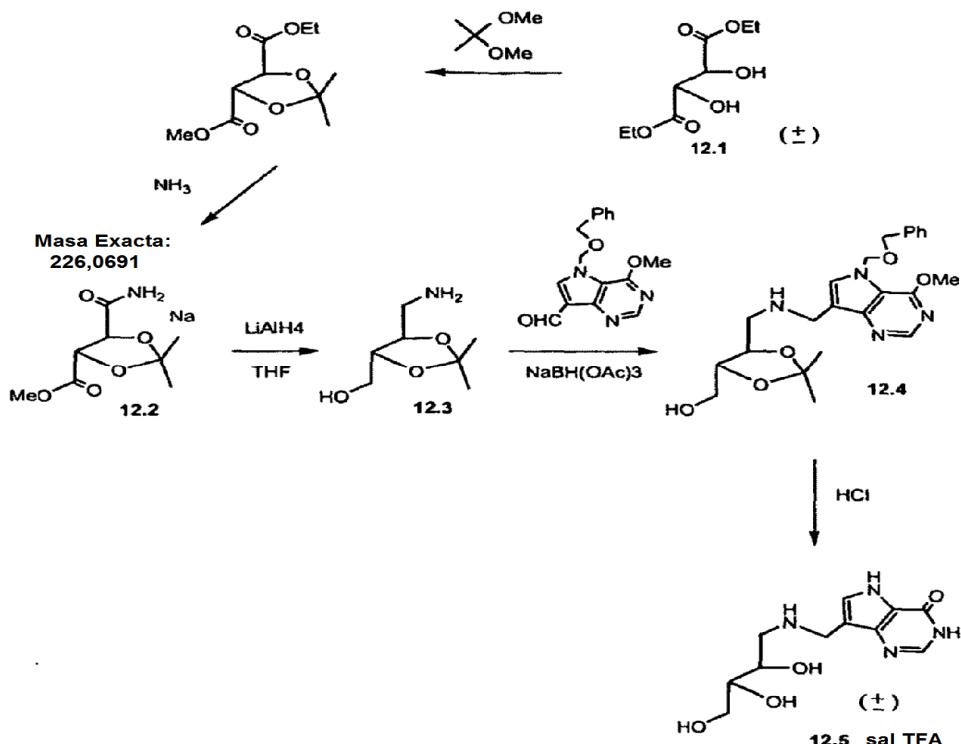
5 [00100] A una mezcla de 5-(bencilogoximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidina-7-carbaldehído (0,39 g, 1,30 mmol), (2S,3R)-2,3-O-isopropilideno-1-amino-2,3,4-butanotriol (0,21 g, 1,30 mmol) en 1,2-dicloroetano (8 ml) que contenía sulfato de magnesio anhídrico (0,5 g) se le añadió, en una sola porción, triacetoxiborohidruro sódico (0,36 g, 1,70 mmol) y todo se agitó durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con DCM y se lavó con una solución saturada de bicarbonato sódico antes de secarse y concentrarse a sequedad. La mezcla se fraccionó por 10 cromatografía ultrarrápida sobre sílice (sin preabsorción) eluyendo con MeOH del 2 al 5% MeOH/EtOAc para dar el compuesto del título (0,23 g, 39,9%) en forma de un jarabe móvil. ^1H 8,53 (s, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,40-7,18 (m, 5H), 5,69 (s, 2H), 4,49 (s, 2H), 4,34 (m, 2H), 4,13 (s, 3H), 3,99 (s, 2H), 3,95 (s a, 1H), 3,73 (d de ABC, $J = 12,0, 4,7$ Hz, rama del campo inferior de ABC y $J = 12,0, 3,7$ Hz, rama del campo superior de ABC, 2H), 2,97 (d de ABC, $J = 12,2, 7,6$ Hz, rama del campo inferior de ABC y $J = 12,2, 3,1$ Hz, rama del campo superior de ABC), 1,41 (s, 3H), 1,34 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 156,7, 150,5, 150,3, 137,3, 131,5, 128,81, 128,3, 128,0, 116,3, 115,1, 108,3, 78,0, 77,5, 76,2, 70,6, 60,8, 53,9, 48,4, 43,5, 27,8, 25,3. HR-ESMS $\text{MH}^+ 443,2327 \text{ C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{O}_5$ requiere $\text{MH}^+ 443,2294 \Delta 0,9$ ppm (también se observó $\text{MNa}^+ 465,2111$).

Ejemplo 11.3 - Síntesis de 7-((2S,3R)-2,3,4-trihidroxibutilamino)metil-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

20 [00101] Se añadió ácido clorhídrico concentrado (10 ml) a N-[5-(bencilogoximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il]metilamino-(2S,3R)-2,3-O-isopropilideno-2,3,4-butanotriol (0,48 g, 1,08 mmol), la solución se calentó a refljo durante dos horas antes de que se enfriara, se concentrara y después se volvió a disolver en metanol (10 ml) y agua (2 ml). La solución se neutralizó a pH 7 con resina A-21 y después se recubrió por filtración. El producto en crudo se preabsorbió sobre sílice y se fraccionó sobre sílice eluyendo con DCM/MeOH/NH₃ 0,88 (5:4:1). El compuesto del título se recuperó en forma de un sólido de color blanco por precipitación lenta (durante una noche) en el disolvente de elución en las fracciones de eluato seleccionadas. ^1H RMN ($\text{D}_2\text{O}/\text{DCl}$) δ 8,82 (s, 1H), 7,66 (s, 1H), 3,73 (multiplete de 7 líneas, dos multipletes solapantes de 4 líneas, $J = 3$ Hz 1H), 3,51-3,33 (m, 3H), 3,18 (dd, $J = 12,9, 2,9$ Hz, 1H), 2,96 (dd, $J = 12,9, 9,6$ Hz, 1H). ^{13}C RMN ($\text{D}_2\text{O}/\text{DCl}$) δ 152,9, 145,5, 133,2, 132,3, 118,6, 103,2, 73,3, 68,0, 62,5, 49,4, 40,9. HR-ESMS $\text{MH}^+ 269,1242 \text{ C}_{11}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{O}_4$ requiere $\text{MH}^+ 269,1250 \Delta 3$ ppm. $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_4$ requiere C 49,25, H 6,01, N 20,89%; Observado C 48,79, H 6,25, N 20,74.

30 **Ejemplo 12 - Síntesis de 7-((2RS,3RS)-2,3,4-trihidroxibutilamino)metil-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona**

[00102]



Ejemplo 12.1 - Síntesis de (2R/S,3R/S)-Etilo, 2,3-O-isopropilidenotartrato de metilo

[00103] A una solución que contenía tartrato de (+) y (-)diethilo (1,0 g cada uno, 9,7 mmol) y dimetoxipropano (2,0 g, 19,4 mmol) en benceno (30 ml) se le añadió ácido p-toluenosulfónico (0,1 g) y la mezcla se calentó a reflujo durante 3 h. La solución se enfrió, se diluyó con EtOAc (200 ml), se lavó con un cóctel saturado de salmuera 5 saturada/bicarbonato sódico antes de secarse y concentrarse para dar un líquido homogéneo móvil (1,78 g, 79%). Una muestra se destiló por Kugelrohr (120-140°C/18 mm) para dar el etil metil éster mixto en forma de un líquido incoloro. En preparaciones a gran escala posteriores, el producto en crudo se consideró que era suficientemente puro para la reacción adicional. ^1H RMN (CDCl_3) δ 4,79-4,74 (m, 2H), 4,26 (c, J = 7,1 Hz, 2H), 3,81 (s, 3H) 1,48 (s, 6H), 1,32 (t, J = 7,1 Hz, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 170,4, 170,0, 114,1, 77,6, 77,4, 62,3, 53,1, 26,7, 14,4.

10 Ejemplo 12.2 - Síntesis de (2R/S,3R/S)metil 2,3-O-isopropilidenotartrama

[00104] Los ésteres de 2,3-O-isopropilidenotartrato (1,78 g, 7,66 mmol) se disolvieron en MeOH (10 ml) y se agitaron a temperatura ambiente según se añadía amoníaco metanólico (7 M, 1,09 ml, 7,66 mmol). La solución se agitó durante dos días a temperatura ambiente antes de preabsorberse directamente sobre una pequeña cantidad de sílice y el producto en crudo se fraccionó por gradiente de elución con acetato de etilo al 50%/hexano para dar la tartrama (0,67 g, 43%) en forma de un aceite que solidificó fácilmente. ^1H RMN (CDCl_3) δ 6,52 (s a, 2H), 6,34 (s a, 2H), 4,73 (s, 2H), 3,84 (s, 3H), 1,52 (s, 3H), 1,48 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 173,0, 170,9, 113,9, 77,8, 77,4, 53,2, 27,0, 26,5. HRMS $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NC}_5^{23}\text{NaS}$ (M^{23}Na)+ requiere 226,0691, observado 226,0696.

Ejemplo 12.3 - Síntesis de (2R/S,3R/S) 2,3-O-Isopropilideno-1-amino-2,3,4-butanotriol

[00105] El tartrama éster (0,83 g, 4,08 mmol) se disolvió en THF anhídrico (10 ml) y se añadió gota a gota a una suspensión de LAH en THF (60 ml) a temperatura ambiente. Después, la mezcla se calentó a reflujo durante 4 h antes de enfriarse en un baño de hielo y se inactivó cuidadosamente usando el método de Feiser de tres etapas. Los materiales inorgánicos se retiraron por filtración, se aclararon completamente con éter, el filtrado se secó y se concentró para dar un jarabe homogéneo incoloro (0,6 g, 91%) que se usó en la reacción posterior. ^1H RMN (CDCl_3) δ 3,68 (m, 2 H), 3,47 (dd, J = 10,8, 4,2 Hz y campo superior a 10,8, 5,2 Hz, 2H), 3,13 (s a, 2H), 2,70 (d de ABC, campo inferior a J = 12,8, 4,8 Hz y campo superior a 12,8, 5,2 Hz, 2H), 1,30 (s, 3H), 1,29 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 107,9, 70,8, 80,2, 62,3, 43,9, 27,5, 27,4. LR-ESMS MH^+ 162,1112.

Ejemplo 12.4 - Síntesis de N-[5-(Bencilogoximetil)-4-metoxi-5H pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il]metilamino (2R/S,3R/S)-2,3-O-isopropilideno-2,3,4-butanotriol

[00106] A una mezcla de 5-(bencilogoximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidina-7-carbaldehído (0,59 g, 1,98 mmol), (2RS,3RS)-2,3-isopropilideno-1-amino-2,3,4-butanotriol (0,41 g, 2,54 mmol) en 1,2-dicloroetano (10 ml) que contenía sulfato de magnesio anhídrico (1,0 g) se le añadió, en una sola porción, triacetoxiborohidruro sódico (0,70 g, 3,31 mmol) y el conjunto se agitó durante una noche a temp. ambiente. La mezcla se diluyó con DCM y se lavó con una solución saturada de bicarbonato sódico antes de secarse y concentrarse para dar un jarabe inmóvil (0,92 g). El N-[5-(bencilogoximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il]metil-1-amino(2R/S,3R/S)-2,3-O-isopropilideno-2,3,4-butanotriol se recuperó por cromatografía ultrarrápida (sin preabsorción) sobre sílice eluyendo con MeOH del 2 al 5%/EtOAc en forma de un jarabe inmóvil incoloro (0,65 g, 58%). ^1H RMN (CDCl_3) δ 8,56 (s, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,37-7,21 (m, 5H), 5,74 (s, 2H), 4,53 (s, 2H), 4,14 (s, 3H), 4,05 (s, 2H), 3,84 (m, 3H), 3,62 (m, 1H, campo superior a de CH_2 ABC; 3,15 dd J = 12,1, 3,0 Hz, campo inferior a de CH_2 ABC, 1H), 2,74 m, campo superior a de CH_2 ABC, 1H), 1,41 (s, 3H), 1,30 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 156,7, 150,5, 150,3, 137,3, 131,5, 128,8, 128,4, 128,1, 116,3, 115,2, 108,9, 82,2, 80,1, 77,4, 70,7, 62,8, 34,0, 50,6, 43,7, 27,3, 27,1. LR-ESMS MNa^+ 465,2144, MH^+ 443,2153 ($\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{C}_5$).

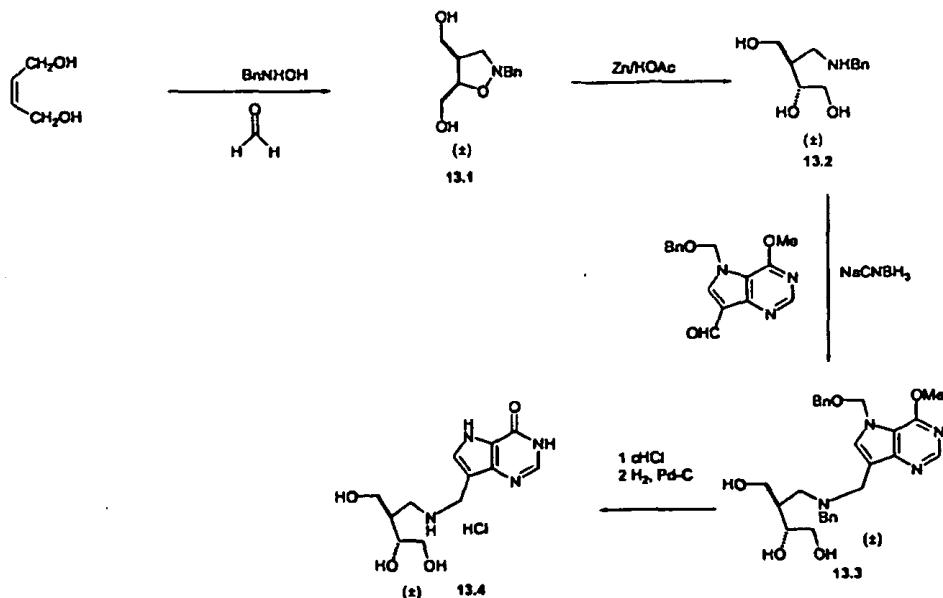
Ejemplo 12.5 - Síntesis de 7-(((2RS,3RS)-2,3,4-trihidroxibutilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

[00107] Una solución de N-[5-(bencilogoximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il]metil-1-amino(2R/S,3R/S)-2,3-isopropilideno-2,3,4-butanotriol (0,48 g, 1,085 mmol) en ácido clorhídrico concentrado (10 ml) se calentó a reflujo durante 3 horas. Después, la solución se enfrió, se concentró, se disolvió de nuevo en metanol (10 ml) que contenía agua (3 ml) y se neutralizó con resina Amberlyst A-21. La resina se retiró por filtración y el filtrado se concentró para dar un jarabe inmóvil (0,35 g), una porción del cual se purificó por RP-HPLC [MeOH al 1%, Phenomenex Synergi 4 μ POLAR RP 80A, 250 x 30 mm] para dar 7-(((2RS,3RS)-2,3,4-trihidroxibutilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona (sal triflato) en forma de una espuma incolora. ^1H RMN (CD_3OD) δ 8,08 (s, 1H), 7,55 (s, 1H), 4,32 (s, 2H), 3,93 (m, 1H), 3,59-3,44 (m, 1H), 3,53 (s, 2H), 3,14 (d, J = 5,9 Hz, 2H). ^{13}C RMN (CD_3OD) δ 162,2, 161,7, 161,2, 160,7, 155,6, 144,8, 143,3, 131,6, 120,1, 107,7, 74,3, 71,1, 63,9, 51,0, 42,3. HR-ESMS MH^+ 269,1241 $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{C}_4$ requiere 269,1250.

[00108]

Ejemplo 13 - Síntesis de clorhidrato de 7-((2RS,3RS)-3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

[00109]



5 **Ejemplo 13.1 - Síntesis de (\pm)-((4R/S, 5R/S)-2-bencilisoxazolidina-4,5-dil)dimetanol**

[00110] Una mezcla de clorhidrato de N-bencilhidroxilamina (13,59 g, 85,15 mmol) y acetato sódico (9,31 g, 114 mmol) se agitaron juntos en etanol (75 ml) a ta durante 15 min. Se añadió una solución acuosa al 37% de formaldehído (12,68 ml, 170 mmol), la agitación continuó durante 30 min, después se añadió cis-2-buteno-1,4-diol (4,67 ml, 56,8 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo durante 16 h. El disolvente se evaporó, el residuo se disolvió en CHCl₃, se lavó con NaHCO₃ ac. sat., se secó (MgSO₄) y el disolvente se evaporó para dar un jarabe de color pardo adecuado para su uso sin purificación adicional (12,5 g, 98%). Una alícuota se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc y después EtOAc-MeOH, 95:5) para dar (\pm)-((4R/S,5R/S)-2-bencilisoxazolidina-4,5-dil)dimetanol en forma de un jarabe incoloro. ¹³C RMN (CDCl₃, referencia a la línea central de CDCl₃ en 77,0 ppm) δ 136,5, 129,0, 128,4, 127,6, 78,5, 62,4, 61,3, 60,4, 56,8, 45,8.

15 **Ejemplo 13.2 - Síntesis de (\pm)-(2R/S,3R/S)-3-((bencilamino)metil)butano-1,2,4-triol**

[00111] Se añadió polvo de cinc (11,13 g, 170 mmol) a una solución del producto del Ejemplo 13.1 (12,5 g, 56,1 mmol) en ácido acético (150 ml) - exotermia a -67 °C - y la mezcla se agitó a ta durante 1 h. La mezcla se filtró, el disolvente se evaporó y el residuo se sometió a cromatografía sobre gel de sílice (CH₂Cl₂-NH₃ 7 M en MeOH, 9:1 y después 8:2) para dar (\pm)-(2R/S, 3R/S)-3-((bencilamino)metil)butano-1,2,4-triol en forma de un jarabe incoloro (5,8 g, 45%). ¹H RMN (CDCl₃) δ 7,33-7,23 (m, 5H), 4,11 (s a, 4H), 3,76-3,66 (m, 5H), 3,61-3,51 (m, 2H), 2,81-2,70 (m, 2H), 1,82 (sextup., J = 5,5 Hz, 1H). ¹³C RMN (CDCl₃, referencia a la línea central de CDCl₃ en 77,0 ppm) δ 138,8,128,5, 128,2, 127,3, 73,3, 64,5, 63,1, 54,0, 49,7, 43,3.

Ejemplo 13.3 - Síntesis de (\pm)-(2R/S,3R/S)-3-((bencil((5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metil)amino)metil)butano-1,2,4-triol

25 [00112] Se añadieron sucesivamente cloruro de acetilo (0,021 ml, 0,301 mmol), 5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidina-7-carbaldehido (0,179 g, 0,602 mmol, preparado como en G.B. Evans, R.H. Furneaux, A. Lewandowicz, V.L. Schramm y P.C. Tyler, J. Med. Chem., 2003, 46, 3412), el producto del Ejemplo 13.2 (0,136 g, 0,602 mmol) y cianoboro-hidruro sódico (0,057 g, 0,903 mmol) a MeOH (6 ml). La mezcla se agitó a ta durante 64 h. El disolvente se evaporó y el residuo se sometió a cromatografía sobre gel de sílice (CH₂Cl₂-NH₃ 7 M en MeOH, 96:4) para dar (\pm)-(2R/S,3R/S)-3-((bencil((5-(benciloximetil)-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metil)amino)metil)butano-1,2,4-triol (0,159 g, 52%) en forma de una goma incolora. ¹H RMN (CD₃OD) δ 8,43 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,32-7,12 (m, 10H), 5,75 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 4,10 (s, 3H), 3,85 (s, 2H), 3,71 (dd, J = 10,9, 4,8 Hz, 1H), 3,65-3,51 (m, 4H), 3,48-3,37 (m, 2H), 2,69-2,57 (m, 2H), 2,19 (m, 1H). ¹³C RMN (CD₃OD, referencia a la línea central de CD₃OD en 49,0 ppm) δ 157,9, 151,3, 150,9, 139,8, 138,7, 135,1, 130,4, 129,3, 128,7, 128,6, 128,2, 116,8,

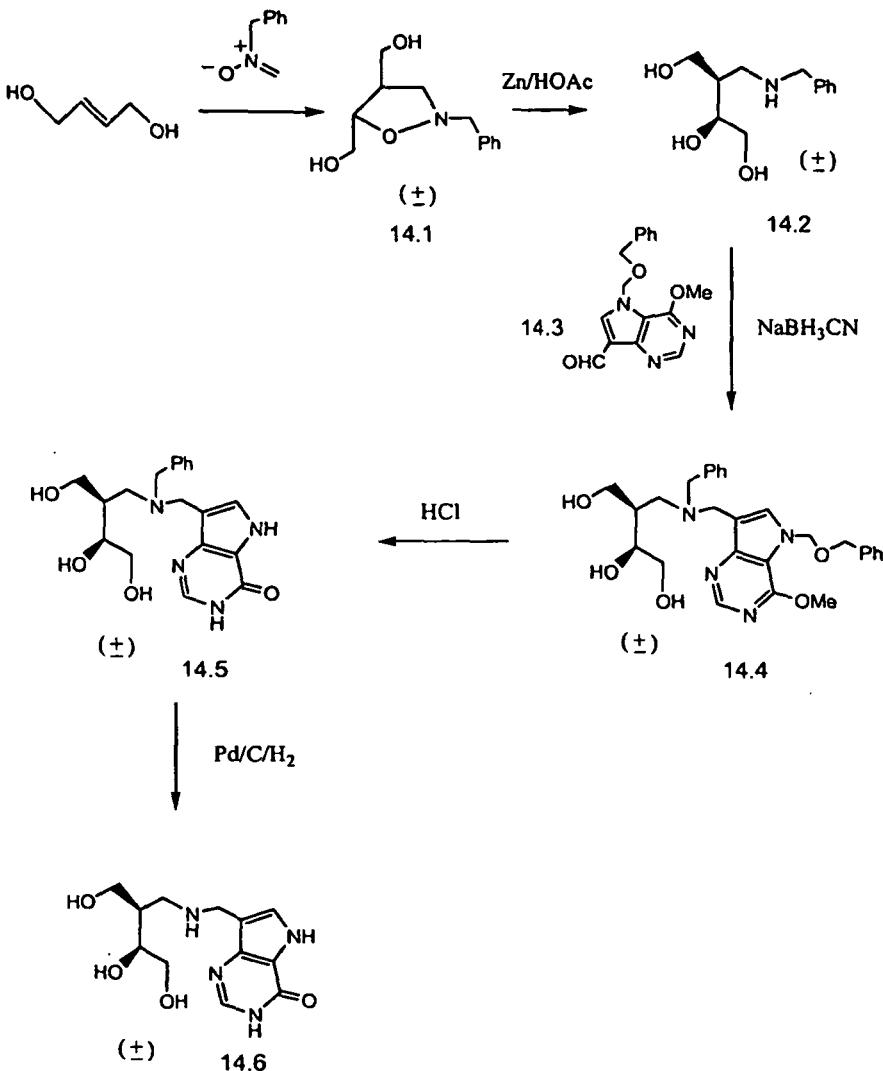
114,2, 78,6, 74,1, 71,6, 65,4, 63,7, 59,9, 55,5, 54,3, 48,5, 42,1. +ESMS Observado 507,2604 (M+H)⁺ C₂₈H₃₅N₄O₅ requiere 507,2607.

Ejemplo 13.4 - Síntesis de clorhidrato de 7-((2RS,3RS)-3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

5 [00113] El producto del Ejemplo 13.3 (0,15 g, 0,296 mmol) se calentó a reflujo en HCl ac. al 37% (4 ml) durante 1,5 h. El disolvente se evaporó para dar una espuma de color crema que se disolvió en una mezcla 1:1 de MeOH:agua (10 ml) y la solución se neutralizó con resina Amberlyst A21. La resina se retiró por filtración y al filtrado se le añadió Pd al 10%-C (50 mg) y la mezcla se agitó en una atmósfera de hidrógeno añadida de un globo durante 1 h. El catalizador de Pd se retiró por filtración sobre Celite y el disolvente se evaporó. El residuo se sometió a 10 cromatografía sobre gel de sílice (5:4:5:0,5 de CH₂Cl₂-MeOH-NH₄OH ac. al 28%) para dar la forma de base libre del producto en forma de un sólido incoloro que se disolvió en HCl ac. al 5% en exceso seguido de evaporación del disolvente para dar el clorhidrato de 7-((2RS,3RS)-3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona racémica en forma de un sólido incoloro (26 mg, 28%). ¹H RMN (D₂O, referencia a la acetona interna en 2,225 ppm) δ 8,82 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 4,48 (s, 2H), 3,81-3,72 (m, 2H), 3,65-3,49 (m, 3H), 3,31-3,19 (m, 2H), 2,25 (m, 1H). ¹³C RMN (D₂O, referencia a la acetona interna en 31,5 ppm) δ 154,3, 145,6, 136,0, 133,6, 119,4, 104,8, 72,0, 64,1, 61,2, 48,5, 42,1, 41,6. +ESMS Observado 283,1406 C₁₂H₁₉N₄O₄ (M+H)⁺ requiere 283,1406 - base libre.

Ejemplo 14 - Síntesis de 7-((2RS,3SR)-3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

20 [00114]



Ejemplo 14.1 - Síntesis de N-Bencil trans-4,5-bis(hidroximetil)isoxazolidina

[00115] Una mezcla de N-bencilhidroxilamina (4,4 g, 27,7 mmol) y NaOAc anhídrico (3,0 g, 36,7 mmol) en 35 ml de EtOH se agitó a temperatura ambiente durante 15 min, después de lo cual se añadió formaldehído (4,1 ml, 55,1 mmol) y la mezcla se agitó durante 30 min más. Después, a la mezcla se le introdujo una solución de (E)-but-2-eno-5,1,4-diol (1,63 g, 18,50 mmol) en etanol (20 ml) en un solo trozo y la solución resultante se calentó a reflujo durante 18 horas. La mezcla se enfrió, se concentró, se recogió en DCM, la solución se lavó con una solución de bicarbonato sódico, se secó y se concentró para dar un aceite inmóvil (5,25 g). El producto en crudo se fraccionó por cromatografía sobre sílice eluyendo en primer lugar con EtOAc y después con MeOH al 5%/EtOAc y el compuesto del título se aisló en forma de un jarabe inmóvil (1,95 g). La cromatografía se repitió con solo EtOAc como eluyente y el compuesto aislado (1,46 g, 35%) en forma de un jarabe homogéneo. ^1H RMN (CDCl_3) δ 7,41-7,22 (m, 5H), 4,10-3,82 (m, 2H), 3,80-3,60 (m, 4H), 3,5-2,3 (m, 5H). ^{13}C RMN 137,0, 129,3, 128,8, 128,0, 81,6, 64,1, 63,0, 58,7, 47,7.

Ejemplo 14.2 - Síntesis de (\pm)-3-[(Bencilamino)metil]butano-1,2,4-triol

[00116] Se añadió polvo de cinc (0,47 g, 7,2 mmol) a una solución de N-bencilo trans-4,5-bis(hidroximetil)isoxazolidina (0,32 g, 1,43 mmol) en ácido acético (6 ml) y la mezcla se agitó vigorosamente durante 1,5 h después de lo cual el material de partida se consumió. La mezcla se filtró a través de un lecho de celite, el filtrado se concentró a sequedad antes de disolverse de nuevo en DCM, se preabsorbió sobre sílice y después se fraccionó por cromatografía, eluyendo isocráticamente con M/NH_3 7 M-MeOH, (4:1) para dar el aminotriol (0,26 g, 81%) en forma de un jarabe inmóvil. ^1H RMN (CDCl_3) δ 3,90 (c, J = 4,0 Hz, 1H), 3,80 (s, 2H), 3,75 (d, J = 5,1 Hz, 2H), 3,66 (dc, J = 11,7, 3,9 Hz, 2H), 2,94 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 1,78 (m, 1H). ^{13}C RMN 138,9, 129,1, 128,7, 127,9, 73,7, 65,4, 65,3, 54,4, 48,9, 43,9. -ESMS - el espectro limpio muestra solo MH^+ (226) y MNa^+ (248), $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{NO}_3$.

Ejemplo 14.3 - Síntesis de 5-(Benciloximetil)-4-cloro-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidina-7-carbaldehído

[00117] A una suspensión de 4-cloro-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidina (4,04 g, 26,3 mmol) en THF (60 ml) mantenida fría en un baño de hielo se le añadió, en porciones durante un periodo de 20 min, hidruro sódico (1,58 g, dispersión al 60%, 39,5 mmol) y la mezcla se agitó durante 15 min más. Después, se añadió gota a gota bencilclorometil éter (6,87 g, 6,12 ml, 26,3 mmol) durante un periodo de 15 min, momento en el que el baño de hielo se retiró y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La solución se volvió a enfriar en hielo, se inactivó con agua (2 ml), después la mezcla se extrajo con (un gran volumen de) DCM (límite de fase clarificado por filtración a través de celite) y la fase orgánica se concentró a sequedad. El producto en crudo se disolvió de nuevo en DCM (100 ml) y se enfrió en un baño de hielo antes de añadir en porciones NBS (4,7 g, 26,41 mmol). La solución resultante se agitó durante 2 h mientras se calentaba a temperatura ambiente y después se concentró directamente sobre sílice. El producto en crudo se fraccionó por cromatografía sobre sílice eluyendo con EtOAc al 20%/hexano para dar el compuesto del título en forma de un aceite (5,28 g, 56,9%) que solidificó fácilmente. ^1H RMN (CDCl_3) δ 8,77 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,40-7,14 (m, 5H), 5,85 (s, 2H), 4,55 (s, 2H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 151,3, 135,9, 129,0, 128,7, 128,1, 77,2, 71,3: no fueron evidentes cuadupletes.

[00118] Se disolvió 7-bromo-5-(benciloximetil)-4-cloro-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidina (3,73 g, 10,6 mmol) en anisol anhídrico (48 ml) y después se diluyó con Et_2O (145 ml) antes de enfriarse a -78 °C, momento en el que se añadió gota a gota N-butil litio (1,48 M en hexano, 9,2 ml, 13,6 mmol) de tal forma que la temperatura no excediera de -70 °C. En los 2 minutos de la adición, se introdujo rápidamente DMF (8,5 ml, 0,123 mol) ($T \leq -68$ °C) y la mezcla se agitó mientras se calentaba a -40 °C, momento en el que se añadió agua (20 ml). Después, la mezcla se extrajo con EtOAc, el extracto se lavó con salmuera, después se secó y se concentró para dar un sólido de color naranja. La purificación de este material se realizó por cromatografía sobre sílice, eluyendo con EtOAc al 20-40%/hexano, para dar (una fracción central) del aldehído del título (1,83 g, 57,3%) en forma de un sólido de color blanquecino. ^1H RMN (CDCl_3) δ 10,35 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,35-7,20 (m, 5H), 5,90 (s, 2H), 4,60 (s, 2H).

Ejemplo 14.4 - Síntesis de (\pm)-3-{Bencil([5-benciloximetil]-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metil)aminometil}butano-1,2,4-triol

[00119] A una solución de (\pm)-3-[(bencilamino)metil]butano-1,2,4-triol (0,25 g, 1,11 mmol) se le añadió 5-benciloxi-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-carbaldehído (0,33 g, 1,11 mmol) en metanol (11 ml) un trozo de 40 μl de cloruro de acetilo y esto se siguió de la adición en una sola porción de cianoborohidruro sódico (0,105 g, 1,67 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante tres días antes de diluirse con DCM y se lavó con una solución saturada de bicarbonato sódico. La solución se secó, se concentró y después se fraccionó por cromatografía sobre sílice eluyendo con NH_3 7 M al 4%-MeOH en DCM para dar el compuesto del título (0,31 g, 55%) en forma de un jarabe inmóvil. ^1H RMN (CDCl_3) δ 8,56 (s, 1H), 7,46-7,17 (m, 11 H), 5,74 (s, 2H), 5,33 (s, 2H), 4,14 (s, 3H), 4,05 (d, J = 14,2 Hz, 1H), 3,92 (d, J = 14,2 Hz, 1H), 3,80-3,41 (m, 7H), 2,90 (dd, J = 13,2, 9,0 Hz, 1H), 2,72 (dd, J = 12,9, 5,1 Hz, 1 H), 2,38 (m, 1H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 156,9, 150,9, 150,7, 138,0, 137,2, 133,5, 129,7, 129,0, 128,9, 128,4, 128,0, 127,9, 112,3, 77,2, 74,3, 70,7, 65,1, 64,5, 59,4, 54,3, 54,1, 46,0, 40,9. HR-ESMS MH^+ 507,2592, $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_5$ requiere 507,2607 Δ = 3,0 ppm.

[00120]

Ejemplo 14.5/14.6 - Síntesis de 7-(((2RS,3SR)-3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona

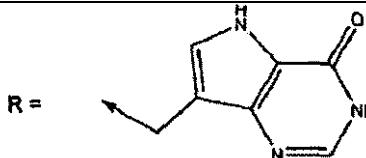
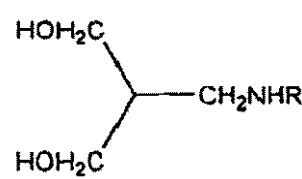
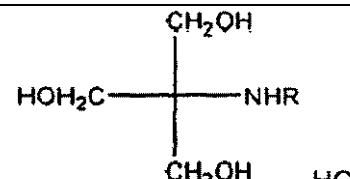
[00121] Una solución de 3-(bencil([5-benciloximetil]-4-metoxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metil)aminometil)butano-1,2,4-triol (0,31 g, 0,612 mmol) se calentó a reflujo en ácido clorhídrico concentrado (8 ml) durante 2,5 h y se concentró a sequedad. El residuo se disolvió de nuevo en metanol (10 ml) y agua (2 ml) y se trató con resina A21 hasta el momento en que se volvió neutro. La resina se recuperó por filtración, el filtrado se concentró y se disolvió de nuevo en metanol (6 ml) y agua (3 ml), se añadió Pd al 10%/C (0,1 g) y la mezcla se hidrogenó durante 2 h. La solución se filtró a través de una capa de celite y se concentró para dar un jarabe inmóvil (0,16 g). El producto se fraccionó sobre sílice eluyendo con DCM/MeOH/NH₃ 0,88 (5:4,5:0,5) y el compuesto del título, en forma de la base libre, se recuperó en forma de un sólido incoloro (0,06 g, 34,7%). ¹H RMN (D₂O+DCl) δ 8,64 (s, 1H), 7,76 (s, 1H), 4,40 (s, 2H), 3,75-3,48 (m, 5H), 3,27-3,20 (m, 2H), 2,13-2,02 (m, 1H). ¹³C RMN (D₂O+DCl) δ 153,73, 144,6, 136,3, 132,5, 118,5, 104,28, 71,2, 63,9, 61,4, 47,2, 41,2, 40,2. HR-ESMS MH⁺ 283,1413 C₁₂H₁₉N₄O₄ requiere MH⁺ 283,1406 Δ 2,5 ppm.

Ejemplo 15 - Estudios de inhibición

[0113] Las constantes de disociación del inhibidor descritas en la Tabla 1 a continuación son para la fosforolisis de inosina por PNP y estaban basadas en mediciones de las velocidades de reacción con diferentes concentraciones de inhibidor. Las reacciones se iniciaron por adición de 0,05 µg de purina nucleósido fosforilasa humana o de *Plasmodium falciparum* (HsPNP y PfPNP, respectivamente; concentración final 1,4 nM) a inosina 1 mM en tampón KPO₄ 50 mM, pH = 7,5 con xantina oxidasa añadida a una concentración final de 60 µU/ml a 25 °C. En el ensayo acoplado, la hipoxantina formada por fosforolisis de inosina se oxidó a ácido úrico y se realizó un seguimiento espectrofotométricamente a 293 nm (coeficiente de extinción para ácido úrico ε₂₉₃ = 12,9 mM⁻¹). La constante de disociación para inhibidores de unión fuerte de inicio lento se determinó a partir de las velocidades de reacción después de que se hubiera producido una inhibición de inicio lento de acuerdo con la ecuación $u = (k_{cat} \times S)/(K_m(1+I/K_d) + S)$, en la que u es la velocidad de reacción en estado estacionario después de que el periodo de inhibición de inicio lento haya alcanzado el equilibrio, k_{cat} es la velocidad a la saturación de sustrato, S es la concentración de sustrato, K_m es la constante de Michaelis para inosina (38 microM en estas condiciones), I es la concentración de inhibidor y K_d es la constante de disociación en equilibrio para el complejo inhibidor de PNP fuertemente inhibido. Para inhibidores sin propiedades de inicio lento, se realizaron ajustes a la misma ecuación, pero usando las velocidades de reacción iniciales.

[0114]

Tabla 1 - Constantes de inhibición con PNP humana y de malaria

Ejemplo Nº	Configuración	Estructura (Usando la fórmula de proyección de Fischer)	K _d frente a HsPNP	K _d frente a PfPNP
		$R =$ 		
Aminas quirales				
6			14,1 ± 1,2 nM	210 ± 50 nM
5			0,62 ± 0,17 nM	163 ± 80 nM

Derivados de glicerol				
2	L-glicero	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{NHR} \\ \\ \text{HO} - \text{C} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	$14,9 \pm 1,7$ nM	$1,8 \pm 0,8$ microM
4	D-glicero	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{NHR} \\ \\ \text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	$4,2 \pm 0,3$ nM	260 ± 30 nM
Derivados de 2-amino-2-desoxi-tetritol				
8	D-eritro	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{NHR} \\ \\ \text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	$5,2 \pm 0,7$ nM	$4,8 \pm 1,8$ microM
3	L-eritro	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{RHN} \\ \\ \text{HO} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	$4,3 \pm 0,7$ nM	770 ± 175 nM
9	D-treo (DATMe-Immucillin-H)	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{RHN} \\ \\ \text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	$8,6 \pm 0,6$ pM	55 ± 12 nM
10	L-treo	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{NHR} \\ \\ \text{HO} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	$1,0 \pm 0,03$ nM	210 ± 40 nM

Derivados de 1-amino-1-desoxi-tetritol

11.3	D-eritro		31 ± 3 nM	12 ± 2 microM
12.5	D,L-treo		84 ± 7 nM	32 ± 2 microM

Derivados de 2-aminometil-2-desoxi-tetritol

13	D,L-eritro		0,78 ± 0,15 nM	2,2 ± 0,3 microM
14	D,L-treo		0,90 ± 0,02 microM	3,5 ± 0,2 microM

Ejemplo 16 - Disponibilidad oral de (2S,3R)-3-((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)-metilamino)butano-1,2,4-triol (Compuesto 9.3)

[0115] Una solución de 25 microlitros que contiene 50 nanomoles de (2S,3R)-3-((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)-metilamino)butano-1,2,4-triol (compuesto 9.3) en sacarosa al 10% se pipeteó en la boca de tres ratones Balb-c que se habían dejado en ayunas durante una noche. Se trató un grupo de control con 25 microlitros de sacarosa al 10% sin inhibidor. Se trató otro grupo de tres ratones por inyección intraperitoneal de 100 microlitros

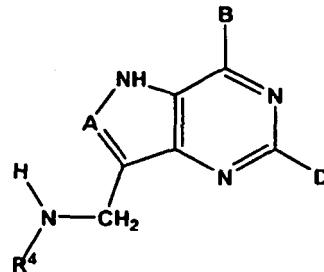
5 de solución salina tamponada con fosfato (PBS; NaCl 137 mM, tampón fosfato 10 mM y KCl 2,7 mM) que contenía 50 nanomoles de compuesto 9.3. Se recogieron pequeñas (8 μ l) muestras de sangre de la cola y se añadieron a 8 μ l de PBS que contenía heparina 1 U y Triton X-100 al 0,3%. La mezcla se mantuvo en hielo durante 25 min y se ensayó inmediatamente o se almacenó a -80 °C para su análisis posterior. Las muestras ensayadas inmediatamente o después del almacenamiento a -80 °C dieron resultados equivalentes. Para la actividad catalítica de PNP de 10 muestras de sangre completa, se añadieron muestras de 3 μ l del lisado a la mezcla de reacción completa (volumen de 1,0 ml) que contenía inosina 1 mM, fosfato 50 mM, pH = 7,4 y xantina oxidasa 60 mU/ml. Después de la mezcla, se siguió el progreso de la reacción espectrofotométricamente a 293 nm. Las reacciones se controlaron durante 4 15 minutos para medir la velocidad inicial de la actividad de purina nucleósido fosforilasa. Todas las velocidades de reacción se normalizaron respecto a la actividad enzimática por la absorbancia de hemoglobina a 412 y 540 nanómetros, medida en la misma cubeta usada para las mezclas de ensayo enzimático y directamente después del periodo de ensayo de 4 min. La Figura 1 muestra que el compuesto 9.3 está disponible por vía oral e inhibe la PNP en ratones durante más de 24 horas.

APLICABILIDAD INDUSTRIAL

[0116] La invención se refiere a compuestos que son inhibidores de PNP y/o NH. Por lo tanto, se espera que los 20 compuestos sean útiles en el tratamiento de enfermedades en las que sea deseable la inhibición de PNP o NH. Dichas enfermedades incluyen cáncer, infección bacteriana, infección protozoaria (incluyendo malaria) y enfermedades mediadas por células T.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (I):



(I)

en la que:

R^4 es dihidroxipropilo, dihidroxibutilo, trihidroxibutilo, dihidroxipentilo o trihidroxipentilo;

5 A es N o CH;

B es OH o alcoxi; y

D es H, OH, NH₂ o SCH₃;

o un tautómero del mismo, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una forma profármaco de éster del mismo.

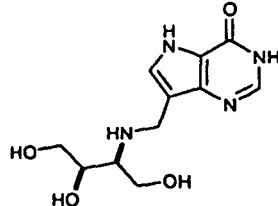
10 2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que A es CH.

3. Un compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que B es OH.

4. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que D es H o NH₂.

5. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que D es H.

6. Un compuesto según la reivindicación 1, que tiene la fórmula:



15

7. Un compuesto según la reivindicación 1 que es:

(2R*,3S*)-3-((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)butano-1,2,4-triol;

clorhidrato de (R)-3-((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)-propano-1,2-diol;

clorhidrato de (2R,3R)-3-((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)metilamino)butano-1,2,4-triol;

20 2-amino-7-((2,4-dihidroxibutilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona;

7-((2,4-dihidroxibutilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona;

2-amino-7-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona;

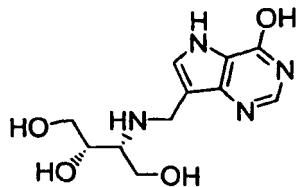
7-((3,4-dihidroxi-2-(hidroximetil)butilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona;

2-amino-7-((3-hidroxi-2-(hidroximetil)propilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona;

7-((3-hidroxi-2-(hidroximetil)propilamino)metil)-3H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-4(5H)-ona:

8. Un isómero óptico o un estereoisómero de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-7.

9. Un compuesto según la reivindicación 1 que es (2S,3R)-3-((4-hidroxi-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidin-7-il)-metilamino)butano-1,2,4-triol, que tiene la fórmula:



10. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.

11. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para el uso como medicamento.

10 12. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para el uso en el tratamiento de una enfermedad o condición en la que sea deseable inhibir una purina nucleósido fosforilasa o una nucleósido hidrolasa.

13. El uso de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad o condición en la que sea deseable inhibir una purina nucleósido fosforilasa o una nucleósido hidrolasa.

15 14. Un compuesto de la reivindicación 12 o un uso de la reivindicación 13 en el que la enfermedad o condición es cáncer, una infección bacteriana, una infección protozoaria o una enfermedad o condición mediada por células T.

15. Un uso o un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, en el que la purina nucleósido fosforilasa es purina nucleósido fosforilasa humana (Hs PNP) o purina nucleósido fosforilasa de *Plasmodium falciparum* (Pf PNP).

FIG. 1

