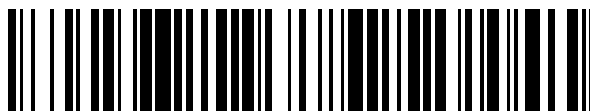


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 370 114**

51 Int. Cl.:
C07D 473/16 (2006.01)
C07D 473/18 (2006.01)
C07D 239/32 (2006.01)
C07D 239/48 (2006.01)
C07D 239/52 (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01)
A61K 31/522 (2006.01)
A61K 31/505 (2006.01)
A61P 31/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03748894 .7**
96 Fecha de presentación: **14.03.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1490368**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.12.2004**

54 Título: **2,2-BIS-(HIDROXIMETIL)CICLOPROPILIDENMETIL-PURINAS Y PIRIMIDINAS COMO AGENTES ANTIVIRALES.**

30 Prioridad:
15.03.2002 US 364518 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
12.12.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
12.12.2011

73 Titular/es:
**WAYNE STATE UNIVERSITY
4017 FACULTY/ADMINISTRATION BUILDING, 656
WEST KIRBY STREET
DETROIT, MI 48202, US y
THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF
MICHIGAN**

72 Inventor/es:
**ZEMLIKA, Jiri;
DRACH, John, C. y
ZHOU, Shaoman**

74 Agente: **Arias Sanz, Juan**

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).

ES 2 370 114 T3

DESCRIPCIÓN

2,2-Bis-(hidroximetil)ciclopropilidenmetil-purinas y pirimidinas como agentes antivirales

Patrocinio

El trabajo en esta invención se apoyó en parte por el Instituto Nacional del Cáncer, subvención n.º RO1 CA32779 e Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas, subvención n.º PO1-AI46390. El gobierno tiene ciertos derechos en la invención.

Campo de la invención

La presente invención se refiere a compuestos de pirimidina y purina novedosos que tienen actividad antiviral y a métodos de preparación y uso de aquellos compuestos.

Antecedentes de la invención

Los virus son la causa etiológica de muchas enfermedades humanas potencialmente mortales. De especial importancia son los virus del herpes tales como el herpes simple 1 (VHS-1), herpes simple 2 (VHS-2), citomegalovirus (CMV), virus de Epstein-Barr (VEB), virus de la varicela zóster (VVZ) y los virus del herpes humano 6, 7 y 8 (VHH-6, -7 y -8) que están asociados con muchas enfermedades virales comunes. Las infecciones por VHS-1 y VHS-2 se caracterizan por herpes febril de piel, boca o región genital. Tras la infección primaria, el virus se esconde en las células neurales y puede reaparecer posteriormente en la vida de un paciente. La infección por CMV humano (CMVH) es una dolencia de por vida que puede dar como resultado morbimortalidad. Estas patologías incluyen microcefalia, hepatosplenomagalia, ictericia, encefalitis, infecciones de recién nacidos o fetos en el útero, e infecciones de huéspedes inmunocomprometidos. La infección por CMVH es responsable de la retinitis, gastritis y neumonitis en pacientes con SIDA y son frecuentes hepatitis o pulmonías inducidas por CMVH y complicaciones graves de trasplantes de médula ósea u órganos. El VEB provoca mononucleosis infecciosa y se considera el agente etiológico del cáncer nasofaríngeo, linfoma inmunoblástico, linfoma de Burkitt's y leucoplasia vellosa. El VVZ provoca la varicela y zóster. Aunque en niños la varicela es habitualmente una enfermedad no mortal, la forma recurrente de esta infección, el zóster, en un estadio avanzado conducir a parálisis, convulsiones y en última instancia la muerte. Nuevamente, en pacientes inmunocomprometidos la infección por VVZ es una complicación grave. El virus del herpes humano 6 (VHH-6) que se asocia comúnmente con el exantema infantil se identificó también en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y puede ser un cofactor en la patogenia del SIDA en huéspedes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Levine, A. J. *Viruses*, cap. 4, W. H. Freeman & Co., Nueva York, págs. 67-85 (1992); Human Herpesvirus Infections, Raven Press, Nueva York (1986); Schirmer, E. C., *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:5922-5926 (1992). El virus del herpes humano 8 (VHH-8) se identificó en pacientes con sarcoma de Kaposi, una dolencia mortal que acompaña al SIDA. Chang, Y., *et al.*, *Science* 266:1865-1869 (1994).

El VIH es la causa subyacente del SIDA, una epidemia mundial con consecuencias mortales. Según el Joint United Nations Programme sobre VIH/SIDA, se estima que 40 millones de personas vivían con VIH/SIDA al final de 2001. Durante ese mismo año, el SIDA provocó la muerte de una estimación de 3 millones de personas.

El virus de la hepatitis B (VHB) es un virus que provoca una enfermedad crónica responsable del daño del hígado grave, incluyendo cirrosis del hígado, cáncer, insuficiencia orgánica y en última instancia, la muerte. Se estima que aproximadamente 300 millones de personas a nivel mundial están infectadas por VHB. Según la CDC, existen aproximadamente 1,25 millones de estadounidenses infectados de manera crónica por VHB. Aunque el uso de una vacuna profiláctica ha reducido la incidencia de nuevas infecciones por VHB, aún existe una necesidad de un fármaco terapéutico eficaz.

Se ha encontrado que diversos derivados de análogos de nucleósido muestran actividad antiviral. De manera notable, aciclovir (Zovirax) y su profármaco valaciclovir (Valtrex) son fármacos aprobados para infecciones provocadas por VHS-1 y VHS-2. Aciclovir Therapy for Herpesvirus Infections (Baker, Ed.), M. Dekker, Nueva York (1990); Frente al CMVH, se encuentran disponibles cuatro fármacos: ganciclovir (Cytovene), cidofovir (Vistide), oligonucleótido antisentido fomivirsén (Vitravene) y foscarnet (Foscivir). Sin embargo, sólo ganciclovir es eficaz por vía oral pero requiere dosis grandes y produce efectos adversos potencialmente graves tales como supresión de la médula ósea. Ganciclovir Therapy for Cytomegalovirus Infection (Spector, S. S., Ed.), M. Dekker, Nueva York (1991). Se realizó un esfuerzo considerable en el diseño, la síntesis y la investigación biológica de análogos de estos fármacos así como en el desarrollo de nuevos agentes antivirales. Larsson, A., *et al.*, *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 30:598-605 (1986); Ashton, W.T., *et al.*, *J. Med. Chem.* 31:2304-2315 (1988). Cidofovir y fomivirsén sólo están aprobados para aplicación tópica contra la retinitis en pacientes con SIDA y foscarnet sólo se usa por vía intravenosa y conduce a una toxicidad característica.

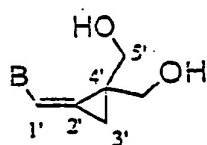
Los fármacos actuales para el SIDA incluyen AZT (zidovudina, Retrovir), ddI (didanosina, Videx), ddC (zalcitabina, Hivid) y d4T (estavudina, Zerit). De Clercq, E., *J. Med. Chem.* 38:2491-2517 (1995). Análogos alénicos de

nucleósido tales como adenileno y citileno son ejemplos de agentes anti-VIH que contienen un grupo alquilo insaturado. La patente estadounidense n.º 4.935.427; Zemlicka, J., *Allenols Derived from Nucleic Acid Bases - a New Class of anti-HIV agents: Chemistry and Biological Activity in Nucleosides and Nucleotides as Antitumor and Antiviral Agents* (Chu, C. K.; Baker, D. C., Eds.), Plenum Press, Nueva York, págs. 73-100 (1993). Para VHB, interferón alfa y 3TC (lamivudine; Epivir) son dos fármacos autorizados para el tratamiento de personas con infección por VHB crónica. Desafortunadamente, sólo aproximadamente el 40% de los pacientes responde a estos fármacos y la resistencia es un problema creciente.

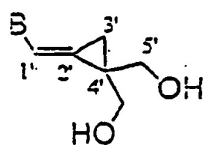
2-Hidroximetilciclopropilidenmetilpurinas particulares y su utilidad frente a ciertos virus se han descrito en otros documentos (véase, por ejemplo, la patente estadounidense 6.352.991 de titularidad conjunta; Qiu, Y. L., *et al.* J. Med Chem. 41:10-23 (1998); Antiviral Chem. Chemother. 9:341-352 (1998)). El documento US 6.352.991 B1 describe compuestos que tienen un hidroximetilo en el anillo de ciclopropilo. Sin embargo, existe aún la necesidad de compuestos novedosos que sean activos contra virus patógenos, incluyendo CMVH, VHS-1, VHS-2, VHH-6, VIH, y virus de la hepatitis B (VHB).

Sumario de la invención

La presente invención describe derivados de 2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropilidenmetilo novedosos y compuestos heterocíclicos y sales farmacológicamente aceptables de los mismos. Se ha encontrado que estos compuestos son agentes antivirales útiles y son eficaces contra CMVH, VHS-1, VHS-2, VIH, VEB y VHB, así como contra otros virus de mamífero. Los compuestos de la presente invención tienen las siguientes fórmulas:



Fórmula 1



Fórmula 2

en las que B es una base o anillo heterocíclico de pirimidina o purina. En una realización preferida, la purina incluye 6-aminopurina (adenina), 6-hidroxipurina (hipoxantina), 2-amino-6-hidroxipurina (guanina), 2,6-diamino-purina, 2-amino-6-azidopurina, purinas 2-amino-6-halógeno-sustituidas tales como 2-amino-6-cloropurina, 2-amino-6-fluoropurina, 2-amino-6-alcoxipurinas tales como 2-amino-6-metoxipurina, 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-ciclopropilaminopurina, 2-amino-6-alquilamino o purinas 2-amino-6-dialquilamino-sustituidas, 2-amino-6-tiopurina, purinas 2-amino-6-alquiltio-sustituidas, 3-desazapurinas, 7-desazapurinas y 8-azapurinas. La pirimidina incorpora citosina, uracilo y timina, citosinas 5-halógeno-sustituidas y uracilos, citosinas 5-alquil-sustituidas y uracilos que incluyen derivados con un grupo alquilo saturado o insaturado y 6-azapirimidinas.

Composiciones útiles para el tratamiento de infecciones virales, tales como CMVH, VHS-1, VHS-2, VHH-6, VIH, VEB y VHB contienen una cantidad eficaz de al menos un compuesto de fórmulas 1 a 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención incluye también un método para sintetizar los compuestos de fórmulas 1 y 2 en el que B es un anillo heterocíclico derivado de un resto de pirimidina o purina tal como 6-aminopurina (adenina), 6-hidroxipurina (hipoxantina), 2-amino-6-hidroxipurina (guanina), 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-azidopurina, purinas 2-amino-6-halógeno-sustituidas tales como 2-amino-6-cloropurina, 2-amino-6-fluoropurina, 2-amino-6-alcoxipurinas tales como 2-amino-6-metoxipurina, 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-ciclopropil-aminopurina, 2-amino-6-alquilamino o purinas 2-amino-6-dialquilamino-sustituidas, 2-amino-6-tiopurina, purinas 2-amino-6-alquiltio-sustituidas, 3- y 7-desazapurinas tales como 3- y 7-desazaadenina, 8-azapurinas tales como 8-azaadenina; citosina, uracilo, 5-halocitosina y 5-halouracilo y derivados de alquilo relacionados que contienen un grupo alquilo saturado o insaturado en la posición 5-), timina, 6-azapirimidinas tales como 6-azacitosina y en el que la cadena lateral alquilo unida al anillo heterocíclico es un resto de 2,2-bis-(hidroxi-metil)ciclopropilidenmetano.

Objetos, ventajas y características adicionales de la presente invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción, junto con los dibujos adjuntos.

Breve descripción de los dibujos

Las diversas ventajas de la presente invención serán evidentes para el experto en la técnica leyendo la siguiente memoria descriptiva y haciendo referencia a los siguientes dibujos en los que:

Las figuras 1 y 2 muestran dos procedimientos para la síntesis de 1,1-dibromo-metil-2,2-bis-

(acetoximetil)ciclopropano (3);

la figura 3 muestra la síntesis de (Z) y (E)-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purinas y -pirimidinas de fórmulas 1 y 2;

5 la figura 4 muestra el método para la separación de (Z)-1-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]citosina (1e) y (E)-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]citosina (2e);

la figura 5 muestra la hidrólisis de (Z)-2-amino-6-cloro-9-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1b) para dar (Z)-9-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]guanina (1c);

la figura 6 muestra la hidrólisis de (E)-2-amino-6-cloro-9-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2b) para dar (E)-9-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]guanina (2c);

10 la figura 7 muestra la síntesis de (Z)-1-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]timina (1f) y (E)-1-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]timina (2f);

la figura 8 muestra la síntesis de (Z)-2-amino-6-metoxi-9-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1g) y (E)-2-amino-6-metoxi-9-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2g);

15 la figura 9 muestra la síntesis de (Z)-2-amino-6-ciclopropilamino-9-[2,2-bis-(hidroxil-metil)ciclopropiliden]metil]purina (1h) y (E)-2-amino-6-ciclopropilamino-9-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2h);

la figura 10 muestra la síntesis de (Z)-2,6-diamino-9-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1o) y (E)-2,6-diamino-9-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2o); y

la figura 11 muestra la síntesis de (Z)-2-amino-6-fluoro-9-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1p) y (E)-2-amino-6-fluoro-9-[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2p).

20 Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Tal como se usa en el presente documento, los siguientes términos deben definirse como sigue (a menos que se indique de otra manera):

25 “Alquilo” significará un radical de hidrocarburo primario, secundario o terciario ramificado o de cadena lineal, que está completamente saturado, normalmente C₁-C₁₈, preferiblemente C₁-C₁₀, y más preferiblemente C₁-C₆. Los grupos alquilo preferidos incluyen, sin limitación, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, isopropilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo, isopentilo, amilo y t-pentilo. Para los fines de esta invención, cualquier carbono en el resto alquilo puede reemplazarse por oxígeno (O), azufre (S) o nitrógeno (N).

30 “Cicloalquilo” significará un radical alquilo mono-, bi- o policíclico. Por conveniencia, el término “cicloalquilo” incluirá también expresamente radicales cicloalquilino cicloalquenilo. Un “cicloalquilo ramificado” significará un anillo de cicloalquilo en el que uno o más miembros de anillo están sustituidos con alquilo. En general, estos anillos serán normalmente C₃-C₁₈, preferiblemente C₃-C₁₀ y más preferiblemente C₃-C₈.

“Halógeno” significará flúor, cloro, bromo o yodo.

35 “Heterociclilo” significará radical un mono-, bi- o policíclico que contiene uno o más anillos que puede(n) estar saturado(s), insaturado(s) o ser aromático(s), en el que al menos un anillo contiene uno o más heteroátomos seleccionados de nitrógeno (N), oxígeno (O) y azufre (S). Los radicales heterociclilo normalmente tienen 3-18 miembros de anillo totales y preferiblemente 3-10 miembros de anillo totales. Preferiblemente, los radicales heterociclilo son monocíclicos (teniendo preferiblemente de 3-8 y más preferiblemente, de 3-6 miembros de anillo) o bicíclicos (teniendo preferiblemente de 6-12 miembros de anillo y más preferiblemente, de 8-10 miembros de anillo). Los heterociclilos adecuados para su uso en los compuestos de esta invención incluyen radicales de (sin limitación)

40 furano, dioxolano, tiofeno, pirrol, pirazol, triazol, imidazol, pirrolidina, pirano, piridina, pirimidina, morfolina, piperidina, oxazol, isoxazol, oxazolona, oxazolidina, oxatiazol, tiazol, isotiazol, tiadiazol, tetrazol, benzofurano, indol, isoindol, quinazolona, quinolina, isoquinolina, purina, pirrolopirimidina, pirrazolopirimidina, pteridina, cetel. Además, los radicales heterociclilo pueden contener uno o más sustituyentes (es decir, un sustituyente de anillo, tal como un átomo de halógeno, un radical alquilo o radical arilo) unido a un átomo de miembro de anillo del radical heterociclilo.

45 En esta definición se contemplan todos los isómeros estables de los grupos heterociclilo.

“Inferior” significará que el grupo al que se aplica preferiblemente tiene de 1-6, y más preferiblemente de 1-4, átomos de carbono, excepto en el caso de anillos (tales como cicloalquilo y heterociclilo), en cuyo caso “inferior” significa 3-6 miembros de anillo.

“Paciente” significará cualquier mamífero de sangre caliente, incluyendo sin limitación, un ser humano.

50 “Sales farmacéuticamente aceptables” significará aquellas sales de cualquier compuesto de esta invención derivadas de una base o ácido orgánico o inorgánico reconocido en la técnica como compatible para composiciones

farmacéuticas. Los ejemplos de ácidos adecuados incluyen ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, perclórico, fumárico, maleico, fosfórico, glicólico, láctico, salicílico, succínico, tolueno-p-sulfónico, tartárico, acético, cítrico, metanosulfúrico, fórmico, benzoico, malónico, naftaleno-2-sulfónico y bencenosulfónico. Otros ácidos tales como el oxálico, aunque no son en sí farmacéuticamente aceptables, pueden ser útiles como productos intermedios para obtener los compuestos de la invención y sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables. Las sales derivadas de bases apropiadas incluyen las sales de metal alcalino (por ejemplo, sodio, potasio), de metal alcalinotérreo (por ejemplo, magnesio), amonio y NR_4^+ (en el que R es un alquilo C_{1-4}), y similares. La referencia a un compuesto según la invención se entiende que incluye cualquiera y todas las sales farmacéuticamente aceptables correspondientes del mismo. Por conveniencia, los términos "producto farmacéutico" y "farmacéuticamente aceptable" se entiende que abarcan compuestos aceptables para la práctica de medicina veterinaria también.

"Vehículos farmacéuticamente aceptables" para su uso en las formulaciones de esta invención son vehículos que son compatibles con los otros componentes de la formulación y no son perjudiciales para el receptor de los mismos.

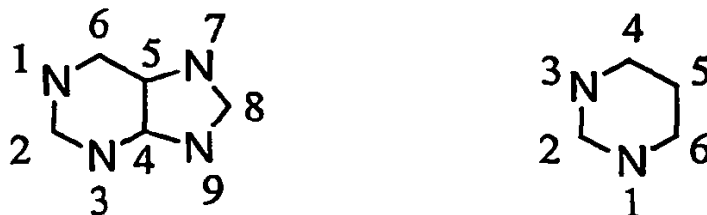
"Terapia" y "terapéutico" significarán el tratamiento de un individuo para una enfermedad o infección viral. Por conveniencia, se entiende también que estos términos abarcan la administración o el uso preventivo o profiláctico de un compuesto de esta invención. Tal uso preventivo o profiláctico se muestra a modo de ejemplo mediante la administración de un agente antiviral a un individuo(s) sospechoso(s), pero que no se ha comprobado, de tener una infección viral o a un individuo(s) susceptible de contraer una infección viral patogénica debido al contacto con objetos contaminados, o al contacto con otros individuos que portan una enfermedad viral contagiosa.

Todos los documentos publicados a los que se hace referencia en el presente documento se incorporan expresamente en el presente documento como referencia.

Los compuestos de la presente invención que se ha encontrado que son eficaces contra virus del herpes tales como citomegalovirus humano (CMVH) y virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1), virus de la inmunodeficiencia humana y virus de la hepatitis B, son compuestos de fórmulas de 1 a 2, en los que B representa un anillo heterocíclico derivado de un resto de purina (preferiblemente unido a través de la posición 9) o un resto de pirimidina (preferiblemente unido mediante la posición 1) tal como 6-aminopurina (adenina), 6-hidroxipurina (hipoxantina), 2-amino-6-hidroxipurina (guanina), 2,6-diamino-purina, 2-amino-6-azidopurina, purinas 2-amino-6-halógeno-sustituidas tales como 2-amino-6-cloropurina, 2-amino-6-fluoropurina, 2-amino-6-alcoxi-purinas tales como 2-amino-6-metoxipurina, 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-ciclopropilaminopurina, 2-amino-6-alquilamino o purinas 2-amino-6-dialquilamino-sustituidas, 2-amino-6-tiopurina, purinas 2-amino-6-alquiltio-sustituidas, 3- y 7-desazapurinas tales como 3- y 7-desazaadenina, 8-azapurinas tales como 8-azaadenina; citosina, 5- halocitosina y 5-halouracilo (en el que halógeno es bromo, cloro, yodo o flúor) y derivados de alquilo relacionados que contienen un grupo alquilo saturado o insaturado en la posición 5), timina, 6-azapirimidinas tales como 6-azacitosina, en el que la cadena lateral de alquilo unida al anillo heterocíclico es un resto de 2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropilidenmetano.

Los compuestos preferidos de la presente invención son (Z)-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]adenina (1a), (Z)-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]guanina (1c), (Z)-1-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]citosina (1e), (Z)-1-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]timina (1f), (E)-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]adenina (2a), (E)-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]guanina (2c), (Z)-2-amino-6-metoxi-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1g) y (E)-2-amino-6-metoxi-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2g). Los compuestos preferidos de la presente invención son también (Z)-2-amino-6-ciclopropilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1h), (E)-2-amino-6-ciclopropilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2h), (Z)-2-amino-6-alilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1i), (E)-2-amino-6-alilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2i); (Z)-2-amino-6-propargilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1j), (E)-2-amino-6-propargilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2j), (Z)-2-amino-6-ciclopropilmetilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1k), (E)-2-amino-6-ciclopropilmetilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2k), (Z)-2-amino-6-propiloxi-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1l), (E)-2-amino-6-propiloxi-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2l), (Z)-2-amino-6-aliloxi-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1m), (E)-2-amino-6-aliloxi-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2m), (Z)-2-amino-6-propiltio-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1n) y (E)-2-amino-6-propiltio-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2n); (Z)-2,6-diamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1o), (E)-2,6-diamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2o), (Z)-2-amino-6-fluoro-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1p) y (E)-2-amino-6-fluoro-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2p).

La nomenclatura de los compuestos de la presente invención sigue las convenciones estándar. La numeración del resto de ciclopropilidenmetano unido al anillo heterocíclico B se muestra en las fórmulas 1 y 2. Los anillos de purina y pirimidina se enumeran tal como se muestra a continuación:



Se aprecia que los anillos heterocíclicos que contienen los grupos aminos e hidroxilo son tautómeros con los compuestos de imino y oxo correspondientes. Para fines de claridad, se observa que la fórmula 1 es el isómero Z y la fórmula 2 es el isómero E de los compuestos de 2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropilidenmetil novedosos de esta invención.

Las síntesis de compuestos mostrados a modo de ejemplo de la presente invención se resumen en las figuras 1 a 8. Generalmente, 1-halo-1-halometil-2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropanos O-protectados de manera adecuada pueden servir como agentes alquilantes. El reactivo preferido, 1,1-dibromometil-2,2-bis-(acetoximetil)-ciclopropano (3), se preparó tal como se muestra en la figura 1. Se convirtió isopropiliden-malonato de dietilo (4) comercialmente disponible en derivado de bromo 5. Entonces el compuesto 5 se transformó en una mezcla 1:1 de isopropiliden-malonato de dietilo (4) y metilen-ciclopropan-1,1-dicarboxilato de dietilo (6) mediante una modificación del procedimiento descrito. Ullman, E. F., J. Am. Chem. Soc. 81:5386-5392 (1959). Se separaron los compuestos 4 y 6 mediante cromatografía en una columna de gel de sílice y se redujo metilen-ciclopropan-1,1-dicarboxilato de dietilo (6) a 2,2-bis-(hidroximetil)metilenciclopropano (7) mediante hidruro de litio y aluminio en éter tal como se describe por Dolbier, W. R., *et al.*, J. Am. Chem. Soc. 93:3933-3940 (1971). La acetilación con anhídrido acético en piridina proporcionó 1,1-bis-(acetoximetil)metilenciclopropano (8). La adición de bromo elemental en un disolvente adecuado tal como tetracloruro de carbono dio 1,1-dibromometil-2,2-bis-(acetoximetil)-ciclopropano (3).

Alternativamente, tal como se muestra en la figura 2, una mezcla de metilenciclopropano-2,2-dicarboxilato (6) e isopropiliden-malonato de dietilo (4) se redujo con hidruro de litio y aluminio para dar 2-isopropilidenpropano-1,3-diol (9) y 2,2-bis-(hidroximetil)metilen-ciclopropano (7). La acetilación proporcionó los acetatos 8+10 correspondientes. Las mezclas de los compuestos 7 + 9 y 8 + 10 no pueden separarse mediante cromatografía en una columna de gel de sílice. En la siguiente etapa, se realizó la adición de bromo en los compuestos 8 + 10 usando perbromuro de piridinio en diclorometano para proporcionar 1,1-bis(acetoximetil)-1,2-dibromo-2,2-dimetiletano (11) y 1,1-dibromometil-2,2-bis-(acetoximetil)ciclopropano (3) que se separaron mediante cromatografía en una columna de gel de sílice.

Se usó el 1,1-dibromometil-2,2-bis-(acetoximetil)ciclopropano (3) como agente alquilante junto con una base de ácido nucleico apropiada adenina (12a) o precursor 2-amino-6-cloropurina (12b) o N⁴-acetilcitosina (12d). La alquilación efectuada por el carbonato de potasio en un disolvente orgánico, por ejemplo, N,N-dimetilformamida, a una temperatura elevada, por ejemplo, 100°C, fue acompañada por la eliminación de elementos de bromuro de hidrógeno para dar la mezclas isoméricas de (Z)- y (E)-9-1-[[2,2-bis-(acetoximetil)ciclopropiliden]-metil]adeninas 13a y 14a o (Z)- y (E)-2-amino-6-cloro-9-[[2,2-bis-(acetoximetil)ciclopropiliden]-metil]purinas 13b y 14b o (Z)- y (E)-1-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]-metil]citosinas 1e y 2e. En el último caso, se retiraron los grupos N-acetilo y O-acetilo mediante un tratamiento final de la mezcla de reacción con metanol a una temperatura elevada. La desacetilación de los productos intermedios 13a + 14a o 13b + 14b se realizó con carbonato de potasio en metanol acuoso para dar las (Z)- y (E)-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]-adeninas 1a y 2a o (Z)- y (E)-2-amino-6-cloro-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclo-propiliden]metil]purinas 1b y 2b que se separaron mediante cromatografía en gel de sílice (figura 3).

Debido a que la mezcla de 1e + 2e no podía separarse mediante cromatografía, se convirtió en los derivados de N⁴-benzoílo 15 y 16 mediante anhídrido benzoico en etanol. Este método se usó anteriormente para las 1-[[2-(hidroximetil)ciclopropilidenmetil]citosinas. Qiu, Y.-L., *et al.*, Antiviral Chem. Chemother. 9:341-352 (1998). Los derivados de (Z)- y (E)-N⁴-benzoílo 15 y 16 se separaron mediante cromatografía en gel de sílice. Los isómeros individuales 15 y 16 se desbenzoilaron con amoníaco en metanol para proporcionar (Z)-1-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]citosina (1e) y (E)-1-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]citosina (2e) (figura 4).

La hidrólisis de los compuestos 1b y 2b separados con ácido fórmico dio (Z)-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]guanina (1c) (figura 5) y (E)-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]guanina (2c) (figura 6).

Para los análogos de timina 1f y 2f se adoptó un enfoque diferente. La 2,4-bis-(trimetilsililo)-5-metilpirimidina (17) (preparada tal como se describe por Iwai I., *et al.*, En: Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry, Vol. 1 (Editores Zorbach, W. W. y Tipson, R. S.), John Wiley and Sons, Nueva York, 1968, págs. 338-394) se sometió a

reflujo con agente alquilante 3 en acetonitrilo durante un periodo de tiempo prolongado para dar el producto intermedio 18. En una etapa posterior, se realizó la eliminación de elementos de HBr usando carbonato de potasio en N,N-dimetilformamida. Finalmente, la desacetilación con carbonato de potasio en metanol acuoso proporcionó (Z)-1-[[2,2-bis-(hidroximetil)-ciclopropiliden]metil]timina (1f) y (E)-1-[[2,2-bis-(hidroximetil)-ciclopropiliden]metil]timina (2f) que se separaron mediante cromatografía en gel de sílice (figura 7).

La reacción del compuesto 1b o 2b con metanol y carbonato de potasio dio (Z)-2-amino-6-metoxi-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]-metilpurina (1g) o (E)-2-amino-6-metoxi-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metilpurina (2g).

La reacción del compuesto 1b o 2b con ciclopropilamina dio (Z)-2-amino-6-ciclopropilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metilpurina (1h) o (E)-2-amino-6-ciclopropilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metilpurina (2h).

La reacción del compuesto 1a o 1b con amoníaco dio (Z)-2,6-diamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metilpurina (1o) o (E)-2,6-diamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metilpurina (2o).

La reacción del compuesto 1b o 2b con menos de la cantidad estequiométrica de trimetilamina y fluoruro de potasio dio (Z)-2-amino-6-fluoro-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metilpurina (1p) o (E)-2-amino-6-fluoro-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metilpurina (2p).

Las composiciones dentro del alcance de la invención incluyen aquellas que comprenden un compuesto novedoso de la presente invención en una cantidad eficaz para lograr un fin pretendido. La determinación de una cantidad eficaz y el fin pretendido está dentro de la experiencia de la técnica. Las dosificaciones preferidas, que dependen por ejemplo, de la gravedad de la infección y la respuesta del paciente individual al tratamiento, pueden oscilar desde aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal para dar una concentración en sangre que oscila desde 0,05 µg hasta aproximadamente 5 mg por ml de sangre completa.

Tal como se usa en el presente documento, el término “sales farmacéuticamente aceptables” pretende significar sales de los compuestos de la presente invención con ácidos farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como sulfúrico, clorhídrico, fosfórico, etc. o ácidos orgánicos tales como acético o succínico.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención también pueden incluir vehículos adecuados que comprenden excipientes y agentes auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente. Tales preparaciones, preferiblemente aquellas que pueden administrarse por vía oral, incluyen comprimidos, grageas y cápsulas. Preparaciones preferidas adicionales son aquellas que pueden administrarse por vía rectal, tales como supositorios, así como disoluciones adecuadas para la administración mediante inyección o por vía oral, contienen de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 99%, preferiblemente del 25 al 85%, del compuesto activo de la presente invención, junto con el excipiente.

Las preparaciones farmacéuticas de la presente invención se preparan de una manera en sí conocida, por ejemplo, usando los procesos convencionales de mezclado, granulación, preparación de grageas, disolución o liofilización. Por tanto, las preparaciones farmacéuticas para uso oral pueden obtenerse combinando los compuestos activos con excipientes sólidos, opcionalmente moliendo la mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, tras la adición de agentes auxiliares adecuados, si se desea o es necesario, para obtener núcleos de grageas o comprimidos.

Excipientes adecuados son, en particular, cargas tales como azúcares, por ejemplo, lactosa o sacarosa, manitol o sorbitol, preparaciones de celulosa y/o fosfatos de calcio, por ejemplo, fosfato de calcio (por ejemplo, difosfato de tricalcio o hidrogenofosfato de calcio) así como aglutinantes tales como pasta de almidón, usando, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa y/o polivinilpirrolidona. Si se desea, pueden añadirse agentes de disgregación, tales como los almidones anteriormente mencionados, carboximetilalmidón, carboximetilcelulosa, polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido alginico o una sal del mismo, tal como alginato de sodio. Agentes auxiliares son, sobre todo, agentes de regulación de flujo y lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico o sales del mismo, tales como estearato de magnesio o estearato de calcio y/o polietilenglicol. Los núcleos de grageas se dotan de recubrimientos adecuados que, si se desea, son resistentes a los jugos gástricos. Para este fin, pueden usarse disoluciones de azúcar concentradas, que pueden contener opcionalmente goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, disoluciones de laca y un disolvente orgánico adecuado o mezclas de disolventes. Con el fin de producir recubrimientos resistentes a los jugos gástricos, se utilizan disoluciones de preparaciones de celulosa adecuadas, tales como ftalato de acetilcelulosa o ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa. Pueden añadirse colorantes o pigmentos a los comprimidos o recubrimientos para grageas, por ejemplo, para la identificación o con el fin de caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuesto activo.

Otras preparaciones farmacéuticas que pueden usarse por vía oral incluyen cápsulas duras compuestas de gelatina, así como cápsulas blandas, selladas compuestas de gelatina y un plastificante tal como glicerol o sorbitol. Las

cápsulas duras pueden contener los compuestos activos en forma de gránulos que pueden mezclarse con cargas, tales como lactosa, aglutinantes tales como almidones y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, los principios activos se disuelven o suspenden preferiblemente en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. Además, pueden usarse estabilizantes.

Posibles preparaciones farmacéuticas que pueden usarse por vía rectal incluyen, por ejemplo, supositorios que consisten en una combinación de los compuestos activos con una base de supositorio. Bases de supositorio adecuadas son, por ejemplo, triglicéridos naturales o sintéticos, hidrocarburos parafinicos, polietilenglicoles o alcanos superiores. También es posible usar cápsulas rectales de gelatina que consisten en una combinación de los compuestos activos con una base. Posibles materiales de base incluyen, por ejemplo, triglicéridos líquidos, polietilenglicoles o hidrocarburos parafinicos.

Formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen disoluciones acuosas de los principios activos en una forma soluble en agua, por ejemplo, sales solubles en agua. Además, puede administrarse una suspensión de los compuestos activos como suspensiones para inyección aceitosas apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos, tales como aceite de sésamo o ésteres de ácidos grasos sintéticos, por ejemplo, oleato de etilo o triglicéridos. Las suspensiones acuosas para inyección pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilmetilcelulosa, sorbitol y/o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes.

Alternativamente, los compuestos activos de la presente invención pueden administrarse en forma de liposomas, composiciones farmacéuticas en las que el compuesto activo está contenido o bien dispersado o bien presente de manera diversa en corpúsculos que consisten en fases de concentrado acuosas que se adhieren a la capa lipídica hidrófila. El compuesto activo puede estar presente tanto en la fase acuosa como en la fase lipídica o en el sistema no homogéneo generalmente conocido como suspensión lipófila.

Se apreciará que los compuestos activos de la presente invención pueden administrarse en combinación con agentes antivirales conocidos, por ejemplo, aciclovir, ganciclovir, foscarnet, cidofovir, fomivirsén, zidovudina, AZT, ddI, ddC, 3TC y d4T.

Se dan a conocer en el contexto de la presente invención profármacos de los compuestos de fórmulas 1 y 2. Los profármacos de los compuestos antivirales tal como se dan a conocer en el contexto de la presente invención pueden incluir, por ejemplo, amidatos o ésteres de fosfato lipófilos que pueden penetrar en la membrana celular. Los expertos en la técnica apreciarán que el objetivo de los profármacos es proporcionar agentes terapéuticos eficaces para cepas resistentes de virus (McGuigan, C., *et al.*, J. Med. Chem. 36: 1048-1052 (1993)) o activar análogos inactivos. Franchetti, P., *et al.*, J. Med. Chem. 37:3534-3541 (1994). Véase también "The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action" capítulo 8, R. B. Silverman, Academic Press (San Diego), 1992.

Los siguientes ejemplos describen adicionalmente los compuestos de la presente invención y los esquemas de síntesis para producir los mismos.

Ejemplo 1 - Síntesis de bromo-isopropilidenmalonato de dietilo (5).

Se sometió a reflujo isopropilidenmalonato de dietilo (4, 50 g, 0,25 moles) con agitación con N-bromosuccinimida (44,3 g, 0,25 moles) y peróxido de dibenzoilo (1,0 g, 4,1 mmoles) en tetracloruro de carbono (100 ml) con iluminación usando la lámpara ELH de proyector de diapositivas Kodak Ectagraphic (300 vatios) durante 1,5 h. Se completó la reacción tal como se indicó mediante una prueba de almidón-yodo negativa para N-bromosuccinimida. Se diluyó la mezcla resultante con tetracloruro de carbono (100 ml) y se enfrió en un baño de hielo. Se separó por filtración la succinimida precipitada y se evaporó el filtrado a vacío a temperatura ambiente. Se usó el aceite amarillo pálido residual de bromo-isopropiliden-malonato de dietilo (5, 71,1 g) sin purificación en el ejemplo 2.

Ejemplo 2 - Metilenciclopropano-2,2-dicarboxilato de dietilo (6).

Se añadió el compuesto 5 (43,4 g, 0,156 moles) del ejemplo 1 a una disolución a reflujo vigorosamente agitada de terc-butoxido de potasio (17,5 g, 0,156 moles) en alcohol terc-butílico (500 ml) bajo nitrógeno. Se continuó la agitación durante 15 min. y se enfrió inmediatamente la mezcla en un baño de hielo. Entonces se añadió ácido acético, se separó por filtración la parte sólida y se lavó meticulosamente con éter. Se concentró a vacío el filtrado, se diluyó con éter y se lavó la fase orgánica varias veces con agua. Tras secar con sulfato de magnesio, se evaporó la disolución a vacío y se destiló el residuo, pe. 99-93°C/0,3 torr, rendimiento 14,8 g (47%) de una mezcla 1:1 de 4 + 6. Se sometió a cromatografía esta mezcla en una columna de gel de sílice usando en primer lugar hexanos - éter (40:1) y luego (20:1) para dar el producto 6 (7,3 g, 23%) como un líquido incoloro.

¹H-RMN (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,24 (t, 6H, J = 7,2 Hz, CH₃), 2,15 (t, 2H, J = 2,4 Hz, H₃), 4,17 (q, 4H, J = 7,2 Hz, OCH₂), 5,53 (t, 1H, J = 2,1 Hz) y 5,62 (s, 1H, J = 2,6 Hz, C=CH₂). ¹³C-RMN (CDCl₃, 75 MHz) ppm 14,21 (CH₃), 18,24 (C₃), 23,26 (C₂), 61,02 (CH₂O), 105,20 (=CH₂), 130,46 (C₁), 167,91 (CO).

Ejemplo 3 - 2,2-(Bis-hidroximetil)metilenciclopropano (7).

Se añadió una disolución de metilenciclopropan-1,1-dicarboxilato de dietilo (6,650 g, 32 mmoles) del ejemplo 2 en éter (60 ml) a una suspensión agitada de hidruro de litio y aluminio (1,90 g, 51 mmoles) en éter (50 ml) a una velocidad tal para mantener un reflujo suave. Se sometió a reflujo la mezcla resultante durante 15 h. Entonces se extinguió cuidadosamente con agua (4 ml) e hidróxido de sodio 2 M (8 ml). Se separó la fase de éter y se extrajo el precipitado blanco restante con éter. Se separó por destilación el éter de las fases orgánicas combinadas usando una columna Vigreux para dar 2,2-bis-(hidroximetil)metilenciclopropano (7, 2,84 g, 78% de rendimiento) como un residuo (aceite incoloro). El espectro ^1H -RMN era idéntico al descrito por Dolbier, W. R., *et al.*, J. Am. Chem. Soc. 93:3933-3940 (1971).

Ejemplo 4 - 2,2-Bis-(acetoximetil)metilenciclopropano (8).

A una disolución del compuesto 7 (2,65 g, 23 mmoles) del ejemplo 3 en piridina (6 ml) se le añadió gota a gota anhídrido acético (13 ml) con agitación a temperatura ambiente. Se continuó la agitación durante 16 h. Se extinguió la reacción con agua y se extrajo el producto con pentano frío (4°C) (70 ml) a 4°C. Se lavó sucesivamente la fase orgánica combinada con sulfato de cobre acuoso saturado, ácido clorhídrico al 5%, hidrogenocarbonato de sodio acuoso y salmuera. Entonces se secó con sulfato de magnesio, se evaporó el disolvente a vacío y se sometió a cromatografía el residuo en una columna de gel de sílice (hexanos - éter, 20 : 1) para dar el compuesto 8 como un líquido incoloro (4,28 g, 93%).

^1H -RMN (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1,34 (t, 2H, J = 2,1 Hz, H_3), 2,07 (s, 6H, CH_3), 4,07 (AB, 4H, $J_{\text{AB}} = 11,6$ Hz, OCH_2), 5,46 (t, J = 1,8 Hz, 1H) y 5,40 (t, 1H, J = 2,7 Hz, $\text{C}=\text{CH}_2$). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , 75 MHz) ppm 14,32 (C_3), 21,14 (CH_3), 22,94 (C_2), 66,30 (CH_2O), 105,96 ($=\text{CH}_2$), 134,05 (C_1), 171,26 (CO). CI-EM 199 (M + H, 0,27), 57 (100,0).

Ejemplo 5 - 1,1-Bis-(acetoximetil-2-bromo-2-(bromometil)-ciclopropano (3) a partir de 2,2-(bis-acetoximetil)metilenciclopropano (3).

Se añadió gota a gota bromo (3,2 g, 20 mmoles) a una disolución del compuesto 8 (3,95 g, 20,0 mmoles) del ejemplo 4 en tetracloruro de carbono (30 ml) con agitación a 0°C. Se continuó la agitación durante 30 min. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (100 ml) y se lavó la fase orgánica con disolución acuosa saturada de tiosulfato de sodio e hidrogenocarbonato de sodio y entonces con agua. Tras secar con sulfato de magnesio, se evaporaron los disolventes a vacío y se sometió a cromatografía el residuo en una columna de gel de sílice (hexanos - acetato de etilo, 10:1 y entonces 5:1) para dar el compuesto 3 como un sólido blanco (4,15 g, 58%).

Pf. 56-58°C. ^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 1,33 (d, 1H, J = 7,2 Hz) y 1,46 (d, 1H, J = 7,2 Hz, H_2), 2,08 (s, 3H) y 2,10 (s, 3H, CH_3), 3,75 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 3,96 (d, 1H, J = 11,2 Hz), 4,23 (m, 3H) y 4,48 (d, 1H, J = 12 Hz, $\text{CH}_2\text{Br} + \text{OCH}_2$). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , 100 MHz) ppm 21,12 (C_2), 27,22 (CH_3), 32,08 (C_3), 41,47 (CH_2Br), 42,48 (C_1), 62,32 y 68,12 (CH_2O), 170,96 y 171,01 (CO). CI-EM 361,359 y 357 (M + H, 21,3, 42,8 y 22,0), 299 (100,0), 277 y 279 (M - Br, 68,2 y 68,0). EI-HR-EM calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{14}^{79}\text{Br}_2\text{O}_4$ - Br: 277,0075, hallado: 277,0074. Calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{Br}_2\text{O}_4$: C, 33,55; H, 3,94; Br, 44,64. Hallado: C, 33,75; H, 4,10; Br, 44,80.

Ejemplo 6 - 1,1-Bis-(acetoximetil-2-bromo-2-(bromometil)-ciclopropano (3) a partir de una mezcla de los compuestos 4 y 6.

Se redujo una mezcla de los compuestos 4 + 6 (2,0 g, 10 mmoles) del ejemplo 2 con hidruro de litio y aluminio en éter tal como se describe en el ejemplo 3. Se usó directamente la mezcla obtenida de dioles 7 y 9 (866 mg, 76%) en la siguiente etapa.

^1H -RMN (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1,20 (t, 2H, J = 2,1 Hz, ciclopropano del compuesto 7), 1,76 (12H, CH_3 de los compuestos 7 + 9), 3,65 (AB, 4H, J = 10,8 Hz, CH_2O del compuesto 7), 4,27 (s, 4H, CH_2O del compuesto 9), 5,38 (s, 1H) y 5,47 (t, 1H, J = 2,1 Hz, $\text{CH}_2=$ del compuesto 7).

Se acetiló una mezcla de los compuestos 7 + 9 (570 mg, 5 mmoles) usando anhídrido acético en piridina tal como se describe en el ejemplo 4 para dar una mezcla 1:1 de acetatos 8 + 10 (915 mg, 92%) que se usó directamente en la siguiente etapa.

Compuesto 10: ^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 1,82 (s, 6H, CH_3), 2,03 (s, 6H, CH_3 de acetilo), 4,65 (s, 4H, CH_2O). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , 100 MHz) ppm 21,06 y 21,20 (CH_3), 62,71 (CH_2O) 123,12 y 141,19 ($\text{C}=\text{C}$), 171,35 (CO).

Los ^1H -RMN y ^{13}C -RMN del compuesto 8 eran idénticos a los facilitados en el ejemplo 4.

Se añadió perbromuro de piridinio (1,60 g, 5 mmoles) a una disolución de una mezcla de los compuestos 8 + 10 (796 mg, 4 mmoles) en diclorometano (50 ml) a 0°C. Entonces se dejó reposar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 15 h. Entonces se añadió acetato de etilo (100 ml) y se lavó la fase orgánica con una disolución saturada de bicarbonato de sodio y tiosulfato de sodio seguido por agua. Tras secar con sulfato de sodio, se evaporaron los disolventes y se sometió a cromatografía el producto bruto en una columna de gel de sílice usando hexanos - acetato de etilo (10:1). En primer lugar se eluyó 1,1-bis(acetoximetil)-1,2-dibromo-2,2-dimetiletano (11)

obtenido como un líquido incoloro (529 mg, 37%) seguido por el compuesto 3 (sólido blanco, 659 mg, 46%).

Compuesto 11: ^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 2,05 (s, 6H, CH_3 de acetilo), 2,15 (s, 6H, CH_3), 4,69 (d, 4H, $J = 1,6$ Hz, CH_2O). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , 400 MHz) ppm 21,20 (CH_3 de acetilo), 33,06 (CH_3), 65,91 (CH_2O), 67,08 y 73,33 (C-Br), 170,19 (CO).

5 El compuesto 3 era idéntico al producto descrito en el ejemplo 5.

Ejemplo 7 - (Z)-9-[[2,2-Bis-(acetoximetil)ciclopropiliden]metil]adenina (13a) y (E)-9-[[2,2-Bis-(acetoximetil)ciclopropiliden]metil]adenina (14a).

10 Se agitó una mezcla de adenina (12a, 3,17 g, 2,35 mmoles), dibromuro 3 (0,84 g, 2,35 mmoles) del ejemplo 5 ó 6 y carbonato de potasio secado a la llama (1,95 g, 14,1 mmoles) en N,N-dimetilformamida (20 ml) a 100°C bajo nitrógeno durante 24 h. Tras enfriar, se separó por filtración la parte insoluble, se lavó con N,N-dimetilformamida y se evaporó el filtrado a vacío. Se sometió a cromatografía el residuo en una columna de gel de sílice usando diclorometano - metanol (20:1) para dar una mezcla de los isómeros E y Z 13a y 14a (330 mg, 42%) como un sólido blanco.

15 Pf. 155-157°C. UV máx. (etanol) 276 nm (ϵ 7.400), 256 nm (ϵ 10.800), 228 nm (ϵ 20.500). ^1H -RMN (CD_3SOCD_3 , 400 MHz) δ 1,61 (s, 2H) y 1,79 (s, 2H, H_3), 2,07 (s, 3H) y 2,10 (s, 3H, CH_3), 4,10 (d, 2H, $J = 8$ Hz), 4,07 (d, 2H, $J = 8$ Hz), 4,28 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz) y 4,43 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz, H_5), 6,05 (s, 2H) y 6,13 (s, 2H, NH_2), 7,56 (s, 1H) y 7,70 (s, 1H, H_1), 8,24 (s, 1H, H_2 , isómero Z), 8,38 (s, 2H, $\text{H}_2 + \text{H}_8$, isómero E), 8,46 (s, 1H, H_8 , isómero Z). ^{13}C -RMN (CD_3SOCD_3 , 100 MHz) ppm 13,27 y 15,84 (C_3), 21,03 y 21,15 (CH_3), 23,41 y 25,09 (C_4), 66,16 y 66,47 (C_5), 113,03 (C_1), 114,69 y 114,83 (C_2 y C_5), 136,95 y 137,92 (C_8), 149,11 (C_4), 153,78 (C_2), 155,83 (C_6), 170,73 y 171,10 (CO). EI-EM 331 (M, 10,1), 272 (99,5), 230 (46,0), 200 (20,1), 136 (100,0), 135 (30,3), 95 (48,1). EI-HR-EM calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_4$: 331,12805, hallado: 331,12806. Anal. calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_4$: C, 54,38; H, 5,17; N, 21,14. Hallado: C, 54,17; H, 5,23; N, 21,29.

Ejemplo 8 - (Z)-9-[[2,2-Bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]adenina (1a) y (E)-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]adenina (2a).

25 Se agitó una mezcla de compuestos 13a + 14a (309 mg, 0,93 mmoles) del ejemplo 7 y carbonato de potasio (0,83 g, 6 mmoles) en metanol - agua (9:1, 30 ml) a temperatura ambiente para 12 h tras lo cual CCF mostró una reacción completa. Se añadió cuidadosamente ácido acético y se evaporó la mezcla a vacío. Se sometió a cromatografía el residuo en diclorometano - metanol (10:1) para dar isómeros Z y E 1a y 2a.

30 Isómero Z 1a (87 mg, 38%): Pf. 239-242°C. UV máx. (etanol) 276 nm (ϵ 8.200), 262 nm (ϵ 11.700), 227 nm (ϵ 25.200). ^1H -RMN (CD_3SOCD_3 , 400 MHz) δ 1,34 (s, 2H, H_3), 3,52, 3,68 y 3,53, 3,67 (2AB, $^2J = 11,0$ Hz, 4H, H_5), 5,07 (t, 2H, $^3J = 4,0$ Hz OH), 7,37 (s, 1H, H_1), 7,36 (s, 2H, NH_2), 8,17 (s, 1H, H_2), 8,82 (s, 1H, H_8). ^{13}C -RMN (CD_3SOCD_3 , 100 MHz) ppm 11,65 (C_3), 31,41 (C_4), 62,84 (C_5), 111,12 (C_1), 118,51 (C_2), 119,09 (C_5), 138,48 (C_8), 148,59 (C_4), 153,61 (C_2), 156,69 (C_6). EI-EM 247 (M, 9,1), 230 (14,3), 200 (23,9), 136 (100,0), 135 (56,0), 69 (24,2). EI-HR-EM Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2$: 247,1069, hallado: 247,1069. Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2$: C, 53,43; H, 5,30; N, 28,32. Hallado: C, 53,21; H, 5,33; N, 28,57.

35 Isómero E 2a (66 mg, 29%): Pf. 250-252°C. UV máx. (etanol) 276 nm (ϵ 7.100), 260 nm (ϵ 10.000), 227 nm (ϵ 21.300). ^1H -RMN (CD_3SOCD_3 , 400 MHz) δ 1,56 (d, 2H, 2H, $J = 2$ Hz, H_3), 3,46, 3,52 y 3,48, 3,51 (parcialmente solapantes 2AB, 4H, $^2J = 11,0$ y 11,2 Hz, H_5), 4,76 (t, 2H, $^3J = 4,8$ Hz, OH), 7,48 (s, 1H, H_1), 7,37 (s, 2H, NH_2), 8,17 (s, 1H, H_2), 8,49 (s, 1H, H_8). ^{13}C -RMN (CD_3SOCD_3 , 100 MHz) ppm 14,36 (C_3), 29,68 (C_4), 63,06 (C_5), 110,86 (H_1), 119,36 ($\text{C}_2 + \text{C}_5$), 137,76 (C_8), 148,88 (C_4), 153,72 (C_2), 156,71 (C_6). EI-EM 247 (M, 9,1), 230 (14,3), 200 (23,9), 136 (100,0), 135 (56,0), 69 (24,2), EI-HR-EM calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2$: 247,1069, hallado: 247,1070. Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_2$: C, 53,43; H, 5,30; N, 28,32. Hallado: C, 53,23; H, 5,48; N, 28,44.

Ejemplo 9 - (Z)-2-Amino-6-cloro-9-[[2,2-bis-(acetoximetil)ciclopropiliden]metil]purina (13b) y (E)-2-amino-6-cloro-9-[[2,2-bis-(acetoximetil)ciclopropiliden]metil]purina (14b).

45 Se agitó una mezcla de 2-amino-6-cloropurina (12b, 393 mg, 2,30 mmoles), dibromuro 3 (0,83 g, 2,32 mmoles) del ejemplo 5 ó 6 y carbonato de potasio secado a la llama (1,90 g, 12,5 mmoles) en N,N-dimetilformamida (15 ml) a 100°C bajo nitrógeno durante 24 h. Tras enfriar, se separó por filtración la parte insoluble, y se lavó con N,N-dimetilformamida. Se evaporó el filtrado a vacío y se sometió a cromatografía el residuo en una columna de gel de sílice usando diclorometano - metanol (98:2) para dar una mezcla de isómeros Z- y E 13b y 14b (264 mg, 32%) como un sólido blanco.

50 Pf. 215-216°C. UV máx. (etanol) 311 nm (ϵ 5.100), 230 nm (ϵ 21.800), 204 nm (ϵ 13.700). ^1H -RMN (CD_3SOCD_3 , 400 MHz) δ 1,64 (s, 2H, H_3 , isómero E), 1,89 (d, 2,8 H, $J = 2,4$ Hz, H_3 , isómero Z), 1,94 (s, 6H, CH_3 , isómero E), 2,04 (s, 8,4H, CH_3 , isómero Z), 4,06-4,15 (m, 2,8H de isómero Z y 4H de isómero E, H_5) y 4,28 (d, 2,8H, $J = 11,2$ Hz, isómero Z, H_5), 7,02 (s, 2H, NH_2 , isómero E), 7,06 (s, 2,8H, NH_2 , isómero Z), 7,30 (s, 2,8H, H_1 , isómero E), 7,40 (s, 1,4H, H_1 , isómero Z), 8,32 (s, 1H, H_8 , isómero E), 8,43 (s, 1,4H, H_8 , isómero Z). ^{13}C -RMN (CD_3SOCD_3 , 100 MHz) ppm 13,22 y

16,24 (C₃), 21,13 y 21,33 (CH₃), 23,65 y 25,53 (C₄), 65,85 y 66,31 (C₅), 112,36 y 112,65 (C₁), 117,09 y 117,15 (C₂), 123,74 (C₅), 140,07 y 140,56 (C₈), 150,40 (C₄), 153,21 y 153,11 (C₂), 160,76 (C₆), 170,72 y 170,99 (CO). EI-EM 365 y 367 (M, 9,3 y 3,3), 306 (55,3), 308 (18,3), 170 (72,1), 172 (24,2), 95 (56,6), 94 (33,1), 43 (100,0). EI-HR-EM calculado para C₁₅H₁₆ClN₅O₄: 365,0891, hallado: 365,0888.

5 Ejemplo 10 - (Z)-2-Amino-6-cloro-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]-purina (1b) y (E)-2-amino-6-cloro-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]-metil]purina (2b).

Se agitó una mezcla de isómeros de Z y E 13b + 14b (260 mg, 0,71 mmoles) del ejemplo 9 y carbonato de potasio (78 mg, 0,57 mmoles) en metanol – agua (9:1,10 ml) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se añadió cuidadosamente ácido acético y se evaporó la mezcla a vacío. Se sometió a cromatografía el residuo en una columna de gel de sílice en diclorometano - metanol (10:1) para dar isómero Z 1b (106 mg, 53%) e isómero E 2b (75 mg, 37%).

Isómero Z 1b: Pf. 207-208°C. UV máx. (etanol) 310 nm (ϵ 7.900), 234 nm (ϵ 27.800). ¹H-RMN (CD₃SOCD₃, 400 MHz) δ 1,34 (s, 2H, H₃), 3,47, 3,67 y 3,49, 3,66 (2AB, 4H, ²J = 10,8 y 11,2 Hz, H₅), 5,04 (t de escasa resolución; 2H, OH), 7,03 (s, 2H, NH₂), 7,18 (s, 1H, H₁), 8,81 (s, 1H, H₈). ¹³C-RMN (CD₃SOCD₃, 100 MHz) ppm 11,72 (C₃), 31,41 (C₄), 62,75 (C₅), 110,61 (C₁), 119,24 (C₂), 123,75 (C₅), 140,56 (C₈), 150,19 (C₄), 152,92 (C₂), 160,70 (C₆). ESI-EM (MeOH + NaCl) 282 y 284 (M + H, 100,0 y 33,3), 304 y 306 (M + Na, 40,5 y 13,7), 585 y 587 (2M + Na, 32,7 y 24,4). Calculado para C₁₁H₁₂ClN₅O₂: C, 46,90; H, 4,29; Cl, 12,59; N, 24,86. Hallado: C, 47,08; H, 4,35; Cl, 12,38; N, 24,88.

Isómero E 2b: Pf. 230-234°C (descomp.). UV máx. (etanol) 310 nm (ϵ 8.000), 234 nm (ϵ 28.800). ¹H-RMN (CD₃SOCD₃, 400 MHz) δ 1,54 (s, 2H, H₃), 3,41, 3,49 y 3,43, 3,47 (2AB, 4H, ²J = 11,6 y 11,0 Hz, H₅), 5,42 (s ancho, 2H, OH), 7,02 (s, 2H, NH₂), 7,30 (s, 1H, H₁), 8,43 (s, 1H, H₈). ¹³C-RMN (CD₃SOCD₃, 100 MHz) ppm 14,52 (C₃), 29,84 (C₄), 62,96 (C₅), 110,41 (C₁), 120,53 (C₂), 123,71 (C₅), 140,11 (C₈), 150,26 (C₄), 153,17 (C₂), 160,68 (C₆). ESI-EM (MeOH + NaCl) 282 y 284 (M + H, 100,0 y 32,1), 304 y 306 (M + Na, 27,4 y 8,9), 585 y 587 (2M + Na, 6,7 y 11,3). Calculado para C₁₁H₁₂ClN₅O₂: C, 46,90; H, 4,29; Cl, 12,59; N, 24,86. Hallado: C, 47,10; H, 4,40; Cl, 12,40; N, 25,04.

25 Ejemplo 11- (Z)-9-[[2,2-Bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]guanina (1c)

Se calentó la disolución del isómero Z 1b (100 mg, 0,36 mmoles) del ejemplo 10 en ácido fórmico (95-97%, 8 ml) a 80°C con agitación durante 4 h. Tras enfriar, se evaporó el ácido fórmico a vacío y se disolvió el producto bruto en metanol (30 ml). Se agitó un sólido blanco precipitado en amoníaco metanólico (20%, 10 ml) a 0°C durante 4 h. Tras la evaporación de los componentes volátiles, se sometió a reflujo una suspensión del residuo en metanol (100 ml) durante 2 h. Se mantuvo la mezcla durante la noche a 0°C para dar el producto 1c (83 mg, 89%).

Pf. >300°C. UV máx. (etanol) 271 nm (ϵ 11.500), 231 nm (ϵ 26.400). ¹H-RMN (CD₃SOCD₃, 400 MHz) δ 1,29 (s, 2H, H₃), 3,48, 3,63 y 3,49, 3,62 (2AB, 4H, ²J = 10,8 y 11,2 Hz, 4H, ²J = 10,8 y 11,2, H₅), 4,99 (t, 2H, J = 5,6 Hz, OH), 6,52 (s, 2H, NH₂), 7,07 (s, 1H, H₁), 8,41 (s, 1H, H₈), 10,64 (s, 1H, NH). ¹³C-RMN (CD₃SOCD₃, 100 MHz) ppm 11,52 (C₃), 31,26 (C₄), 62,75 (C₅), 110,98 (C₁), 116,92 (C₂), 118,08 (C₅), 135,13 (C₈), 150,29 (C₄), 154,56 (C₂), 157,38 (C₆). ESI-EM (MeOH + NaCl) 264 (M + H, 5,1), 286 (M + Na, 100,0), 549 (2M + Na, 41,1). Calculado para C₁₁H₁₃N₅O₃: C, 50,19; H, 4,98; N, 26,60. Hallado: C, 50,06; H, 5,09; N, 26,48.

Ejemplo 12 - (E)-9-[[2,2-Bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]guanina (2c).

Se usó el procedimiento descrito en el ejemplo 11 para la síntesis del isómero E 2c (59 mg, 84%) a partir del compuesto 2b (75 mg, 0,27 mmoles) del ejemplo 10.

Pf. >300°C. UV máx. (etanol) 271 nm (ϵ 12.500), 229 nm (ϵ 31.800). ¹H-RMN (CD₃SOCD₃, 400 MHz) δ 1,49 (s, 2H, H₃), 3,41, 3,48 y 3,43, 3,47 (2AB, 4H, ²J = 11,6 y 11,0 Hz, H₅), 4,76 (t, 2H, ³J = 5,6 Hz, OH), 6,58 (s, 2H, NH₂), 7,21 (s, 1H, H₁), 8,03 (s, 1H, H₈), 10,77 (s, 1H, NH). ¹³C-RMN (CD₃SOCD₃, 100 MHz) ppm 14,26 (C₃), 29,51 (C₄), 63,04 (C₅), 110,78 (C₁), 116,90 (C₂), 118,93 (C₅), 134,27 (C₈), 150,52 (C₄), 154,60 (C₂), 157,44 (C₆). ESI-EM (MeOH + NaCl) 264 (M + H, 3,6), 286 (M + Na, 100,0), 549 (2M + Na, 33,0). Calculado para C₁₁H₁₃N₅O₃: C, 50,19; H, 4,98; N, 26,60. Hallado: C, 50,10; H, 5,04; N, 26,89.

Ejemplo 13 - (Z)-1-[[2,2-Bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]citosina (1e) y (E)-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]citosina (2e).

Se agitó una mezcla de N⁴-acetilcitosina (12d, 1,80 g, 5,0 mmoles), dibromuro 3 (766 mg, 5,0 mmoles) del ejemplo 5 ó 6 y carbonato de potasio secado a la llama (4,75 g, 30 mmoles) en N,N-dimetilformamida (100 ml) a 100°C bajo nitrógeno durante 12 h. Se enfrió la mezcla hasta 50°C y se añadió metanol (5 ml) con agitación que se continuó durante 5 h. Tras enfriar, se separó por filtración la parte insoluble y se lavó con N,N-dimetilformamida. Se evaporó el filtrado a vacío y se sometió a cromatografía el residuo en una columna de gel de sílice en diclorometano - metanol (20:1 y entonces 4:1) para dar una mezcla de productos 1e + 2e (680 mg, 61%) como un sólido blanco en una razón de 1:1,4. ¹H-RMN (CD₃SOCD₃, 400 MHz) δ 1,14 (s, 2H, H₃, isómero Z), 1,40 (s, 2,8H, H₃, isómero E), 3,36-3,47 (m, 7,8H, H₅), 4,70 (s, 2,8, OH, isómero E), 4,95 (s, 2H, OH, isómero Z), 5,78 (d, 1H, J = 5,6 Hz, H₅,

isómero Z), 5,85 (d, 1,4H, J = 6,0 Hz, H₅, isómero E), 7,31 (s, 1H, H_{1'}, isómero Z), 7,38 (s, 1,4H, H_{1'}, isómero E), 7,45 (s, 2,8H, NH₂, isómero E), 7,97 (d, 1,4H, J = 6,0 Hz, H₆, isómero E), 8,24 (d, 1H, J = 6,4 Hz, H₆, isómero Z). ¹³C-RMN (CD₃SOCD₃, 100 MHz) ppm 10,72 (C_{3'}, isómero Z), 13,64 (C_{3'}, isómero E), 27,46 (C_{4'}, isómero E), 31,08 (C_{4'}, isómero Z), 62,99 (C_{5'}, isómero Z), 63,17 (C_{5'}, isómero E), 95,52 (C₅, isómero Z), 95,79 (C₅, isómero E), 114,69 (C_{1'}, isómero Z), 115,32 (C_{1'}, isómero E), 115,70 (C_{2'}, isómero E), 116,56 (C_{2'}, isómero Z), 140,77 (C₆, isómero E), 141,12 (C₆, isómero Z), 154,66 (C₄, isómero Z), 154,87 (C₄, isómero E), 166,07 (C₂).

Ejemplo 14 -(Z)- y (E)-N⁴-Benzoil-1-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]citosina (15) y (16).

Se disolvió una mezcla de 1e + 2e del ejemplo 13 en etanol a reflujo (100 ml). Se añadió anhídrido benzoico (689 mg, 3,05 mmoles) con agitación a una disolución caliente y se continuó el reflujo durante 1 h. Se añadieron cinco partes más de anhídrido benzoico (689 mg, 3,05 mmoles cada una) cada hora. Tras enfriar, se evaporó el disolvente y se sometió a cromatografía el producto bruto en una columna de gel de sílice en diclorometano - metanol (20:1) para dar el isómero Z 15 (380 mg, 38%) y el isómero E 16 (350 mg, 35%) como sólidos blancos.

El isómero Z 15: Pf. 222-223°C. UV máx. (etanol) 329 nm (ε 14.200), 270 nm (ε 19.200), 203 nm (ε 23.900). ¹H-RMN (CD₃SOCD₃, 400 MHz) δ 1,28 (s, 2H, H_{3'}), 3,46, 3,66 y 3,48, 3,64 (2AB, 4H, J = 10,8 y 11,4 Hz), 4,99 (s, 2H, OH), 7,32 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,39-7,50 (m, 3H, H_{1'} + H_{meta} de benzoílo), 7,64 (m, 3H), 7,60 (t, 1H, J = 8 Hz, H_{para} de benzoílo), 7,98 (d, 2H, J = 8 Hz, H_{orto} de benzoílo), 8,70 (d, J = 7,2 Hz, 1H, H₆), 11,30 (s, 1H, NH). ¹³C-RMN (CD₃SOCD₃, 100 MHz) ppm 10,96 (C_{3'}), 31,53 (C_{4'}), 62,86 (C_{5'}), 97,35 (C₅), 116,41 (C_{1'}), 120,17 (C_{2'}), 129,94 (C_{orto} de benzoílo), 129,18 (C_{meta} de benzoílo), 133,46 (C_{para} de benzoílo), 145,24 (C₆), 153,99 (C₄), 163,64 (C₂), 168,25 (CO de benzoílo). ESI-EM (MeOH + NaCl) 328 (M + H, 100,0), 350 (M + Na, 71,9), 677 (2M + Na, 52,1). Calculado para C₁₇H₁₇N₃O₄: C, 62,38; H, 5,23; N, 12,84. Hallado: C, 62,50; H, 5,41; N, 13,02.

Isómero E 16: Pf. 221-223°C. UV máx. (etanol) 329 nm (ε 14.200), 269 nm (ε 18.900), 203 nm (ε 23.400). ¹H-RMN (CD₃SOCD₃, 400 MHz) δ 1,52 (s, 2H), 3,44, 3,50 y 3,45, 3,48 (2AB, 4H, ²J = 11,2 y 11,4 Hz, H_{5'}), 7,45-7,51 (m, 3H, H_{1'} + H_{meta} de benzoílo), 7,60 (d, 1H, J = 7,2 Hz, H_{para} de benzoílo), 7,99 (d, 2H, J = 7,2 Hz, H_{orto} de benzoílo), 8,46 (d, 1H, J = 7,2 Hz, H₆), 11,33 (s, 1H, NH). ¹³C-RMN (CD₃SOCD₃, 100 MHz) ppm 13,66 (C_{3'}), 28,16 (C_{4'}), 62,96 (C_{5'}), 97,66 (C₅), 115,46 (C_{1'}), 120,77 (C_{2'}), 129,13 (C_{orto} de benzoílo), 129,18 (C_{meta} de benzoílo), 133,46 (C_{para} de benzoílo), 133,75 (C_{ipso} de benzoílo), 145,09 (C₆), 154,33 (C₄), 163,72 (C₂), 167,97 (CO de benzoílo). ESI-EM (MeOH + NaCl) 328 (M + H, 100,0), 350 (M + Na, 97,6), 677 (2M + Na, 100,0). EI-HR-EM calculado para C₁₇H₁₇N₃O₄: 327,1219, hallado: 327,1221. Calculado para C₁₇H₁₇N₃O₄: C, 62,38; H, 5,23; N, 12,84. Hallado: C, 62,14; H, 5,30; N, 12,63.

Ejemplo 15 -(Z)-1-[[2,2-Bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]citosina (1e).

Se agitó el isómero Z 15 (297 mg, 0,91 mmoles) del ejemplo 14 en amoníaco metanólico (20%, 30 ml) a temperatura ambiente durante 12 h. Se evaporó el disolvente y se sometió a cromatografía el producto bruto en una columna de gel de sílice en diclorometano - metanol (4:1) para dar el isómero Z 1e (174 mg, 86%) como un sólido blanco.

Pf. 250-253°C. UV máx. (etanol) 297 nm (ε 11.900), 230 nm (ε 12.700), 206 (ε 13.700). ¹H-RMN (CD₃SOCD₃, 400 MHz) δ 1,14 (s, 2H, H_{3'}), 3,34 y 3,57 (AB, 4H, ²J = 11,0 Hz, H_{5'}), 5,02 (s ancho, 2H, OH), 5,82 (d, 1H, J = 7,2 Hz, H₅), 7,31 (s, 1H, H_{1'}), 7,43 y 7,55 (2s, 2H, NH₂), 8,27 (d, 1H, J = 7,2 Hz, H₆). ¹³C-RMN (CD₃SOCD₃, 100 MHz) ppm 10,75 (C_{3'}), 31,07 (C_{4'}), 63,03 (C_{5'}), 95,69 (C₅), 114,95 (C_{1'}), 116,52 (C_{2'}), 141,20 (C₆), 154,85 (C₄), 166,12 (C₂). ESI-EM (MeOH + NaCl) 224 (M + H, 2,7), 246 (M + Na, 100,0), 469 (2M + Na, 81,0). EI-HR-EM calculado para C₁₀H₁₃N₃O₃: 223,0957, hallado: 223,0953. Calculado para C₁₀H₁₃N₃O₃: C, 53,80; H, 5,87; N, 18,82. Hallado: C, 53,71; H, 6,00; N, 18,75.

Ejemplo 16 -(E)-9-[[2,2-Bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]citosina (2e).

Se desbenzoiló el isómero E 16 (263 mg, 0,80 mmoles) del ejemplo 14 usando el procedimiento descrito en el ejemplo 15 para dar el compuesto 2e (149 mg, 83%).

Pf. 249-251°C. UV máx. (etanol) 298 nm (ε 12.200), 229 nm (ε 12.300), 206 nm (ε 11.900). ¹H-RMN (CD₃SOCD₃, 400 MHz) δ 1,39 (s, 2H, H_{3'}), 3,37, 3,42 y 3,37, 3,41 (2AB, 4H, ²J = 10,6 y 11,2 Hz, H_{5'}), 4,78 (t de escasa resolución, 2H, OH), 5,89 (d, 1H, J = 8 Hz, H₅), 7,38 (s, 1H, H_{1'}), 7,40 y 7,57 (2s, 2H, NH₂), 7,96 (d, 1H, J = 7,4 Hz, H₆). ¹³C-RMN (CD₃SOCD₃, 100 MHz) ppm 13,68 (C_{3'}), 27,47 (C_{4'}), 63,18 (C_{5'}), 95,92 (C₅), 115,46 (C_{1'}), 115,66 (C_{2'}), 140,77 (C₆), 154,98 (C₄), 166,09 (C₂). EI-EM (MeOH + NaCl) 224 (M + H, 2,7), 246 (M + Na, 100,0), 469 (2M + Na, 81,0). Calculado para C₁₀H₁₃N₃O₃: C, 53,80; H, 5,87; N, 18,82. Hallado: C, 54,01; H, 6,02; N, 18,72.

Ejemplo 17 - 1-[[1-Bromo-2,2-bis-(acetoximetil)ciclopropil]metil]timina (18).

Se sometió a reflujo una mezcla de 2,4-bis-(trimetilsililo)-5-metilpirimidina (17,680 mg, 2,50 mmoles) y éster de dibromo 3 (0,90 g, 2,5 mmoles) del ejemplo 5 ó 6 en acetonitrilo (20 ml) durante 148 h. Tras enfriar, se añadió etanol (20 ml) y se evaporaron los disolventes. Se trituró el residuo con diclorometano (50 ml), se separó por filtración la parte insoluble usando un lecho de gel de sílice que entonces se lavó con diclorometano - metanol (30:1). Se evaporaron los lavados y el filtrado combinado. Se sometió a cromatografía el producto bruto en una columna de gel

de sílice en diclorometano - metanol partiendo del 100% de diclorometano y aumentando la cantidad de metanol hasta 40:1 para dar el compuesto 18 (750 mg, 74,4%) como un sólido blanco.

Pf. 197-198°C. UV máx. (etanol) 268 nm (ϵ 10.400), 210 nm (ϵ 8.900). ^1H -RMN (CD_3SOCD_3 , 400 MHz) δ 1,38 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz, 1H) y 1,72 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz, H_3), 1,78 (s, 3H, 5- CH_3), 2,02 (s, 3H) y 2,04 (s, 3H, CH_3 de acetilo), 4,10-4,17 (m, 3H) y 4,30-4,47 (m, 3H, $\text{H}_1 + \text{H}_5$), 7,54 (s, 1H, H_6), 11,35 (s, 1H, NH). ^{13}C -RMN (CD_3SOCD_3 , 100 MHz) ppm 12,76 (5- CH_3), 21,29 (C_3), 24,99 (C_4), 28,55 (CH_3 de acetilo), 43,25 (C_2), 52,47 (C_1), 64,13 y 68,75 (C_5), 109,18 (C_5), 141,60 (C_6), 151,82 (C_2), 164,79 (C_4), 170,78 y 170,86 (CO de acetilo). EI-EM 405 y 403 (M, 4,4 y 4,4), 263 (6,2), 126 (10,9), 95 (9,4), 55 (10,6), 43 (100,0). EI-HR-EM calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{BrN}_2\text{O}_6$: 402,0426, hallado: 402,0427. Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{BrN}_2\text{O}_6$: C, 44,68; H, 4,75; Br, 19,82; N, 6,95. Hallado: C, 44,57; H, 4,89; Br, 19,83; N, 6,86.

Ejemplo 18 - (Z)-1-[[2,2-Bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]timina (1f) y (E)-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]timina (2f).

Se agitó una mezcla del compuesto 18 (0,60 g, 1,49 mmoles) del ejemplo 17 y carbonato de potasio secado a la llama (616 mg, 4,47 mmoles) en N,N-dimetilformamida (50 ml) a 100°C bajo nitrógeno durante 3 h. Tras enfriar, se añadió metanol - agua (9:1, 10 ml) con agitación que se continuó a temperatura ambiente durante 1 h. Se separó por filtración la parte insoluble y se lavó con N,N-dimetilformamida. Se evaporó el filtrado a vacío y se sometió a cromatografía el residuo en una columna de gel de sílice que en primer lugar se eluyó con acetato de etilo y entonces diclorometano - metanol (20 : 1) para dar el isómero Z 1f (70 mg, 38%) y el isómero E 2f (65 mg, 36%) como sólidos blancos.

El isómero Z 1f: Pf. 177-179°C. UV máx. (etanol) 289 nm (ϵ 11.700), 232 nm (ϵ 12.800). ^1H -RMN (CD_3SOCD_3 , 400 MHz) δ 1,17 (s, 2H, H_3), 1,76 (s, 3H, 5- CH_3), 3,40, 3,61 y 3,41, 3,60 (2AB, 4H, $^2J = 10,6$ y 11,2 Hz, H_5), 4,99 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, OH), 7,17 (s, 1H, H_1), 8,32 (s, 1H, H_6), 11,42 (s, 1H, NH). ^{13}C -RMN (CD_3SOCD_3 , 100 MHz) ppm 10,86 (C_3), 12,68 (5- CH_3), 31,18 (C_4), 62,96 (C_5), 111,39 (C_1), 114,40 (C_2), 115,19 (C_5), 136,82 (C_6), 149,99 (C_2), 164,41 (C_4). EI-EM 238 (M, 10,4), 221 (6,6), 127 (40,7), 126 (10,9), 113 (100,0), 83 (68,3), 55 (26,6). EI-HR-EM Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$: 238,0954, hallado: 238,0953. Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$: C, 55,46; H, 5,92; N, 11,76. Hallado: C, 55,47; H, 5,96; N, 11,90.

El isómero E 2f: Pf. 197-199°C. UV (EtOH) máx. 289 nm (ϵ 11.000), 233 nm (ϵ 12.100). ^1H -RMN (CD_3SOCD_3 , 400 MHz) δ 1,47 (d, 2H, $J = 1,6$ Hz), 1,82 (s, 3H, 5- CH_3), 3,38, 3,45 y 3,40, 3,43 (2AB, 4H, $^2J = 11,2$ y 11,4 Hz, H_5), 4,66 (t, 2H, $J = 5,6$ Hz, OH), 7,25 (s, 1H, H_1), 7,82 (s, 1H, H_6), 11,46 (s, 1H, NH). ^{13}C -RMN (CD_3SOCD_3 , 100 MHz) ppm 12,82 (C_3), 13,94 (5- CH_3), 27,83 (C_4), 63,09 (C_5), 110,86 (C_1), 113,77 (C_2), 116,33 (C_5), 136,12 (C_6), 150,20 (C_2), 164,38 (C_4). EI-EM 238 (M, 12,8), 221 (27,5), 130 (17,7), 127 (100,0), 117 (19,4), 112 (74,9), 83 (49,3). EI-HR-EM calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$: 238,0954, hallado: 238,0955. Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$: C, 55,46; H, 5,92; N, 11,76. Hallado: C, 55,62; H, 6,01; N, 11,88.

Ejemplo 19 - (Z)-2-Amino-6-metoxi-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1g).

Se sometió a reflujo una disolución del compuesto 1b (95 mg, 0,34 mmoles) del ejemplo 10 y carbonato de potasio (94 mg, 0,68 mmoles) en metanol (15 ml) durante 4 h. Tras enfriar, se evaporó el disolvente y se sometió a cromatografía el residuo en una columna de gel de sílice usando diclorometano - metanol (10:1) para dar el compuesto 1g del título (86 mg, 91%).

Pf. 188-189°C. UV máx. (etanol) 278 nm (ϵ 10.400), 225 nm (ϵ 26.900), 203 nm (ϵ 17.200). ^1H -RMN (CD_3SOCD_3 , 400 MHz) δ 1,31 (s, 2H, H_3), 3,49, 3,66 y 3,51, 3,65 (2AB, 4H, $^2J = 11,0$ y 10,4 Hz, H_5), 3,95 (s, 3H, OCH_3), 5,03 (t, 1H, $^3J = 4,8$ Hz), 6,53 (s, 2H, NH_2), 7,19 (s, 1H, H_1), 8,56 (s, 1H, H_8). ^{13}C -RMN (CD_3SOCD_3 , 100 MHz) ppm 11,62 (C_3), 31,30 (C_4), 53,96 (OCH_3), 62,83 (C_5), 110,96 (C_1), 114,12 (C_2), 117,70 (C_5), 137,27 (C_8), 153,09 (C_4), 160,77 (C_2), 161,37 (C_6). EI-EM 277 (M, 23,1), 166 (100,0). Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_3$: C, 51,98; H, 5,45; N, 25,26. Hallado: C, 52,08; H, 5,16; N, 25,18.

Ejemplo 20 - (E)-2-Amino-6-metoxi-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2g).

Se sometió a reflujo una mezcla del compuesto 2b (140 mg, 0,50 mmoles) del ejemplo 10 y carbonato de potasio (276 mg, 2,0 mmoles) en metanol (20 ml) durante 2 h. El tratamiento final siguió el procedimiento para el isómero Z 1g descrito en el ejemplo 19 para dar el compuesto 2g (127 mg, 92%).

Pf. 179-180°C. UV máx. (etanol) 279 nm (ϵ 10.000), 224 nm (ϵ 28.200), 201 nm (ϵ 21.200). ^1H -RMN (CD_3SOCD_3 , 400 MHz) δ 1,51 (s, 2H, H_3), 3,43, 3,50 y 3,45, 3,49 (2AB, 4H, $^2J = 11,2$ y 11,0 Hz, H_5), 3,95 (s, 3H, OCH_3), 4,71 (t, $^3J = 5,6$ Hz, 2H, OH), 6,51 (s, 2H, H_2), 7,31 (s, 1H, H_1), 8,20 (s, 1H, H_8). ^{13}C -RMN (CD_3SOCD_3 , 100 MHz) ppm 14,34 (C_3), 29,56 (C_4), 53,9 (OCH₃), 63,10 (C_5), 110,78 (C_1), 114,11 (C_2), 118,60 (C_5), 136,54 (C_8), 153,35 (C_4), 160,78 (C_2), 161,37 (C_6). EI-EM 277 (M, 3,0), 260 (M - OH, 8,7), 179 (100,0). EI-HR-EM calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_3$: 277,1175, hallado: 277,1174. Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_3$: C, 51,98; H, 5,45; N, 25,26. Hallado: C, 52,21; H, 5,32; N, 25,45.

Ejemplo 21 - (Z)-2-Amino-6-ciclopropilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1h).

Se agitó una disolución del compuesto 1b (140 mg, 0,5 mmoles) del ejemplo 10 y ciclopropilamina (0,14 ml, 1,0 mmol) a temperatura ambiente durante 40 h. Tras enfriar, se evaporaron los componentes volátiles y se sometió a cromatografía el residuo usando CH₂Cl₂:metanol (10:1) para dar el compuesto 1h (139 mg, 92%).

- 5 Pf. 195-196°C. UV máx. (etanol) 286 nm (ϵ 16.600), 224 nm (ϵ 40.200). ¹H-RMN (CD₃SOCD₃, 300 MHz) δ 0,54-0,57 (m, 2H) y 0,62-0,66 (m, 2H, CH₂ de ciclopropilo), 1,28 (d, 2H, J = 2,1 Hz, H₃), 3,01 (s, 1H, CH de ciclopropilo), 3,49, 3,63 y 3,51, 3,62 (2AB, 4H, ²J = 11,0 y 10,8 Hz, H₅), 5,00 (t, 2H, ³J = 4,8 Hz, OH), 5,94 (s, 2H, 2-NH₂), 7,16 (s, 1H, H₁), 7,36 (d de escasa resolución, 1H, 6-NH), 8,40 (s, 1H, H₈). ¹³C-RMN (CD₃SOCD₃, 75 MHz) ppm 7,19 (CH₂ de ciclopropilo), 11,61 (C₃), 24,61 (CH de ciclopropilo), 31,25 (C₄), 62,89 (C₅), 111,22 (C₁), 113,71 (C₂), 116,77 (C₅), 135,00 (C₈), 156,59 (C₂), 161,07 (C₆). ESI-EM 303 (M + H), 325 (M + Na), 605 (2M + Na), 627 (2M + Na). Calculado para C₁₄H₁₈N₅O₂: C, 55,62; H, 6,00; N, 27,80. Hallado: C, 55,79; H, 5,86; N, 27,80.
- 10

Ejemplo 22 - (E)-2-Amino-6-ciclopropilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2h).

Se siguió el procedimiento descrito para el isómero Z 1h en el ejemplo 21 con el isómero E 2b y ciclopropilamina (0,70 ml, 5 mmoles, 50°C, 20 h) para dar el compuesto 2h (130 mg, 86%).

- 15 Pf. 164-165°C. UV máx. (etanol) 286 nm (ϵ 16.300), 224 nm (ϵ 37.900). ¹H-RMN (CD₃SOCD₃, 300 MHz) δ 0,57 (s, 2H) y 0,61-0,66 (m, 2H, CH₂ de ciclopropilo), 1,48 (s, 2H, H₃), 3,00 (sa, 1H, CH de ciclopropilo), 3,43, 3,50 y 3,45, 3,48 (2AB, 4H, ²J = 11,4 y 11,0, H₅), 4,71 (t, ³J = 5,9 Hz, 2H, OH), 5,91 (s, 2H, 2-NH₂), 7,30 (t de escasa resolución, 1H, H₁), 7,41 (sa, 1H, 6-NH), 8,04 (s, 1H, H₈). ¹³C-RMN ppm 7,1 (CH₂ de ciclopropilo), 14,3 (C₃), 24,5 (CH de ciclopropilo), 29,4 (C₄), 63,2 (C₅), 111,0 (C₁), 113,67 (C₂), 117,34 (C₅), 133,9 (C₈), 150,7 (C₄), 156,6 (C₂), 161,2 (C₆). EI-EM 302 (M, 92,2), 285 (M - OH, 35,0), 191 (100,0). EI-HR-EM calculado para C₁₄H₁₈N₅O₂: 302,1491, hallado: 302,1491. Calculado para C₁₄H₁₈N₅O₂: C, 55,62; H, 6,00; N, 27,80. Hallado: C, 55,52; H, 5,96; N, 27,69.
- 20

Ejemplo 23 - (Z)-2,6-Diamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]-purina (1o).

Se calentó una mezcla de compuesto 1b (140 mg, 0,5 mmoles) del ejemplo 10 y NH₃ en metanol (saturada a 0°C, 60 ml) en una bomba de acero inoxidable a 100°C durante 20 h. Tras enfriar, se evaporaron los componentes volátiles y se sometió a cromatografía el residuo en gel de sílice usando diclorometano - metanol (4:1) para dar el compuesto 1o del título (111 mg, 85%).

- 25 Pf. 249-250°C. UV máx. (etanol) 280 nm (ϵ 13.400), 220 nm (ϵ 35.500). ¹H-RMN (CD₃SOCD₃, 400 MHz) δ 1,27 (s, 2H, H₃), 3,49, 3,62 y 3,50, 3,61 (2AB, 4H, ²J = 10,8 y 10,4 Hz, H₅), 5,03 (t, 2H, ³J = 4,8 Hz, OH), 5,85 (s, 2H, 2-NH₂), 6,74 (s, 2H, 6-NH₂), 7,13 (s, 1H, H₁), 8,39 (s, 1H, H₈). ¹³C-RMN (CD₃SOCD₃, 100 MHz) ppm 11,61 (C₃), 31,28 (C₄), 62,89 (C₅), 111,24 (C₁), 113,47 (C₂), 116,65 (C₅), 135,16 (C₈), 150,90 (C₄), 156,82 (C₂), 161,21 (C₆). EI-EM 262 (M, 19,6), 150 (100,0). EI-HR-EM calculado para C₁₁H₁₄H₆O₂: 262,1178, hallado 262,1175. Calculado para C₁₁H₁₄N₆O₂: C, 50,38; H, 5,38; N, 32,04. Hallado: C, 50,49; H, 5,12; N, 32,24.
- 30

Ejemplo 24 - (E)-2,6-Diamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2o).

Se realizó el procedimiento descrito para el isómero Z 1o en el ejemplo 23 en un escala de 0,34 mmoles del compuesto 2b para dar el isómero E 2o (72 mg, 81%).

- 35 Pf. 219-220°C. UV máx. (etanol) 280 nm (ϵ 13.700), 220 nm (ϵ 42.700). ¹H-RMN 1,48 (d, 2H, J = 2,4 Hz, H₃), 3,43, 3,50 y 3,45, 3,48 (2AB, 4H, ²J = 11 Hz, H₅), 4,68 (t, 2H, ³J = 3,0 Hz, OH), 5,85 (s, 2H, 2-NH₂), 6,77 (s, 2H, NH₂), 7,27 (t, 1H, J = 2,4 Hz, H₁), 8,04 (s, 1H, H₈). ¹³C-RMN (CD₃SOCD₃, 100 MHz) ppm 14,27 (C₃), 29,41 (C₄), 63,19 (C₅), 110,99 (C₁), 113,42 (C₂), 117,42 (C₅), 134,22 (C₈), 151,20 (C₄), 156,83 (C₂), 161,25 (C₆). EI-EM 262 (M, 26,9), 151 (100,0). EI-HR-EM calculado para C₁₁H₁₄N₆O₂: 262,1178, hallado 262,1172.
- 40

Calculado para C₁₁H₁₄N₆O₂: C, 50,38; H, 5,38; N, 32,04. Hallado: C, 50,51; H, 5,13; N, 32,30.

Ejemplo 25 - (Z)-2-Amino-6-fluoro-9-1[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]-purina (1p).

Se agitaron vigorosamente una mezcla del isómero Z 1b (140 mg, 0,5 mmoles) del ejemplo 10, disolución de trimetilamina 1 M en N,N-dimetilformamida (0,21 ml, 0,21 mmoles) y fluoruro de potasio (400 mg, 6,9 mmoles, secado a vacío a temperatura ambiente/0,05-0,07 torr durante 12 h) en N,N-dimetilformamida (5 ml) a temperatura ambiente durante 24 h. Se separaron por filtración los sólidos, se lavaron con DMF y se evaporó el filtrado a vacío. Se sometió a cromatografía el producto bruto en gel de sílice usando acetato de etilo - metanol (50:1 a 30:1) para dar el compuesto 1p del título (113 mg, 85%).

- 45 Pf. 185-188°C. UV máx. (etanol) 289 nm (ϵ 8.400), 268 nm (ϵ 8.700), 299 nm (ϵ 37.000). ¹H-RMN (CD₃SOCD₃, 400 MHz) δ 1,34 (s, 2H, H₃), 3,35, 3,67 y 3,49, 3,66 (2AB, 4H, J_{AB} = 10,2 Hz), 5,02 (t de escasa resolución, 2H, OH), 7,01 (s, 2H, NH₂), 7,20 (s, 1H, H₁), 8,77 (s, 1H). ¹³C-RMN 11,67 ppm (C₃), 31,40 (C₄), 62,78 (C₅), 110,78 (C₁), 111,86 (C₅, d, J_{C,F} = 31,3 Hz), 119,04 (C₂), 140,22 (C₈), 156,37 (C₄, J_{C,F} = 12,0 Hz), 159,87 (C₆, d, ¹J_{C,F} = 250,7 Hz), 160,70 (C₂, d, 3J_{C,F} = 17,9 Hz). ¹⁹F-RMN (CD₃SOCD₃, 376 MHz) ppm -72,81(s). EI-EM 265 (M, 3,8), 248 (M - OH, 5,3), 154
- 50

(M - base de purina, 100,0). El-HR-EM calculado para $C_{11}H_{12}N_5O_2F$: 265,0975, hallado: 265,0974. Calculado para $C_{11}H_{12}N_5O_2F$: C, 49,81; H, 4,56; N, 26,40. Hallado: C, 49,92; H, 4,70; N, 26,26.

Ejemplo 26 - (E)-2-Amino-6-fluoro-9-[(2,2-bis-hidroximetil)ciclopropiliden]metil}purina (2p).

Se realizó el procedimiento descrito en el ejemplo 25 con el isómero E 2b del ejemplo 10 (escala de 0,5 mmoles) para dar el compuesto 2p (107 mg, 81%).

Pf. 214-216°C. UV máx 289 nm (ϵ 8.600), 271 nm (ϵ 8.800), 229 nm (ϵ 38.400). 1H -RMN (CD_3SOCD_3 , 400 MHz) δ 1,53 (d, 2H, J = 1,6 Hz), 3,44, 3,55 y 3,45, 3,49 (2AB, 4H, J_{AB} = 11,2 Hz), 4,74 (t, 2H, OH, J = 5,6 Hz), 7,01 (s, 2H, NH_2), 7,33 (s, 1H, $H_{1'}$), 8,42 (s, 1H, H_8). ^{13}C -RMN (CD_3SOCD_3 , 100 MHz) ppm 14,46 ($C_{3'}$), 29,78 ($C_{4'}$), 62,98 (C_5'), 110,62 ($C_{1'}$), 111,87 (C_5 , d, $^2J_{C,F}$ = 31,4 Hz), 120,26 (C_2'), 139,79 (C_8), 156,64 (C_4 , d, $^3J_{C,F}$ = 12,0 Hz), 159,88 (C_6 , d, $^1J_{C,F}$ = 250,7 Hz), 160,70 (C_2 , d, $^3J_{C,F}$ = 17,9 Hz). ^{19}F -RMN (CD_3SOCD_3 , 376 MHz) ppm -72,6 (s). El-EM 265 (M, 2,8), 248 (M - OH, 4,0), 154 (M - base de purina, 100,0). El-HR-EM calculado para $C_{11}H_{12}N_5O_2F$: 265,0975, hallado: 265,0972. Calculado para $C_{11}H_{12}N_5O_2F$: C, 49,81; H, 4,56; N, 26,40. Hallado: C, 49,86; H, 4,68; N, 26,36.

Ejemplo 27 - Métodos de evaluación antiviral *in vitro*

Células y virus. Se realizó el crecimiento y paso habituales de células KB en cultivos en monocapa usando medio esencial mínimo (MEM) con o bien sales de Hanks [MEM(H)] o bien sales de Earle [MEM(E)] complementado con suero bovino al 10%. Se varió la concentración de bicarbonato de sodio para ajustarse a la capacidad de tamponamiento requerida. Se cultivaron células MRC-5 o fibroblastos de prepucio humano (HFF) diploides en medio que consistía en MEM(E) con el 10% de suero bovino fetal. Se pasaron las células a diluciones de 1:2 a 1:10 según procedimientos convencionales usando tripsina al 0,05% más EDTA al 0,02% en una solución salina tamponada con HEPES (HBS) (Shipman, C., Jr., Proc. Soc. Exp. Biol. 130:305-310 (1969)), tal como se describió anteriormente. Turk, S. R., *et al.*, Antimicrob. Agents Chemother. 31:544-550 (1987). Las células HFF y MRC-5 se pasaron sólo a diluciones 1:2. Las células CEM se mantuvieron en un cultivo en suspensión tal como se detalló anteriormente. Kucera, L. S., *et al.*, AIDS Res. Human Retroviruses 9:307-314 (1993).

Procedimientos virológicos. Se preparó CMVH de reserva infectando células HFF a una multiplicidad de infección (m.o.i.) de < 0,01 unidades formadoras de placa (u.f.p.) por célula. Se cambió el medio de crecimiento celular cada cuatro días hasta que la citopatología era evidente en todas las células (aproximadamente 21 días). Se conservaron los fluidos de sobrenadante como reserva de virus. Se prepararon reservas de VHS-1 de alto título infectando células KB a una m.o.i. < 0,1 tal como se detalló anteriormente. Turk, S. R., *et al.*, Antimicrob. Agents Chemother. 31:544-550 (1987). Se determinaron los títulos virales usando cultivos en monocapa de células HFF para CMVH y cultivos en monocapa de células BSC-1 para VHS-1, tal como se describió anteriormente. Prichard, M. N., *et al.*, J. Virol. Methods 28:101-106 (1990). En resumen, las células HFF o BSC-1 se cultivaron tal como se describió anteriormente en placas agrupadas de 96 pocillos y se incubaron durante la noche a 37°C en una atmósfera humidificada con el 3% de CO_2 y el 97% de aire. Al día siguiente, se inocularon los cultivos con CMVH o VHS-1 y se diluyeron 1:3 en serie a través de las once columnas restantes de la placa de 96 pocillos. Se incubaron los cultivos a 37°C durante 2 horas para permitir la adsorción del virus y después se sustituyó el inóculo de virus por 0,2 ml de medio nuevo. Se incubaron los cultivos durante siete días para CMVH, dos o tres días para VHS-1, se eliminó el medio y se tiñeron las láminas de células con violeta cristal al 0,1% en metanol al 20%. Se numeraron las placas bajo ampliación de 20 veces en pocillos que tenían la dilución, lo que dio de 5 a 20 placas por pocillo. Se calcularon los títulos virales según la siguiente fórmula: Título (u.f.p./ml) = número de placas $\times$ 5 $\times$ 3ⁿ, en la que n representa la dilución enésima del virus usado para infectar el pocillo en el que se enumeraron las placas.

Ensayos para detectar actividad antiviral. (a) CMVH. Se ha medido el efecto de los compuestos sobre la replicación de CMVH usando un ensayo de reducción de placas. Se infectaron las células HFF en placas agrupadas de 24 pocillos con aproximadamente 100 u.f.p. de CMVH por cm^2 de lámina de células usando los procedimientos detallados anteriormente. Tras la adsorción de virus, se añadieron los compuestos disueltos en medio de crecimiento para duplicar los pocillos en de tres a seis concentraciones seleccionadas. Tras la incubación a 37°C durante de 7 a 10 días, se fijaron las láminas de células, se tiñeron con violeta cristal y se enumeraron las placas microscópicas tal como se describió anteriormente. Se calcularon los efectos farmacológicos como un porcentaje de la reducción del número de placas en presencia de cada concentración de fármaco comparado con el número observado en ausencia del fármaco. Se usó ganciclovir (DHPG) como control positivo en todos los experimentos.

También puede medirse el efecto de los compuestos sobre la replicación de CMVH usando un ensayo de reducción del rendimiento. Se cultivaron las células HFF tal como se describió anteriormente en placas agrupadas de 96 pocillos, se incubaron durante la noche, se eliminó el medio y se inocularon los cultivos con CMVH a una m.o.i. de 0,5 a 1 u.f.p. por célula tal como se informó en otro momento. Tras la adsorción del virus, se sustituyó el inóculo por 0,2 ml de medio nuevo que contenía los compuestos de prueba. La primera fila de 12 pocillos se dejó inalterada y sirvió como controles de virus. Cada pocillo de la segunda fila recibió 0,1 ml adicionales de medio con el compuesto de prueba a tres veces la concentración final deseada. Se mezcló el contenido de los 12 pocillos mediante pipeteado repetido y entonces se diluyeron 1:3 en serie a lo largo de los pocillos restantes. De esta manera, pudieron someterse a prueba seis compuestos por duplicado en una única placa con concentraciones de desde 100 μM hasta

0,14 μM . Se incubaron las placas a 37°C durante siete días, se sometieron a un ciclo de congelación y descongelación; se transfirieron alícuotas de cada uno de los ocho pocillos de una columna dada a la primera columna de un cultivo en monocapa nuevo de 96 pocillos de células HFF. Se mezcló el contenido de los 12 pocillos y después se diluyó 1:3 en serie a través de las once columnas restantes de la placa secundaria. Se diluyó cada columna de la placa primaria original a través de una placa separada de esta manera. Se incubaron los cultivos, se numeraron las placas y se calcularon los títulos tal como se describió anteriormente.

Ensayos para detectar actividad antiviral (b) VHS-1. Se empleó un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) para detectar VHS-1. Se cultivaron placas agrupadas de 96 pocillos con células BSC-1 a 10.000 células por pocillo, en un volumen total de 200 μl por pocillo de MEM(E) más suero bovino al 10%. Tras la incubación durante la noche a 37°C, se añadió el fármaco y VHS-1 a la tasa de 100 ufp/pocillo. Se bloquearon las placas de ELISA con 200 μl por pocillo del suero bovino al 10% y Tween al 0,05% en HBS. Tras incubación durante 30 minutos, se aclaró el agente de bloqueo dos veces con HBS-T. Se añadió una dilución 1:400 de anticuerpo de conejo anti-VHS-1 conjugado con AP en HBS-F. Se sellaron las placas con papel adhesivo y se incubaron en un agitador oscilante durante una hora a 37°C. Se revelaron las placas en la oscuridad con 100 μl por pocillo de disolución de sustrato que contiene fosfato de p-nitrofenilo. Se leyeron las placas a 492 nm. Se calcularon los efectos farmacológicos como un porcentaje de la reducción del virus en presencia de cada concentración de fármaco comparado con el título obtenido en ausencia del fármaco. Se usó aciclovir como control positivo en todos los experimentos.

Ensayos para detectar actividad antiviral (c) VHH-6. En este caso, se realizó el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) en placas de amina covalente (Costar, Cambridge, MA). Se activaron las placas mediante la adición de un agente de reticulación homobifuncional, suberato de bis(sulfosuccinimidilo), que se disolvió a 1 mg/ml en 30 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS: NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM, Na_2HPO_4 4,3 mM, KH_2PO_4 1,4 mM, pH 7,4) y se añadieron 300 μl del reticulante a cada pocillo en la placa covalente. El reticulante reaccionó con la función amina sobre la placa durante 30 minutos a temperatura ambiente. El subproducto, N-hidroxisuccinimidiasulfito de sodio, se retiró mediante decantación y lavando la placa dos veces con PBS. Se solubilizaron muestras que consistían en 150 μl de células HSB₂ mixtas suspendidas de la placa original tratada con fármaco, en un volumen igual de Triton X-100 al 10% en tampón de recubrimiento (Na_2CO_3 15 mM, NaHCO_3 3,5 mM, pH 9,6). Se cubrió la placa y entonces se incubó durante 1 hora a 37°C en una atmósfera con el 5% de CO_2 . Estas condiciones de unión facilitaban la unión covalente del antígeno al extremo libre del reticulante.

Tras la unión covalente, se decantó la disolución de antígeno y se lavó seis veces la placa con solución salina tamponada con HEPES (Shipman, C., Jr., Proc. Soc. Exp. Biol. 130:305-310 (1969)) con Tween 20 al 0,05% (HBST), empapando durante tres minutos para cada lavado. Los sitios no unidos en la placa se bloquearon con 300 μl por pocillo de leche deshidratada baja en grasa al 2% en PBS (bloqueante) durante 30 minutos a temperatura ambiente, sobre un agitador. Se decantó el bloqueante y se añadieron 50 μl del anticuerpo monoclonal primario diluido, específico para la glucoproteína gp116 de VHH-6 (GS). La disolución de anticuerpo consistía en anticuerpo diluido 1:400 en volúmenes iguales de bloqueante y Triton X-100 al 10% en tampón de recubrimiento. La presencia de tanto el bloqueante como el detergente en las disoluciones de anticuerpo fue necesaria para reducir la señal de fondo. Después se cubrió la placa y se incubó durante 1 hora a 37°C. Se lavó de nuevo la placa, tal como se describió anteriormente, entonces se añadió de nuevo el bloqueante, como antes. A continuación, cada pocillo recibió 100 μl de una disolución del anticuerpo secundario, anticuerpo de conejo anti-ratón marcado con peroxidasa del rábano, diluido a 1:400 (como antes). Se incubó la placa durante 1 hora a 37°C. La placa se lavó de nuevo tal como se describió anteriormente y se reveló usando 100 μl /pocillo de Turbo TMB (Pierce, Rockford, IL) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se detuvo la reacción con 50 μl /pocillo de H_2SO_4 2 M. Se determinó la absorbancia en cada pocillo a 450/570 nm.

Ensayos para actividad antiviral (d) VIH-1. Se empleó la transcriptasa inversa (TI) como un marcador para VIH-1. Este ensayo midió la presencia de VIH en sobrenadantes de células CEM infectadas con la cepa III_B de VIH-1 mediante la cantidad de actividad de TI. Se cultivaron las células, se infectaron e incubaron en presencia de siete concentraciones (diluciones a la mitad en $\log_{10}$), empezando a 1 ó 100 μM de compuestos que debían someterse a ensayo. Los procedimientos y el ensayo con TI se realizaron tal como se detalló anteriormente. Kucera, L. S., *et al.*, AIDS Res. Human Retroviruses 9:307-314 (1993); White, E. L., *et al.*, Antiviral Res. 16:257-266 (1991).

Ensayos de citotoxicidad. Se usaron dos ensayos diferentes para explorar la citotoxicidad de compuestos seleccionados tal como se ha detallado anteriormente. (i) Se determinó la citotoxicidad producida en células HFF estacionarias mediante examen microscópico de las células usadas en ensayos en placa que no se habían afectado por el virus. Turk, S. R., *et al.*, Antimicrob. Agents Chemother. 31:544-550 (1987). (ii) Se determinó el efecto de los compuestos durante dos duplicaciones de población de células KB mediante tinción con violeta cristal y cuantificación espectrofotométrica del colorante eluido de las células teñidas. Prichard, M. N., *et al.*, Antimicrob. Agents Chemother. 35:1060-1065 (1991).

Análisis de datos. Se construyeron las relaciones dosis-respuesta mediante regresión lineal de la inhibición porcentual de parámetros derivados de las secciones anteriores frente a concentraciones logarítmicas de fármaco. Se calculó la concentración inhibitoria del cincuenta por ciento (CI_{50}) a partir de las líneas de regresión. Se usaron muestras que contenían los controles positivos (aciclovir para VHS-1, ganciclovir para CMVH y tiosemicarbazona de

2-acetilpiridina para la citotoxicidad) en todos los ensayos. Se rechazaron los resultados de conjuntos de ensayos si la inhibición por el control positivo se desviaba de su respuesta media en desviaciones estándar $\geq \pm 1,5$.

Resultados de las pruebas. Los compuestos de fórmulas 1 y 2 muestran una actividad significativa frente a los herpesvirus. Se encontró que los compuestos de la presente invención inhiben fuertemente la replicación de CMVH tal como se midió mediante los ensayos de reducción en placa usando HFF como células huésped mediante el método descrito anteriormente y también inhiben la replicación de VHS-1 tal como se determinó mediante el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).

Tabla 1

Compuesto	CI ₅₀ (μM) CMVH ^a	CI ₅₀ (μM) VHS-1 ^b
1a, Ejemplo 8	3,6	50
1c, Ejemplo 11	0,46	>100
2c, Ejemplo 12	>100	39
1e, Ejemplo 15	32	>100
1f, Ejemplo 18	>100	10
1g, Ejemplo 19	3,5	>100
1o, Ejemplo 23	15	>100
Control	4,1 ^c	0,15 ^d

^a Reducción en placa ^c Ganciclovir
^b ELISA ^d Aciclovir

10 Los efectos frente a CMVH son mejores que los de ganciclovir, la elección de fármaco actual para CMVH.

Se sometieron a prueba los compuestos de la presente invención para citotoxicidad en un cultivo de células HFF y KB según los métodos descritos anteriormente. Estas pruebas indican una carencia completa de citotoxicidad para los compuestos sometidos a prueba que tienen actividad antiviral.

Tabla 2

Compuesto	CI ₅₀ (μM) HFF (visual)	CI ₅₀ (μM) KB (crecimiento)
1a, Ejemplo 8	>100	>100
1c, Ejemplo 11	>100	>100
2c, Ejemplo 12	>100	>100
1e, Ejemplo 15	>100	>100
1f, Ejemplo 18	>100	>100
1g, Ejemplo 19	>100	>100
1o, Ejemplo 23	>100	>100
Control	>100 ^a	>100 ^b

^a Ganciclovir ^b Aciclovir

REIVINDICACIONES

1. Compuesto que tiene la fórmula:



en la que B es una base o anillo heterocíclico de pirimidina o purina, y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que la purina se selecciona del grupo que consiste en adenina, hipoxantina, guanina, purina 2-amino-6-sustituída tal como 2-amino-6-cloropurina, 2-amino-6-fluoropurina, 2-amino-6-alcoxipurina, 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-alquilaminopurina, 2-amino-6-dialquilaminopurina, 2-amino-6-tiopurina, 2-amino-6-alquiltiopurina, 3-desazapurinas, 7-desazapurinas y 8-azapurinas.

3. Compuesto según la reivindicación 1, en el que la pirimidina se selecciona del grupo que consiste en citosinas citosina-5-halógeno-sustituída (siendo halógeno flúor, cloro, bromo o yodo), timinas, uracilos, 5-alquil- o alqueniluracilos y 6-azapirimidinas.

4. Compuesto antiviral seleccionado del grupo que consiste en (Z)-9-[[2,2-bis-(hidroxi-metil)ciclopropiliden]metil]adenina (1a), (Z)-2-amino-6-cloro-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclo-propiliden]metil]purina (1b), (Z)-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclo-propiliden]metil]guanina (1c), (Z)-1-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclo-propiliden]metil]citosina (1e), (Z)-1-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclo-propiliden]metil]timina (1f), (Z)-2-amino-6-metoxi-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1g), (Z)-2-amino-6-ciclopropilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)-ciclopropiliden]-metil]purina (1h), (Z)-2-amino-6-alilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1i), (Z)-2-amino-6-propargilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclo-propiliden]metil]purina (1j), (Z)-2-amino-6-ciclopropilmetilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (1k), (Z)-2-amino-6-propiloxi-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden)-metil]purina (1l), (Z)-2-amino-6-aliloxi-9-[[2,2-bis-(hidroxi-metil)ciclopropiliden]metil]purina (1m), (Z)-2-amino-6-propiltio-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]-metil]purina (1n), (Z)-2,6-diamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]-metil]purina (1o) y (Z)-2-amino-6-fluoro-9-[[2,2-bis-(hidroxi-metil) ciclo-propiliden]metil]purina (1p).

5. Compuesto antiviral seleccionado del grupo que consiste en (E)-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]adenina (2a), (E)-2-amino-6-cloro-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]-metil]purina (2b), (E)-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclo-propiliden]metil]guanina (2c), (E)-1-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclo-propiliden]metil]citosina (2e), (E)-1-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclo-propiliden]metil]timina (2f), (E)-2-amino-6-metoxi-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2g), (E)-2-amino-6-ciclopropilamino-9-[[2,2-bis-(hidroxi-metil)ciclopropiliden]metil]purina (2h), (E)-2-amino-6-alilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2i), (E)-2-amino-6-propargilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclo-propiliden]metil]purina (2j), (E)-2-amino-6-ciclopropilmetilamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]metil]purina (2k), (E)-2-amino-6-propiloxi-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]-metil]purina (2l), (E)-2-amino-6-aliloxi-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)-ciclopropiliden]metil]purina (2m), (E)-2-amino-6-propiltio-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclo-propiliden]metil]purina (2n), (E)-2,6-diamino-9-[[2,2-bis-(hidroximetil)ciclopropiliden]-metil]purina (2o) y (E)-2-amino-6-fluoro-9-[[2,2-bis-(hidroxi-metil)ciclo-propiliden]metil]purina (2p).

6. Composición que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

7. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 y combinaciones del mismo para la preparación de una composición farmacéutica para tratar un mamífero infectado con un virus.

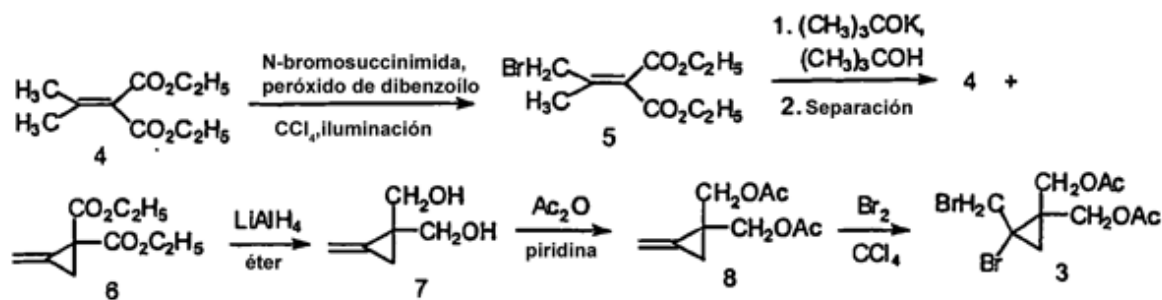
8. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 y combinaciones del mismo para su uso en el tratamiento de un mamífero infectado con un virus.

9. Uso según la reivindicación 7 o el compuesto según la reivindicación 8 y combinaciones del mismo, en el que dicho mamífero es un ser humano.

10. Uso según la reivindicación 7 o el compuesto según la reivindicación 8 y combinaciones del mismo, en el que dicho virus se selecciona del grupo que consiste en virus del herpes humano, virus de la inmunodeficiencia humana, virus de la hepatitis B, citomegalovirus humano y virus del herpes simple humano tipo-I.

- 5
11. Uso según la reivindicación 7 o el compuesto según la reivindicación 8 y combinaciones del mismo, en el que la composición farmacéutica o el compuesto y combinaciones del mismo va a administrarse con un compuesto adicional.
 12. Uso según la reivindicación 10 o el compuesto según la reivindicación 11 y combinaciones del mismo, en el que dicho compuesto adicional se selecciona del grupo que consiste en aciclovir, ganciclovir, zidovudina, AZT, dd1, ddc, 3TC, d4T, foscarnet, cidofovir, fomivirsen y combinaciones de los mismos.

Figura 1



Ac= acetilo

Figura 2

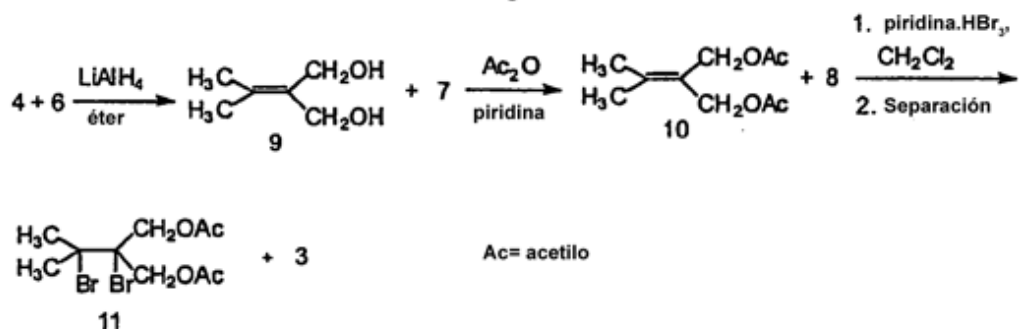
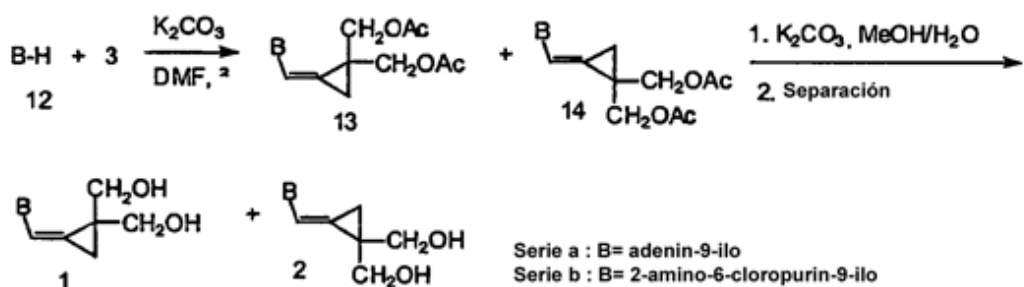


Figura 3



DMF = N,N-Dimetilformamida

Ac= acetilo

- Serie a : B= adenin-9-ilo
 Serie b : B= 2-amino-6-cloropurin-9-ilo
 Serie c : B= guanin-9-ilo
 Serie d : B= N⁴-acetilcitosin-1-ilo
 Serie e : B= citosin-1-ilo
 Serie f : B= timin-1-ilo
 Serie g : B= 2-amino-6-metoxipurin-9-ilo
 Serie h : B= 2-amino-6-ciclopropilaminopurin-9-ilo
 Serie i : B= 2-amino-6-alilaminopurin-9-ilo
 Serie j : B= 2-amino-6-propargilaminopurin-9-ilo
 Serie k : B= 2-amino-6-ciclopropilmetilaminopurin-9-ilo
 Serie l : B= 2-amino-6-propiloxipurin-9-ilo
 Serie m : B= 2-amino-6-alloxipurin-9-ilo
 Serie n : B= 2-amino-6-propiltiopurin-9-ilo
 Serie o : B= 2,6-diaminopurin-9-ilo
 Serie p : B= 2-amino-6-fluoropurin-9-ilo

Figura 4

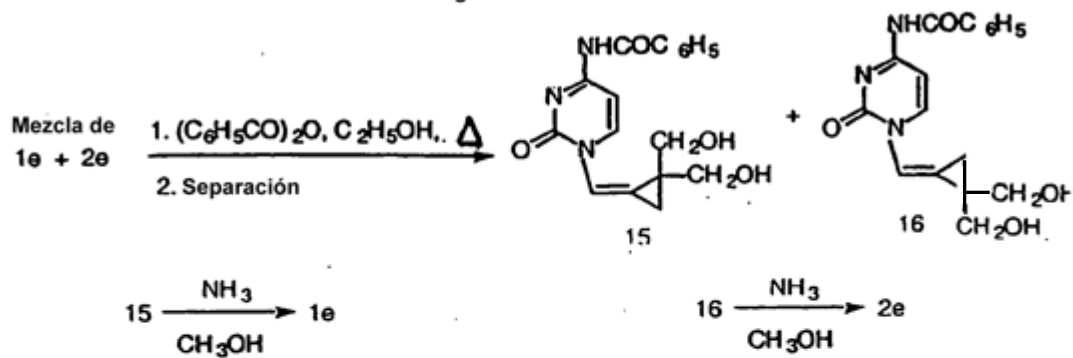


Figura 5

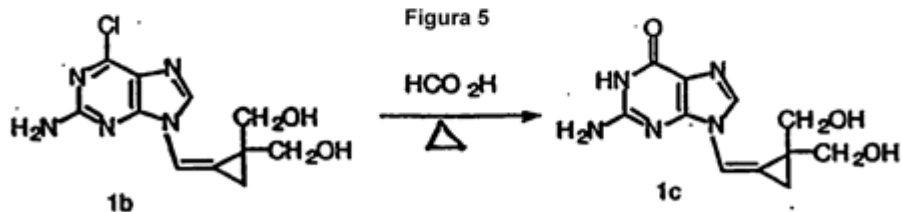


Figura 6

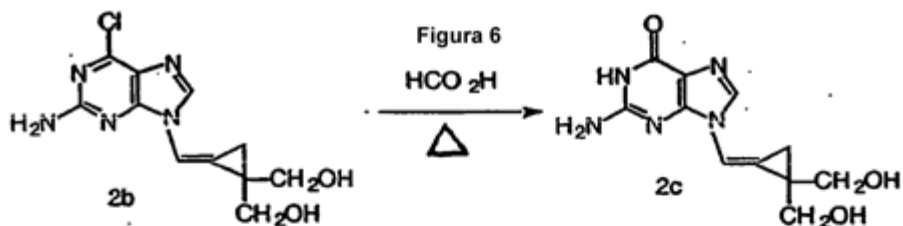


Figura 7

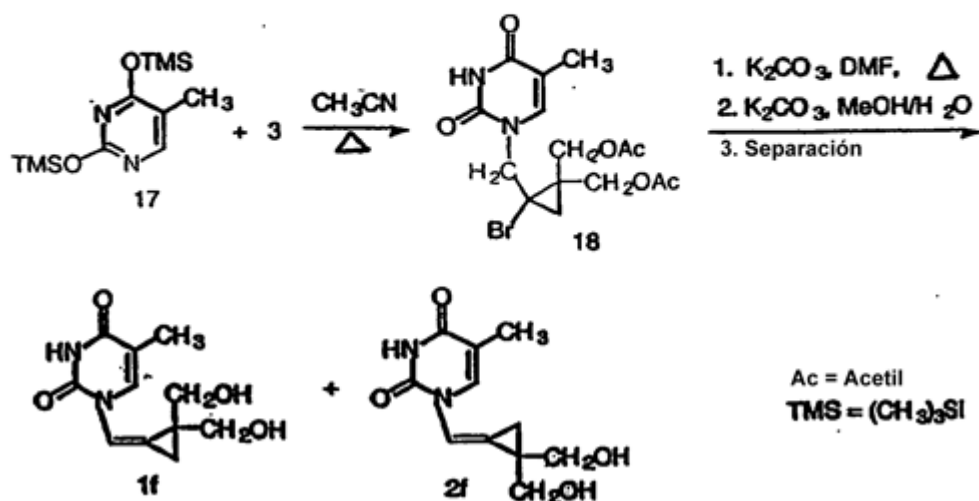


Figura 8

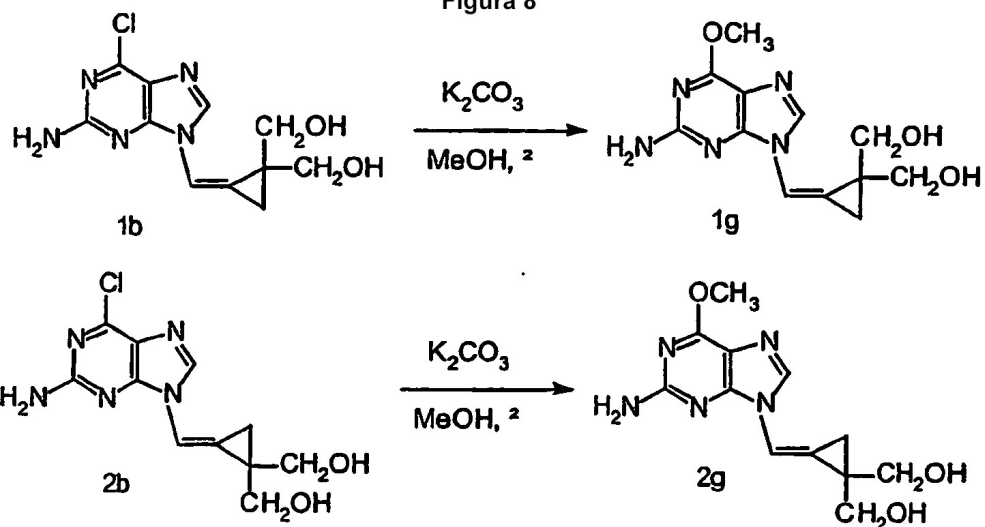


Figura 9

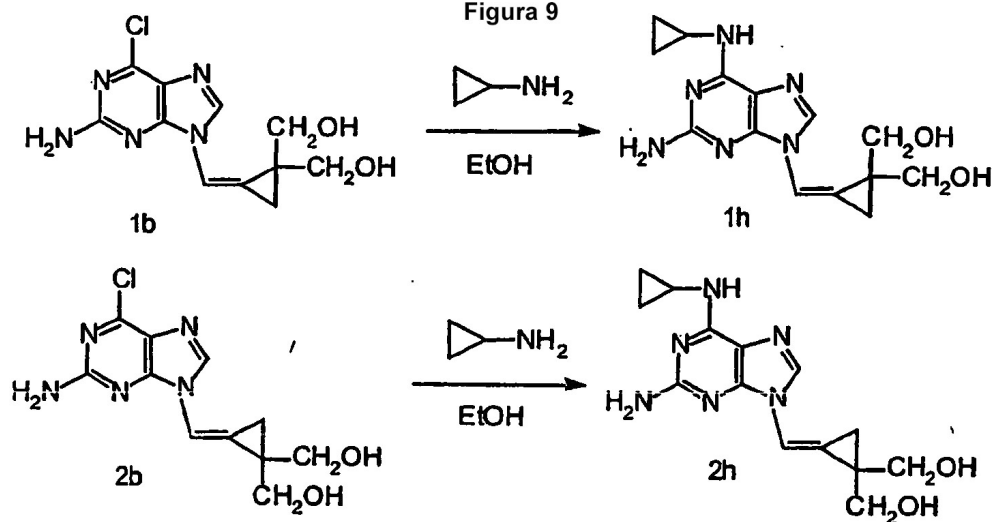


Figura 10

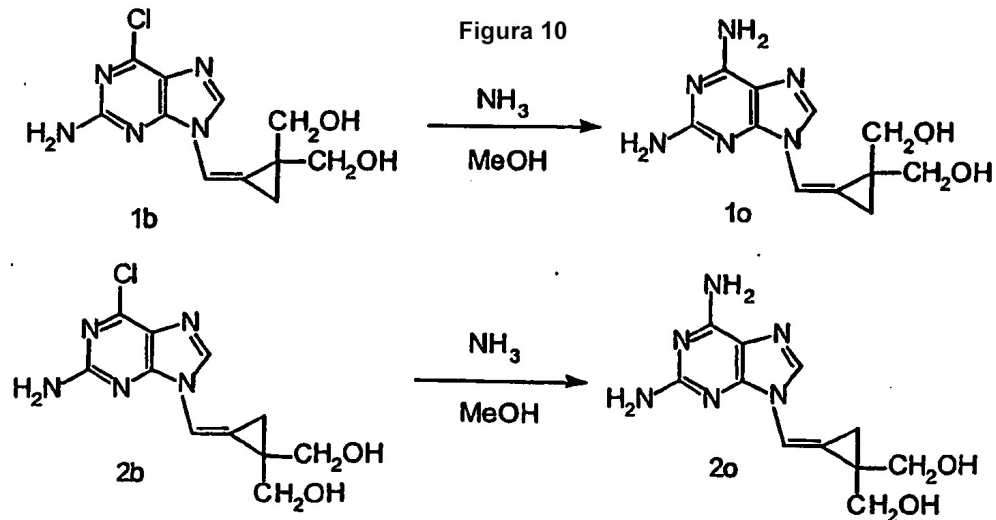


Figura 11

