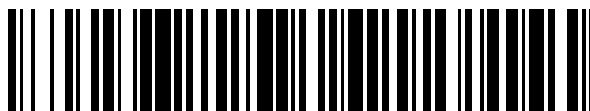


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 777 326**

51 Int. Cl.:

A61K 31/52 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

C07D 473/30 (2006.01)

C07D 473/34 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.08.2015 PCT/US2015/043617**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.02.2016 WO16022563**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.08.2015 E 15829746 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.12.2019 EP 3177296**

54 Título: **Enantiómeros del 1',6'-isómero de la neplanocina A**

30 Prioridad:

04.08.2014 US 201462032926 P

13.05.2015 US 201562160726 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

04.08.2020

73 Titular/es:

AUBURN UNIVERSITY (100.0%)

570 Devall Drive, Suite 102

Auburn, AL 36832, US

72 Inventor/es:

SCHNELLER, STEWART W.;

LIU, CHONG;

CHEN, QI y

YE, WEI

74 Agente/Representante:

SÁNCHEZ SILVA, Jesús Eladio

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 777 326 T3

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

DESCRIPCIÓN

Enantiómeros del 1',6'-isómero de la neplanocina A

5 Referencia cruzada a las solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica la prioridad a la Solicitud Provisional de los Estados Unidos Nos. 62/032,926 presentada el 4 de agosto de 2014 titulada Enantiómeros del Isómero de la 1',6' Neplanocina A: síntesis y Propiedades Antivirales, y a la 62/160,726 presentada el 13 de mayo de 2015 titulada Enantiómeros 3-Deaza del Isómero de la 1',6' Neplanocina A.

10

Campo de la invención

15

20

La invención se refiere a enantiómeros de la 1',6'-isoneplanocina, incluidos los derivados de los enantiómeros de la 1',6'-isoneplanocina, proporcionados por nuevos procedimientos de síntesis. En particular, se sintetiza un epóxido de ciclopentano sustituido en los enantiómeros de la 1',6'-isoneplanocina. La invención se refiere además a análogos de nucleósidos carbocíclicos de la 3-deazaneplanocina para proporcionar D- y L- 1',6'-iso-3-deazaneplanocina. Los compuestos quimioterapéuticos de molécula pequeña proveen de forma beneficiosa actividad antiviral de ADN y ARN, demostrando actividad frente a, por ejemplo, citomegalovirus humano, Sarampión, Ébola, norovirus, Dengue, vaccinia y VHB. Se divulgan los compuestos que exhiben efectos inhibidores reducidos de la S-adenosilhomocisteína hidrolasa y proporcionan perfiles de toxicidad mejorados en comparación con la neplanocina. La invención proporciona una eficacia antiviral profiláctica y/o terapéutica mejorada.

25

Antecedentes de la invención

30

Una gran cantidad de brotes virales han ocurrido a lo largo de la historia, causando la muerte de cientos de millones de personas en todo el mundo. Tanto los virus de ADN como los de ARN son conocidos y, a menudo, se transmiten por aerosoles, así como por contacto directo de superficies contaminadas. La infección viral puede causar síntomas leves a severos en sujetos afectados, incluidos los seres humanos. En consecuencia, tanto los tratamientos profilácticos como los terapéuticos siguen siendo una prioridad por desarrollar. Sin embargo, tanto los virus de ADN como los de ARN demuestran una velocidad rápida de mutación contra agentes terapéuticos y, como resultado, las cepas resistentes a los medicamentos se han convertido en una preocupación para varios virus. Por lo tanto, se necesitan nuevos agentes terapéuticos para tratar, curar y prevenir las infecciones virales.

35

40

45

Los recientes brotes de Ébola pandémico en África Occidental muestran esta necesidad de tratamiento de las fiebres hemorrágicas virales (FHV), junto con otras infecciones virales. Las FHV es un conjunto de infecciones virales que se encuentran entre los patógenos humanos más temidos y, por lo tanto, una muestra ejemplar de la necesidad de compuestos antivirales de amplio espectro. Las FHV existen en cuatro familias distintas de virus de ARN: Arenaviridae, Filoviridae, Bunyaviridae y Flaviviridae. El Ébola de Filoviridae es prominente entre estos patógenos, pero hay representantes dentro de las otras familias que presentan amenazas continuas (por ejemplo, el Dengue, un flavivirus). Para el Ébola hay cuatro especies distintas: el virus del Ébola de Zaire (ZEBOV), el virus del Ébola de Sudán (SEBOV), el virus del Ébola de Costa de Marfil (ICEBOV) (también conocido como *Cote d'Ivoire ebolavirus* (CIEBOV)) y el virus del Ébola de Reston (REBOV). Se sospecha que una nueva especie sin nombre del virus del Ébola es el agente causante de un brote reciente del virus del Ébola en Uganda. El virus de la fiebre hemorrágica altamente contagiosa se origina en África y tiene una tasa de mortalidad muy alta. Los virus FHV se transmiten por contacto con fluidos corporales de un sujeto infectado y con mayor frecuencia es fatal a los pocos días de los síntomas hemorrágicos. Estos virus particulares atacan las células endoteliales de los vasos sanguíneos, causando la ruptura de los vasos sanguíneos, permitiendo que la sangre y el suero se filtren del sistema circulatorio.

50

55

Actualmente, no hay vacunas (excepto para la Fiebre amarilla) o candidatos a medicamentos adecuados disponibles para hacer frente a un brote incontrolable y, como en el caso de la epidemia reciente de Ébola en África Occidental, solo hay medidas sintomáticas disponibles para su tratamiento. Como solo hay un número muy limitado de posibles terapias, por ejemplo, la ribavirina, un agente antiviral de amplio espectro con eficacia limitada y toxicidad extrema, hay pocas opciones disponibles para los agentes antivirales o vacunas para las FHV. Debido al acceso limitado y la diversidad de las circunstancias médicas de los receptores individuales, las vacunas plantean problemas que superan a los agentes quimioterapéuticos. Como resultado, se necesitan nuevos agentes terapéuticos para tratar, curar y prevenir infecciones virales, como el Ébola y otras fiebres hemorrágicas virales.

60

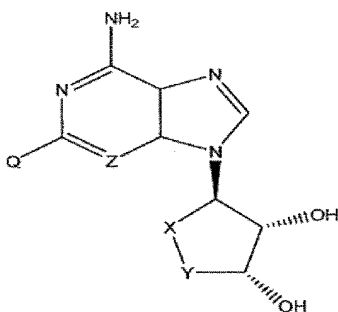
65

Se sabe que las series de la neplanocina natural de nucleósidos carbocíclicos o carbanucleósidos tienen las fórmulas que se muestran en la Figura 1. Los compuestos de la neplanocina, específicamente, la neplanocina A, son conocidos por tener actividad antiviral y antitumoral como resultado de la inhibición de la S-adenosil-L-homocisteína hidrolasa (SAHase). La SAHase cataliza la interconversión de la SAH en adenosina y L-homocisteína, y la inhibición de esta enzima conduce a una acumulación de la SAH y una inhibición negativa de la metiltransferasa dependiente de S-adenosil-L-metionina (SAM) celular. A pesar de la potente actividad inhibitoria enzimática de la neplanocina A, no ha sido un agente antiviral clínicamente útil debido a su potente toxicidad para las células huésped. Otro nucleósido carbocíclico natural, la aristeromicina, ha sido de interés debido a su bioactividad similar. Se han sintetizado varios

nucleósidos carbocíclicos como inhibidores potenciales de la SAHase, aunque muy pocos se han identificado como inhibidores potentes de la SAHase, al menos en parte debido a los problemas de los carbociclos para sintetizar los análogos a estudiar. Se cree que los nucleósidos carbocíclicos son sintéticamente una clasificación muy compleja de nucleósidos, que requieren múltiples y elaboradas etapas de síntesis para introducir la estereoquímica adecuada.

Se ha identificado que las neplanocinas ofrecen un patrón de sustitución único dentro del apéndice de ciclopentenilo. Sin embargo, los nucleósidos carbocíclicos están conformacionalmente restringidos por la funcionalidad del alqueno o centro estructural. Los cambios en el isómero C-1', C-6' de la neplanocina A divulgados de acuerdo con la presente invención proporcionan un esquema para la preparación sintética de nuevos nucleósidos carbocíclicos en los compuestos de la familia de la neplanocina. Por consiguiente, es un objetivo de la invención reivindicada desarrollar enantiómeros de la 1',6'-isoneplanocina empleando los centros estructurales de alqueno y epóxido para realizar modificaciones moleculares que den como resultado una actividad biológica mejorada de las neplanocinas, particularmente la neplanocina A.

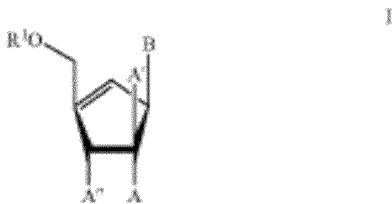
El documento WO2010027935 describe inhibidores de AHCY de fórmula (I):



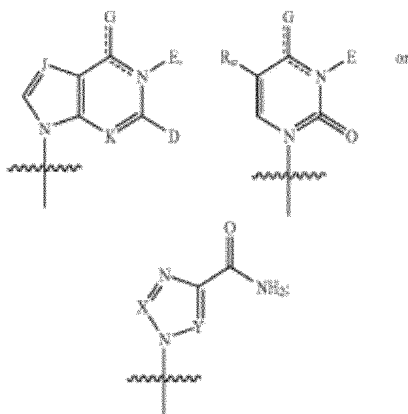
(I)

que son útiles en el tratamiento de enfermedades caracterizadas por altos niveles de homocisteína, como la enfermedad de Alzheimer. La invención también se dirige a composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, y al uso de los compuestos y composiciones en el tratamiento de enfermedades caracterizadas por altos niveles de homocisteína.

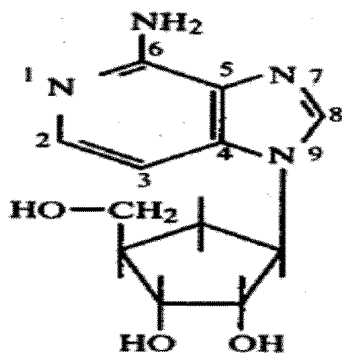
El documento de la Publicación de la Patente de los Estados Unidos Núm. 2009270431 divulga los compuestos de estructura (I)



donde B se selecciona de:



El documento US 4,387,228 que divulga un proceso para la producción de (+/-)-3-deazaaristeromicina, que también se conoce como (+/-)-4-amino-1-[(1 alfa, 2 beta, 3 beta, 4 alfa)-2,3-dihidroxi-4- (hidroximetil)-ciclopentil]imidazo[4,5-c] piridina, representada por la siguiente fórmula:



(±) ~~(±)~~-3-Deazaaristeromicina

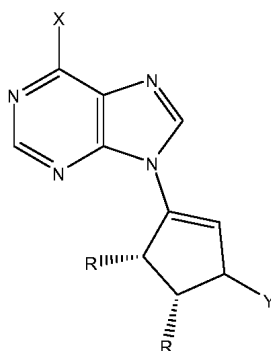
Un objetivo adicional de la invención es proporcionar un esquema de síntesis para los enantiómeros de la 1',6'-isoneplanocina.

Otro objetivo adicional de la invención es proporcionar usos terapéuticos o profilácticos de tratamiento antiviral para complementar las vacunas, incluido el empleo de los compuestos quimioterapéuticos de molécula pequeña divulgados en el presente documento. En particular, los derivados de la neplanocina se emplean para tratar o prevenir virus de ADN y/o ARN, tales como citomegalovirus, Sarampión, Ébola, norovirus, Dengue, vaccinia o VHB. De manera preferente, las composiciones y los usos terapéuticos o profilácticos del tratamiento antiviral proporcionan una actividad antiviral de amplio espectro.

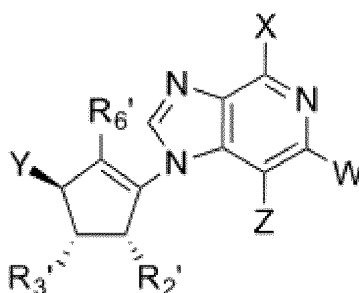
Otros objetivos, ventajas y características de la presente invención se harán evidentes a partir de la siguiente especificación tomada junto con los dibujos adjuntos.

Resumen de la invención

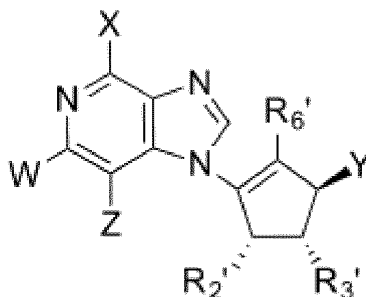
En una realización, la presente invención proporciona derivados de la neplanocina que tienen las siguientes fórmulas:



Análogo de la L-isoneplanocina,



Análogo de la D-3-Deazaisoneplanocina



El análogo de la L-3-deazaisoneplanocina, o sales farmacéuticamente adecuadas de las mismas, como se reivindica en la reivindicación 1 de las reivindicaciones adjuntas, en donde la administración es por ingestión, inyección, infusión u otra administración corporal.

En una realización, la presente invención proporciona el (los) derivado(s) de la neplanocina divulgado(s) para su uso en procedimientos de tratamiento terapéutico o profiláctico de un sujeto, incluidos los seres humanos, contra la infección viral que comprende: administrar el (los) derivado(s) de la neplanocina divulgado(s) a un sujeto que necesita tratamiento antiviral terapéutico o profiláctico. En un aspecto, el virus es un virus de ADN o un virus de ARN. En un aspecto preferente, el virus es un virus de ARN de cadena negativa.

En una realización, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas para tratar a un sujeto, que incluye un ser humano, con una infección viral o que necesita tratamiento antiviral profiláctico que comprende: una cantidad suficiente de (los) derivado(s) de la neplanocina para producir efectos antivirales.

En un aspecto, la composición farmacéutica comprende además un portador farmacéuticamente aceptable. En un aspecto, la composición farmacéutica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable. En un aspecto, la cantidad antiviral del derivado de la neplanocina es una cantidad suficiente para mejorar, inhibir, prevenir o aliviar la infección viral.

Si bien se divulgan múltiples realizaciones, aún otras realizaciones de la presente invención resultarán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la siguiente descripción detallada, que muestra y describe realizaciones ilustrativas de la invención. Por consiguiente, los dibujos y la descripción detallada deben considerarse de naturaleza ilustrativa y no restrictiva.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra las neplanocinas naturales, incluidas la neplanocina A (1A), la neplanocina B (1B), la neplanocina C (1C), la neplanocina D (1D), la neplanocina F (1E).

La Figura 2 muestra un esquema de los procedimientos de síntesis según una realización de la invención para sintetizar la D-isononeplanocina y la L-isononeplanocina, análogos de la neplanocina empleando los siguientes reactivos y condiciones: (a) NaH, PMBBr, TBAI, THF, 95 %; (b) LiHMDS, THF, 84 %; (c) mCPBA, CH₂Cl₂, 84%; (d) adenina, DBU, DMF, 50 % para 8, 31 % para 9; (e) HCl 1N/MeOH, 94 %; (f) p-TsOH-H₂O, CH(OEt)₃, acetona, 77 % para 11, 84 % para 15; (g) MsCl, Et₃N, CH₂Cl₂, 93 % para 12, 90 % para 17; (h) NaOMe, THF/MeOH, 89 % para 13, 90 % para 18; (i) Pd(OH)₂/C, ciclohexeno, EtOH, 87 % para 14, 87 % para 19; (j) HCl 2N/MeOH, 90 % para 2, 92 % para 3; (k) DDQ, CH₂Cl₂/H₂O, 93 %.

La Figura 3 muestra la D-isononeplanocina (3A) y la L-isononeplanocina (3B) análogos de la neplanocina sintetizada de acuerdo con una realización de la invención.

La figura 4 muestra una visión general de cuatro familias de virus de ARN que causan fiebres hemorrágicas virales: Arenaviridae, Filoviridae, Bunyaviridae y Flaviviridae.

Las figuras 5A-B muestran un mecanismo de actividad antiviral; ejemplos de nucleósidos carboxílicos (5A) con actividad de acuerdo con la inhibición de la SAHase como se representa en un esquema de la enzima celular SAHase, que descompone la SAH en adenosina y homocisteína (5B).

La Figura 6 muestra un sitio de inhibición de la SAHase derivada de la neplanocina e inhibición de SAHase que se cuantifica mediante la liberación de homocisteína libre de acuerdo con una realización de la invención donde ciertos derivados de la neplanocina tienen actividad antiviral a través de la inhibición de la SAHase.

La Figura 7 muestra datos de inhibición de la SAHase a análogos de la neplanocina.

Las figuras 8A-D muestra análogos de la neplanocina evaluados de acuerdo con las realizaciones de la invención: D-3 deazaisoneplanocina (8A), L-3-deazaisoneplanocina (8B), D-3 bromo-3-deazaneplanocina (8C) y L-3-bromo-3-deazaneplanocina (8D).

Se describirán en detalle diversas realizaciones de la presente invención con referencia a los dibujos, en donde los números de referencia similares representan partes similares a través de las diversas vistas. La referencia a diversas realizaciones no limita el alcance de la invención. Las figuras representadas en el presente documento no son limitaciones para las diversas realizaciones de acuerdo con la invención y se presentan a modo de ejemplo de la invención.

Descripción detallada de la realización preferente

La presente invención se refiere a enantiómeros de la 1',6'-isoneplanocina, que incluyen a los derivados de los enantiómeros de la 1',6'-isoneplanocina, proporcionados por nuevos procedimientos de síntesis. Los compuestos proporcionan ventajas sobre los compuestos de la neplanocina naturales existentes en los ensayos antivirales y/o toxicidad reducida y/o efectos adversos. Por ejemplo, los enantiómeros de la 1',6'-isoneplanocina demuestran actividad frente al citomegalovirus humano, el Sarampión, el Ébola, el norovirus, el Dengue, la vaccinia y el VHB. Además, varios enantiómeros de la 1',6'-isoneplanocina exhiben efectos inhibidores reducidos de la S-adenosilhomocisteína hidrolasa (SAHase) proporcionando así mejores perfiles de toxicidad en comparación con la neplanocina, ya que la inhibición prolongada de la SAHase supera la síntesis de proteínas celulares y conduce a una toxicidad severa. De forma beneficiosa, como se divulga de acuerdo con la presente invención, los derivados antivirales de la neplanocina pueden proporcionar una inhibición reducida de la SAHase que permite la metilación de la tapa del ARNm celular y la síntesis de proteínas completas y, así proporciona una eficacia antiviral sin toxicidad general.

Las realizaciones de esta invención no se limitan a compuestos particulares, los procedimientos de preparación y/o compuestos para uso en el tratamiento, que pueden variar y son entendidos por expertos en la técnica. Además, debe entenderse que toda la terminología utilizada en el presente documento tiene el propósito de describir solamente las realizaciones particulares, y no pretende ser limitante en ninguna manera o alcance. Por ejemplo, como se usa en esta especificación y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "unos" y "el/los!" pueden incluir referencias plurales a menos que el contenido indique claramente lo contrario. Además, todas las unidades, prefijos y símbolos se pueden denotar en su forma aceptada SI.

Los intervalos numéricos listados dentro de la especificación están incluidos en los números dentro del intervalo definido. A lo largo de esta divulgación, se presentan varios aspectos de esta invención en un formato de intervalo. Debe entenderse que la descripción en formato de intervalo es meramente por conveniencia y brevedad y no debe interpretarse como una limitación inflexible en el alcance de la invención. En consecuencia, se debe considerar que la descripción de un intervalo ha divulgado específicamente todos los subintervalos posibles, así como los valores numéricos individuales dentro de ese intervalo (*por ejemplo*, 1 a 5 incluye 1; 1,5; 2; 2,75; 3; 3,80; 4 y 5).

Para que la presente invención pueda entenderse más fácilmente, primero se definen ciertos términos. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el entendido comúnmente por un experto en la técnica a la cual pertenecen las realizaciones de la invención. Muchos procedimientos y materiales similares, modificados o equivalentes a los descritos en el presente documento pueden usarse en la práctica de las realizaciones de la presente invención sin experimentación indebida, los materiales y procedimientos preferentes se describen en el presente documento. Al describir y reivindicar las realizaciones de la presente invención, se utilizará la siguiente terminología de acuerdo con las definiciones expuestas a continuación.

El término "aproximadamente", como se usa en el presente documento, se refiere a la variación en la cantidad numérica que puede ocurrir, por ejemplo, a través de procedimientos típicos de medición y manejo de líquidos usados para hacer concentrados o usar soluciones en el mundo real; por error inadvertido en estos procedimientos; a través de diferencias en la fabricación, fuente o pureza de los ingredientes utilizados para hacer las composiciones o llevar a cabo los procedimientos; y similares. El término "aproximadamente" también abarca cantidades que difieren debido a diferentes condiciones de equilibrio para una composición que resulta de una mezcla inicial particular. Ya sea modificado o no por el término "aproximadamente", las reivindicaciones incluyen equivalentes a las cantidades.

Como se usa en el presente documento, el término "alquilo" o "grupos alquilo" se refiere a hidrocarburos saturados que tienen uno o más átomos de carbono, incluidos los grupos alquilo de cadena lineal (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, etc.), grupos alquilo cíclicos (o "cicloalquilo" o "grupos alicíclicos" o "carbocíclicos") (por ejemplo, ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, etc.), grupos alquilo de cadena ramificada (por ejemplo, isopropilo, terc-butilo, sec-butilo, isobutilo, etc.) y grupos alquilo sustituidos con alquilos (por ejemplo, grupos cicloalquilo sustituidos con alquilo y grupos alquilo sustituidos con cicloalquilo). A menos que se especifique lo contrario, el término "alquilo" incluye tanto "alquilos no sustituidos" como "alquilos sustituidos". Como se usa en el presente documento, el término "alquilos sustituidos" se refiere a grupos alquilo que tienen sustituyentes que reemplazan uno o más hidrógenos en uno o más carbonos de la cadena principal hidrocarbonada. Estos sustituyentes pueden incluir grupos, por ejemplo, alquenoilo, alquinoilo, halógeno, hidroxilo, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcoxycarbonilo, ariloxi, ariloxycarbonilo, carboxilato, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcoxycarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alquiltiocarbonilo, alcoxilo, fosfato, fosfonato, fosfinato, ciano, amino (incluyendo alquil amino, dialquilamino, arilamino, diarilamino y alquilarilamino), acilamino (incluyendo alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoilo y ureido), imino, sulfhidrido, alquiltio, ariltio,

tiocarboxilato, sulfatos, alquilsulfínilo, sulfonato, sulfamoilo, sulfoamido, nitro, trifluorometilo, ciano, azido, heterocíclico, alquilarilo o aromático (incluyendo heteroaromático). En algunas realizaciones, los alquilos sustituidos pueden incluir un grupo heterocíclico. Como se usa en el presente documento, el término "grupo heterocíclico" incluye estructuras de anillo cerrado análogas a los grupos carbocíclicos en los que uno o más de los átomos de carbono en el anillo es un elemento distinto del carbono, por ejemplo, nitrógeno, azufre u oxígeno. Los grupos heterocíclicos pueden estar saturados o insaturados. Ejemplos de los grupos heterocíclicos incluyen, pero no se limitan a, aziridina, óxido de etileno (epóxidos, oxiranos), tiirano (episulfuros), dioxirano, azetidina, oxetano, tietano, dioxetano, ditietano, ditieto, azolidina, pirrolidina, pirrolina, oxolano, dihidrofurano y furano.

El término "sustituido" como se hace referencia en el presente documento se refiere a una sustitución en una posición de carbono (o nitrógeno) mencionada, con el grupo al que se hace referencia, que puede incluir en el presente documento grupos hidroxilo, carboxilo, ciano, nitro, halógeno(s), tiol, alquilo (preferentemente C₁-C₆), grupo alcoxilo (preferentemente alquilo o arilo C₁-C₆, incluyendo fenilo), éster, incluyendo ésteres de alquileo, tioéter, tioéster, nitro o aminas, alcanol, ácidos alcanóicos o similares.

El término "porcentaje en peso", "peso-%", "% en peso", "porcentaje por peso", "% por peso", y las variaciones de los mismos, como se usan en el presente documento, se refiere a la concentración de una sustancia como el peso de esa sustancia dividido por el peso total de la composición y multiplicado por 100. Se entiende que, como se usa aquí, "porcentaje", "%" y similares están destinados a ser sinónimos de "porcentaje en peso", "% en peso", etc.

Los compuestos, composiciones y procedimientos de la presente invención pueden comprender, consistir esencialmente en, o consistir en los componentes y etapas divulgadas en el presente documento, así como otros componentes y etapas divulgadas en el presente documento. Como se usa en el presente documento, "que consiste esencialmente en" significa que los compuestos, las composiciones y los procedimientos pueden incluir componentes y etapas adicionales, pero solo si los mismos no alteran significativamente las características básicas y novedosas de los compuestos, las composiciones y los procedimientos reivindicados.

Procedimientos de síntesis

De acuerdo con una realización de la invención, se proporcionan los procedimientos para sintetizar una serie de la neplanocina de nucleósidos carbocíclicos, específicamente los análogos de la neplanocina que tienen un C1=C6'. En una realización, se proporcionan los procedimientos para sintetizar los análogos de la neplanocina, que incluyen los enantiómeros de la 1',6'-isoneplanocina y los derivados de la neplanocina.

La Figura 2 muestra un esquema de las etapas de síntesis para generar los análogos de la neplanocina. La realización no limitante representada de la invención describe las etapas de síntesis, reactivos y condiciones para los enantiómeros análogos de la neplanocina de interés, D-isoneplanocina y L- isoneplanocina (fórmulas mostradas en la Figura 3A-B, respectivamente).

Como se representa, en una realización, los procedimientos emplean un epóxido ciclopentílico 4 sustituido (disponible del ciclopentadieno en dos etapas) para iniciar la reacción de síntesis con protección del hidroxilo secundario de 4 con un grupo de apmetoxibencilo (PMB) a 5. (Ver Ludek & Meier, Synthesis 2003, 13, 2101; Biggadkike et al., J. Chem. Soc., Perkin Trans, 1 1998, 549) El ciclopentenol puede prepararse enantioselectivamente a partir de ciclopentadieno alquilado en varias etapas. Una apertura regioselectiva del anillo de 5 con bis(trimetilsilil) amida de litio (LiHMDS) proporciona el alqueno versátil 6. La oxidación posterior de 6 con ácido m-cloroperoxibenzoico (mCPBA) dio lugar al epóxido 7 proporcionando un punto de entrada al armazón de los nucleósidos carbocíclicos. El epóxido 7 se hace reaccionar con adenina en presencia de 1,8-diazabicycloundec-7-eno (DBU) para producir una mezcla de 8 y 9 (1,6:1). Posteriormente, la eliminación ácida del grupo PMB de 8 a 10 es seguida por la protección con glicol para producir 11. La mesilación de 11 produce 12, que se somete a eliminación en presencia de metóxido de sodio para producir 13. La debenzilación de 13 con desquetalización posterior produce la D-isoneplanocina 2 (representada en la Figura 3A).

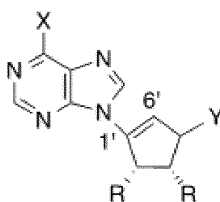
Como se describe adicionalmente en la , en una realización, los procedimientos emplean un epóxido ciclopentílico 4 sustituido (disponible de ciclopentadieno en dos etapas) para iniciar la reacción de síntesis con protección del hidroxilo secundario de 4 con un grupo p-metoxibencilo (PMB) a 5. (Ver Ludek & Meier, Synthesis 2003, 13, 2101; Biggadkike et al., J. Chem. Soc., Perkin Trans, 1 1998, 549). Una apertura regioselectiva del anillo de 5 con bis(trimetilsilil) amida de litio (LiHMDS) proporciona el alqueno versátil 6. La oxidación posterior de 6 con ácido m-cloroperoxibenzoico (mCPBA) dio lugar al epóxido 7 proporcionando un punto de entrada al armazón de los nucleósidos carbocíclicos. El epóxido 7 se hace reaccionar con adenina en presencia de 1,8-diazabicycloundec-7-eno (DBU) para producir una mezcla de 8 y 9 (1,6:1). La protección con glicol de 9 a 15 es la etapa de síntesis que desvía los procedimientos hacia la producción de la L-isoneplanocina 3 (representada en la Figura 3B). La desprotección oxidativa con 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) convierte 15 en 16. Al igual que con 11, la mesilación de 16 a 17 y el subsiguiente metóxido de sodio promueven la eliminación y producen 18 (que es análogo a 13 en la síntesis del análogo tipo D). La desprotección de 18 (eliminación en presencia de metóxido de sodio) produce 19 y luego el ácido clorhídrico 1N elimina el grupo isopropileno para producir la L-isoneplanocina 3.

En una realización, los procedimientos de síntesis establecidos en el presente documento proporcionan un procedimiento para generar los análogos de la neplanocina A como se describe en el presente documento. Los análogos adicionales de la neplanocina A pueden sintetizarse por estos procedimientos.

5 Compuestos Análogos - Derivados de la Neplanocina

En un aspecto de la invención, los análogos de los 1,6 isómeros de la neplanocina A se divulgan como beneficios de interés para químicos medicinales y químicos orgánicos debido a sus nuevas estructuras análogas y su actividad biológica inesperada.

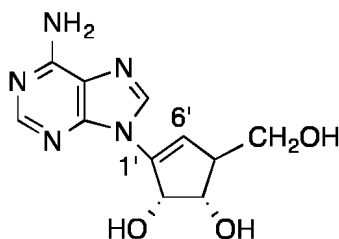
10 De acuerdo con una realización de la invención, se proporciona un derivado de la neplanocina que tiene la siguiente fórmula (análogo "L" de la isoneplanocina, Estructura I):



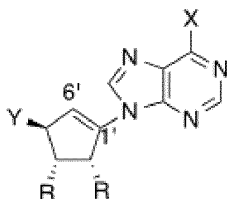
25 en donde R, Y y X se mencionan en las reivindicaciones adjuntas; o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos.

En un aspecto preferente, el análogo "L" de la isoneplanocina tiene una estructura en la que R es un hidrógeno o un grupo hidroxilo, en el que, Y es un hidrógeno, un grupo hidroxilo, o CH₂OH, y en el que X es NH₂ o hidrógeno; o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos.

30 En un aspecto preferente, el análogo "L" de la isoneplanocina tiene la siguiente estructura:



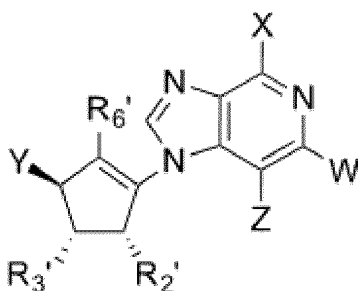
De acuerdo con una realización de la invención, se proporciona un derivado de la neplanocina que tiene la siguiente fórmula (análogo "D" de la isoneplanocina, Estructura II):



55 En donde R, Y y X se mencionan en las reivindicaciones adjuntas; o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos.

En un aspecto preferente, el análogo "D" de la isoneplanocina tiene una estructura en la que R es un hidrógeno o un grupo hidroxilo, en el que, Y es un hidrógeno, un grupo hidroxilo o CH₂OH, y en el que X es NH₂ o hidrógeno; o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos.

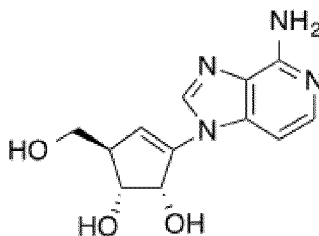
60 De acuerdo con una realización de la invención, se proporciona un derivado de la neplanocina que tiene la siguiente fórmula (análogo "D" de la 3-deazaisoneplanocina (o D-1',6'-iso-3-deazaneplanocina), Estructura III):



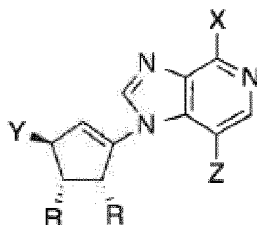
En donde R2', R3', R6', W, X, Y y Z se mencionan en las reivindicaciones adjuntas; o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos.

15 En un aspecto preferente, el análogo "D" de la 3-Deazaisoneplanocina tiene una estructura en la que R2' y/o R3' y/o R6' son un grupo hidrógeno o hidroxilo, en donde W es un hidrógeno o un halógeno, en donde X es NH₂ o hidrógeno, en donde Y es hidrógeno, un grupo hidroxilo, o CH₂OH, y en donde Z es un halógeno, preferentemente F, Cl, Br o I, más preferentemente F o Br, preferentemente Br; o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos.

20 En un aspecto preferente, el análogo "D" de la 3-Deazaisoneplanocina tiene la siguiente estructura:

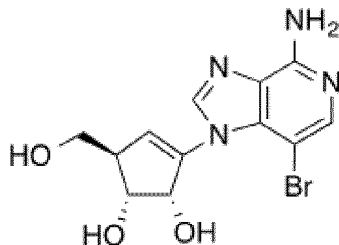


De acuerdo con una realización de la invención, se proporciona un derivado de la neplanocina que tiene la siguiente fórmula (análogo "D" de la 3-halo-3-deazaisoneplanocina):

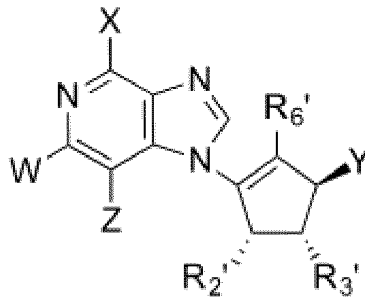


45 En donde R, Y, X y Z se mencionan en las reivindicaciones adjuntas; o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos.

En un aspecto preferente, el análogo es una "D"- 3-bromo-3-deazaisoneplanocina (o 3-bromo-1',6'-iso-3-deazaneplanocina) que tiene la siguiente estructura:

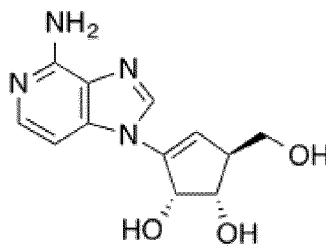


60 De acuerdo con una realización de la invención, se proporciona un derivado de la neplanocina que tiene la siguiente fórmula (análogo "L" de la 3-deazaisoneplanocina (o L-1',6'-iso-3-deazaneplanocina), Estructura IV):

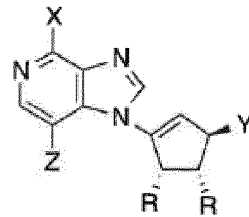


En donde R₂' , R₃' , R₆' , W , X , Y y Z se mencionan en las reivindicaciones adjuntas; o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos.

15 En un aspecto preferente, el análogo "L" de la 3-Deazaisoneplanocina tiene la siguiente estructura:

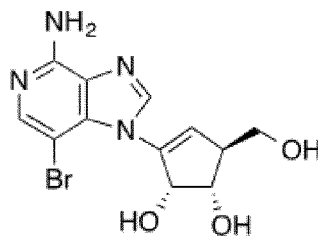


De acuerdo con una realización de la invención, se proporciona un derivado de la neplanocina que tiene la siguiente fórmula (análogo "L" de la 3-halo-3-deazaisoneplanocina):

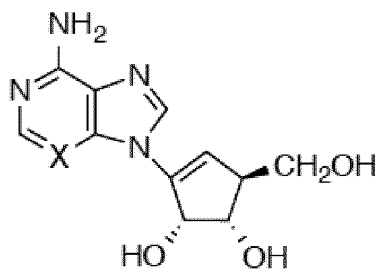


40 En donde R , Y , X y Z se mencionan en las reivindicaciones adjuntas; o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos.

45 En un aspecto preferente, el análogo es una "L"- 3-bromo-3-deazaisoneplanocina (o 3-bromo-1',6'-iso-3-deazaneplanocina) que tiene la siguiente estructura:

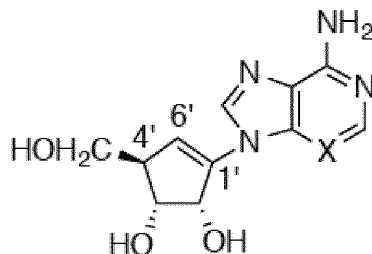


De acuerdo con una realización adicional de la invención, se proporciona un derivado de la neplanocina que tiene la siguiente fórmula (análogo de la "L" isoneplanocina):



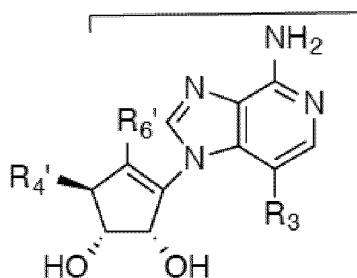
En donde X es N (isoneplanocina), CH (iso-3-deazaneplanocina) o C (halógeno), como CBr (iso-3-bromo-deazaneplanocina); o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, se proporciona un derivado de la neplanocina que tiene la siguiente fórmula (análogo de la "D" neplanocina):



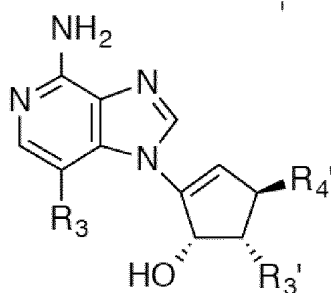
En donde X es N (isoneplanocina), CH (iso-3-deazaneplanocina) o C (halógeno), como CBr (iso-3-bromo-deazaneplanocina); o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos.

En otras realizaciones adicionales, los derivados de la neplanocina que son análogos de tipo D se modifican para la eficacia antiviral enfocada en SAHase, como se muestra en la siguiente fórmula:



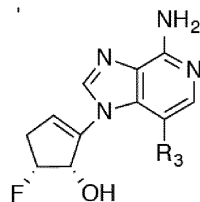
En donde R4' es CH₂F, hidroxilo, o hidrógeno, y en donde R6' es un hidrógeno o un halógeno, tal como flúor, y en donde R3 es un hidrógeno, hidroxilo o un halógeno, tal como bromo. En algunos aspectos, el R3 retiene el R3' OH para la actividad inhibitoria de la SAHase por el mecanismo de agotamiento del cofactor generalmente aceptado, pero no contiene el centro R4' de los derivados de la serie L-neplanocina y, por lo tanto, elimina la susceptibilidad a, por ejemplo, la formación de nucleótidos. Como resultado, estos análogos de tipo D proporcionan una inhibición mejorada de SAHase.

En otras realizaciones adicionales, los derivados de la neplanocina que son análogos de tipo L con el objetivo R4' probablemente tengan un papel de quinasa en la actividad antiviral, como se muestra en la siguiente fórmula:



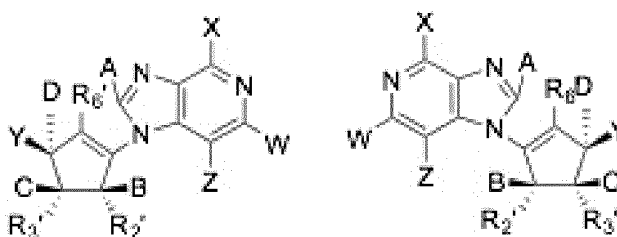
En donde R3 es hidrógeno o un halógeno, tal como flúor o bromo, y en donde R4' es un CH₂OH, CH(Me)OH, o CH₂CH₂OH. En un aspecto, los compuestos de tipo L se dirigen al centro R4' CH₂OH donde una quinasa puede jugar un mecanismo de acción antiviral. Sin limitarse a un mecanismo de acción particular, la eliminación del R3' OH por la inhibición de la SAHase (eliminando el hidroxilo o reemplazándolo con el halógeno bioisotérico, como el flúor) para evitar cualquier complicación que pueda surgir por la inhibición de la SAHase. Otros derivados de la neplanocina incluyen cadenas laterales R4' que presentan interferencia estérica en el centro hidroxilo (por ejemplo, R4' como CH(Me)OH) y la reubicación del hidroxilo con R4' como CH₂CH₂OH.

En otras realizaciones adicionales, los derivados de la neplanocina que son análogos de tipo D o L (no mostrados) que no dan como resultado la inhibición de la SAHase, ni R4' CH₂OH como se describió previamente pueden sintetizarse para tener la siguiente fórmula:



En donde R3 es un hidrógeno o un halógeno, como el bromo.

Según otras realizaciones adicionales de la invención, se divulga un derivado de la neplanocina que tiene las siguientes fórmulas:



En donde R2' es un hidrógeno o un grupo hidroxilo, halógeno o alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo, en donde R3' es un hidrógeno o un grupo hidroxilo, halógeno o alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo, en donde R6' es un hidrógeno o halógeno (preferentemente F), en donde A es alquilo, alquilo X (en donde X es halo, hidroxilo o ciano), arilo, vinilo, en donde B es alquilo, hidroxilo o halo, en donde C es alquilo, hidroxilo o halo, en donde D es alquilo, alquilo X (en donde X es halo, hidroxilo o ciano), o vinilo, en donde W es un hidrógeno o un halógeno (preferentemente F), en donde X es NH₂, NHR, NRR', NHOH o hidrógeno (en donde R y R' en NHR y NRR' son alquilo, arilo o aralquilo), en donde Y es un hidrógeno, un grupo hidroxilo, CH₂OH, CH₂NH₂ (NHR, NRR', en donde la R y R' en NHR y NRR' son alquilo, arilo o aralquilo), CH₂X (en la que X es un halógeno), o un alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo, y en donde Z es un hidrógeno, halógeno, alquilo o alquilo sustituido, ciano y derivados de los mismos; o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos.

Como se menciona aquí, las designaciones se refieren a las estructuras enantioméricas de los derivados de la neplanocina. Las designaciones tipo D y tipo L de nucleósidos carbocíclicos se usan en el presente documento para establecer una analogía con el D-natural y sus nucleósidos ribofuranosilo L-enantioméricos.

Como se menciona en el presente documento, los halógenos incluyen los elementos del grupo 17: flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br), yodo (I) y astatina (At). Los halógenos pueden incluir además elementos creados artificialmente.

Como se menciona aquí, si un resto se describe como "opcionalmente sustituido", el resto puede estar sustituido o no sustituido.

A menos que se indique lo contrario, cualquier referencia a los compuestos derivados de la neplanocina en el presente documento por estructura, fórmula, nombre o cualquier otro medio, incluye sales farmacéuticamente adecuadas, tales como sales de sodio, de potasio y de amonio; formas sólidas alternativas, como polimorfos, solvatos, hidratos, etc.; tautómeros o cualquier otra especie química que pueda convertirse rápidamente en un compuesto descrito en el presente documento bajo las condiciones en las que los compuestos son usados como se describe en el presente documento.

En una realización, los derivados de la neplanocina pueden incluir además los precursores del producto de la misma. El término "profármaco" se refiere a derivados de los compuestos de la invención que tienen grupos escindibles química o metabólicamente y se convierten, mediante solvólisis o bajo condiciones fisiológicas, en los compuestos de la invención que son farmacéuticamente activos in vivo. Se puede formar un profármaco de un compuesto de manera convencional por reacción de un grupo funcional del compuesto (tal como un grupo amino, hidroxilo o carboxilo). Los profármacos de manera frecuente ofrecen ventajas de solubilidad, compatibilidad tisular o liberación retardada en mamíferos, como se describe en Bungard, H., Design Of Prodrugs, pp. 7-9, 21-24, Elsevier, Amsterdam 1985.

Composiciones Farmacéuticas

De acuerdo con una realización de la invención, se proporciona una composición farmacéutica para tratar a un sujeto con una infección viral o que necesita tratamiento antiviral profiláctico. Una composición según la invención incluye

una cantidad antiviral eficaz o una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos uno de los derivados de la neplanocina (compuestos análogos) divulgados en el presente documento.

5 Como determinará un experto en la técnica, una cantidad antiviral eficaz o una cantidad suficiente para tratar (*por ejemplo*, una cantidad terapéuticamente eficaz) se refiere a la cantidad de una composición farmacéutica administrada para mejorar, inhibir o aminorar una afección de un sujeto o un síntoma de un trastorno, de una manera clínicamente relevante (*por ejemplo*, mejorar, inhibir o aminorar la infección por un virus, como el virus del Ébola, o uno o más síntomas que ocurren después de la infección por el virus). Cualquier mejora en el tema se considera suficiente para lograr el tratamiento. Preferentemente, una cantidad suficiente para tratar es una cantidad que previene la aparición de uno o más síntomas de la infección o es una cantidad que reduce la gravedad o el periodo de tiempo durante el cual un sujeto sufre de uno o más síntomas de la infección. infección (*por ejemplo*, en al menos 10 %, 20 % o 30 %, con más preferencia en al menos 50 %, 60 % o 70 %, y con mayor preferencia en al menos 80 %, 90 %, 95 %, 99 %, o más, en relación con un sujeto control que no se trata con una composición de la invención).

15 Además, un experto en la técnica determinará que una cantidad antiviral eficaz o una cantidad suficiente para tratar, también puede referirse a la cantidad de una composición farmacéutica que contiene al menos uno de los derivados de la neplanocina administrados para reducir o eliminar células virales (*por ejemplo*, en al menos 50 %, 60 % o 70 %, y con mayor preferencia al menos 80 %, 90 %, 95 %, 99 % o 100 %).

20 Una cantidad suficiente de la composición farmacéutica que contiene al menos uno de los derivados de la neplanocina usados para poner en práctica los usos descritos en el presente documento (*por ejemplo*, el tratamiento o la profilaxis de la infección viral) varía dependiendo de la naturaleza del virus y de la infección en particular que se pueden determinar por técnicas clínicas estándar, vía de administración y edad, peso corporal y estado general de salud del sujeto a tratar. Finalmente, los prescriptores o investigadores decidirán la cantidad y la dosis apropiadas. En algunos aspectos, los ensayos in vitro se emplean opcionalmente para ayudar a identificar los intervalos óptimos de dosificación. La dosis precisa por emplear debe decidirse de acuerdo con el criterio del profesional y las circunstancias de cada sujeto. Sin embargo, los intervalos adecuados de dosificación para la administración intravenosa son generalmente de aproximadamente 20 a 500 microgramos de compuesto activo por kilogramo de peso corporal. Los intervalos adecuados de dosificación para la administración intranasal son generalmente de aproximadamente 0,01 pg/kg de peso corporal a 1 mg/kg de peso corporal. Las dosis efectivas pueden extrapolarse a partir de las curvas de respuesta a la dosis, derivadas del sistema de prueba in vitro o de los modelos animales. Los supositorios generalmente contienen ingredientes activos en el intervalo del 0,5 % al 10 % en peso; las formulaciones orales contienen preferentemente del 10 % al 95 % del ingrediente activo.

35 Por "composición farmacéutica", los derivados de la neplanocina de la presente invención proporcionan el agente terapéutico o biológicamente activo para la formulación en un medio de administración adecuado para la administración a un sujeto. Para los fines de esta invención, las composiciones farmacéuticas adecuadas para administrar los derivados de la neplanocina pueden incluir, por ejemplo, tabletas, cápsulas de gel, cápsulas, grageas, polvos, granulados, suspensiones, emulsiones, soluciones, geles, hidrogeles, geles orales, pastas, colirios, ungüentos, cremas, yesos, emplastos, dispositivos de liberación, supositorios, enemas, inyectables, implantes, atomizadores o aerosoles. Cualquiera de las formulaciones mencionadas anteriormente se puede preparar por procedimientos de la técnica bien conocidos y aceptados. Ver, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (21ª edición), ed. AR Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2005, y Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, ed. J. Swarbrick, Informa Healthcare, 2006.

45 En un aspecto, las composiciones farmacéuticas comprenden al menos uno de los derivados de la neplanocina y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. El término "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o enumerado en la Farmacopea de los EE. UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos.

50 Los ejemplos de portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados que pueden usarse en dichas composiciones farmacéuticas incluyen, pero no se limitan a, azúcares (por ejemplo, lactosa, glucosa o sacarosa), almidones (*por ejemplo*, almidón de maíz o almidón de papa), celulosa o sus derivados (por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa o acetato de celulosa), aceites (por ejemplo, aceite de maní, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz o aceite de soja), glicoles (por ejemplo, propilenglicol), agentes tampón (por ejemplo, hidróxido de magnesio o hidróxido de aluminio), agar, ácido alginico, tragacanto en polvo, malta, gelatina, talco, manteca de cacao, agua libre de pirógenos, solución salina isotónica, solución de Ringer, etanol, soluciones tampón de fosfato, lubricantes, agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, saborizantes o aromatizantes, conservantes o antioxidantes.

65 El término "excipiente" se refiere a aditivos y estabilizadores típicamente empleados en la técnica (todos los cuales se denominan "excipientes"), que incluyen, por ejemplo, agentes tampón, agentes estabilizantes, conservantes, isotonicadores, detergentes no iónicos, antioxidantes y/u otros aditivos diversos. Los estabilizadores se refieren a una amplia categoría de excipientes que pueden variar en función de un agente espesante a un aditivo que solubiliza al derivado de la neplanocina o ayuda a prevenir la desnaturalización del mismo. Los excipientes convencionales

adicionales incluyen, por ejemplo, rellenos (*por ejemplo*, almidón), agentes quelantes (*por ejemplo*, EDTA), antioxidantes (*por ejemplo*, ácido ascórbico, metionina, vitamina E) y codisolventes.

El término "portador" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra la composición farmacéutica. Dichos portadores farmacéuticos son líquidos ilustrativamente estériles, tales como agua y aceites, incluidos los de petróleo, de origen animal, vegetal o sintético, tales como aceite de maní, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. El agua es el portador preferente cuando la composición farmacéutica se administra por vía intravenosa. Las soluciones salinas y las soluciones acuosas de dextrosa y glicerol se emplean opcionalmente como portadores líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Los excipientes farmacéuticos adecuados incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche descremada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. La composición, si se desea, también contiene agentes humectantes o emulsionantes, o agentes reguladores del pH. Estas composiciones opcionalmente toman la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, tabletas, grageas, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación controlada y similares. La composición está formulada opcionalmente como un supositorio, con aglutinantes y portadores tradicionales como los triglicéridos. La formulación oral incluye ilustrativamente portadores estándar tales como grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, celulosa, carbonato de magnesio, etc. Los ejemplos de portadores farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" de EW Martin.

En un aspecto, las composiciones farmacéuticas según la invención pueden formularse para liberar la composición inmediatamente después de la administración (*por ejemplo*, distribución dirigida) o en cualquier período de tiempo predeterminado después de la administración usando formulaciones de liberación controlada o extendida. La administración de la composición farmacéutica en formulaciones de liberación controlada o extendida es útil donde la composición, ya sea sola o en combinación, tiene (i) un índice terapéutico estrecho (*por ejemplo*, la diferencia entre la concentración plasmática que conduce a efectos secundarios nocivos o reacciones tóxicas y la concentración plasmática que conduce a un efecto terapéutico es pequeña; en general, el índice terapéutico, TI, se define como la relación entre la dosis letal media (DL_{50}) y la dosis efectiva media (DE_{50}); (ii) una ventana de absorción estrecha en el tracto gastrointestinal; o (iii) una de vida media biológica corta, de modo que se requiere una dosificación frecuente durante un día para mantener un nivel terapéutico. Un experto en la técnica determinará las composiciones para la liberación controlada o extendida de la composición farmacéutica. En un aspecto, la liberación controlada se puede obtener mediante composiciones y recubrimientos de liberación controlada que son conocidos por los expertos en la técnica. Langer analiza otros sistemas de liberación controlada en la revisión (Science 249: 1527-1533 (1990)).

Procedimientos de uso/Tratamiento

Según una realización de la invención, al menos uno de los derivados de la neplanocina se emplea en procedimientos de tratamiento terapéutico o profiláctico de un sujeto, que puede referirse a un animal, incluido un ser humano, contra la infección viral. Como se menciona en el presente documento, la infección viral incluye cualquier estado o condición de enfermedad que implique una infección viral. Los usos de la invención son adecuados para el tratamiento viral terapéutico o profiláctico para diversas infecciones virales.

Los compuestos y composiciones para uso divulgados en el presente documento se pueden usar para tratar virus dentro de varias familias de virus como se divulga en el presente documento como parte de una formulación de un fármaco farmacéuticamente aceptable. En un aspecto, los derivados de la neplanocina son agentes antivirales de amplio espectro ya que los derivados son capaces de proporcionar actividad antiviral a más de un virus o clasificación de virus. En un aspecto, el virus es un virus de ADN o ARN. En un aspecto, el virus de ARN es un virus de ARN de cadena negativa. En un aspecto preferente, el virus es el citomegalovirus humano (HCMV), Sarampión, filovirus, que incluye Ébola, norovirus (NOV), Dengue, vaccinia o VHB. En el aspecto más preferente, el virus filovirus es un virus de Ébola. En otro aspecto preferente, el virus es un virus de la fiebre hemorrágica viral (FHV), que se refiere a un grupo de enfermedades febriles causadas por cuatro familias de virus de ARN: Arenaviridae, Filoviridae, Bunyaviridae y Flaviviridae (como se muestra en la Figura 4).

Muchos virus comparten vías bioquímicas, reguladoras y de señalización. Las familias taxonómicas relevantes de los virus de ARN que incluyen, sin limitación, Arenaviridae, que incluye, por ejemplo, el virus Tacaribe y el virus Pinchinde, Astroviridae, Birnaviridae, Bromoviridae, Bunyaviridae, que incluyen, por ejemplo, el virus de la Fiebre del Valle del Rift y el virus Punta Toro, Caliciviridae, Closteroviridae, Comoviridae, Coronaviridae, que incluye, por ejemplo, coronavirus del SARS, Cystoviridae, Flaviviridae, que incluyen, por ejemplo, el virus de la Fiebre amarilla del Dengue, Flexiviridae, que incluyen, por ejemplo, el virus del Dengue, el virus del Nilo Occidental, el virus de la Fiebre amarilla, el virus de la encefalitis Japonesa, un Hepevirus, que incluyen, por ejemplo, el citomegalovirus humano y el virus del herpes simple 1 y 2, Leviviridae, Luteoviridae, Mononegavirales, Virus Mosaico, Nidovirales, Nodaviridae, Orthomyxoviridae, que incluyen, por ejemplo, el virus de la influenza como el virus de la Influenza A H1N1, Paramyxoviridae, que incluye, por ejemplo, el virus del Sarampión (género Morbillivirus) y el virus sincitial respiratorio, Picobirnavirus, Picornaviridae, que incluye, por ejemplo, el virus Polo, Potyviridae, Reoviridae, Retroviridae, Sequiviridae, Tenuivirus, Togaviridae, que incluye, por ejemplo, el virus de la encefalitis equina Venezolana y el virus de Chickungunya, Tombusviridae, Totiviridae y Tymoviridae.

Las familias taxonómicas relevantes de virus de ADN que incluyen, sin limitación, Adenoviridae, Hepadnaviridae, Herpesviridae, que incluyen, por ejemplo, citomegalovirus humano (HCMV), Papillomaviridae, Papovaviridae, que incluyen, por ejemplo, virus del papiloma, virus BK y virus JC, Parvoviridae y Poxviridae, que incluyen, por ejemplo, virus vaccinia, virus de la Viruela y de la Viruela del Simio.

5

Otras familias taxonómicas relevantes de virus incluyen virus hepáticos, que incluyen, por ejemplo, virus de Hepatitis B y virus de Hepatitis C, norovirus, etc.

10

Por "tratar" se entiende administrar los derivados de la neplanocina o composiciones farmacéuticas que contienen los derivados de la neplanocina con fines profilácticos y/o terapéuticos. El tratamiento profiláctico se puede administrar, por ejemplo, a un sujeto que aún no está enfermo, pero que es susceptible o está en riesgo de un trastorno particular, *por ejemplo*, infección con un virus. El tratamiento profiláctico reduce la probabilidad de que un sujeto contraiga una infección de uno o más de los virus descritos en el presente documento. El tratamiento terapéutico puede administrarse, por ejemplo, a un sujeto que ya padece un trastorno con el objetivo de mejorar o estabilizar la condición del sujeto (*por ejemplo*, un paciente ya infectado con un virus). Por lo tanto, en las reivindicaciones y realizaciones descritas en el presente documento, el tratamiento es la administración a un sujeto con fines terapéuticos o profilácticos. En algunos casos, en comparación con un control no tratado equivalente, el tratamiento puede aminorar un trastorno o un síntoma del mismo, *por ejemplo*, 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 % medido por cualquier técnica estándar. En algunos casos, el tratamiento puede dar como resultado la inhibición de la infección viral, el tratamiento de la infección y/o aminorar los síntomas de la infección. La confirmación del tratamiento puede evaluarse por la detección de una mejora o ausencia de los síntomas, o por la incapacidad de detectar la presencia del virus en el sujeto tratado.

15

20

25

Las composiciones para usar en procedimientos de tratamiento también pretenden incluir la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos uno de los derivados de la neplanocina o composiciones farmacéuticas que contienen al menos uno de los derivados de la neplanocina para reducir la replicación viral de los virus de ADN y ARN descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, los derivados de la neplanocina o composiciones farmacéuticas que contienen los derivados de la neplanocina de la presente invención pueden reducir la replicación de un virus (matar células virales (CC50, también denominada toxicidad celular)) en al menos 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o más.

30

35

Las composiciones para usar en los procedimientos de la invención pueden comprender, consistir o consistir esencialmente en administrar al menos uno de los derivados de la neplanocina o una composición farmacéutica que contiene los derivados de la neplanocina a un sujeto que necesita del tratamiento terapéutico o profiláctico antiviral. Como se usa en el presente documento, "administrar" significa dar una dosis de al menos uno de los derivados de la neplanocina o una composición farmacéutica que contiene al menos uno de los derivados de la neplanocina de la invención a un animal generalmente denominado "sujeto", ambos de los cuales se entiende en el presente documento que incluyen a pacientes humanos. Las composiciones utilizadas en los procedimientos descritos en el presente documento pueden administrarse por una ruta seleccionada, *por ejemplo*, por vía parenteral, dérmica, transdérmica, ocular, por inhalación, bucal, sublingual, supralingual, nasal, rectal, tópica y por administración o ingestión oral. La administración parenteral incluye la administración intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intraarterial, intravascular e intramuscular. Las composiciones preferentes para usar en un procedimiento de administración pueden variar dependiendo de diversos factores (*por ejemplo*, los componentes de la composición que se administra y la gravedad de la afección que se trata). En un aspecto preferente, la administración es por ingestión, inyección, infusión u otra administración corporal.

40

45

50

En un aspecto, la dosis del (los) derivado(s) de la neplanocina proporcionada a un sujeto necesitado puede administrarse diariamente, más de una vez al día, tres veces al día, en días alternos o en regímenes graduados, dependiendo de varios factores, que incluyen, *por ejemplo*, la naturaleza del tratamiento profiláctico *versus* tratamiento terapéutico, la gravedad de la infección a tratar, el estado de salud general del paciente y si existen condiciones subyacentes. *Por ejemplo*, cuanto más grave sea la infección, mayor será la cantidad de derivados de la neplanocina necesarios para tratarla de manera efectiva. Se entiende que un médico podría controlar y ajustar las dosis, las formulaciones y los procedimientos de aplicación según sea necesario en función de los síntomas del paciente y las respuestas a la terapia y dentro de los parámetros y los intervalos de dosis descritos en las realizaciones de la presente invención.

55

60

Las composiciones para su uso en los procedimientos de tratamiento divulgados en el presente documento pueden realizarse solas o junto con otro tratamiento. En un aspecto, las composiciones para usar en procedimientos de tratamiento pueden combinarse de manera beneficiosa con otros antivirales, que incluyen, *por ejemplo*, amantadina, rimantadina, ganciclovir, aciclovir, ribavirina, penciclovir, oseltamivir, foscamet zidovudina (AZT), didanosina (ddI), lamivudina (3TC), zalcitabina (ddC), estavudina (d4T), nevirapina, delavirdina, indinavir, ritonavir, vidarabina, nelfinavir, saquinavir, relenza, tamiflu, pleconaril, interferones, etc. Las composiciones para usar en procedimientos de tratamiento pueden combinarse adicionalmente con otros agentes terapéuticos, que incluyen, *por ejemplo*, esteroides y corticosteroides tales como prednisona, cortisona, fluticasona y glucocorticoides, antibióticos, analgésicos, broncodilatadores u otros tratamientos para infecciones respiratorias y/o virales.

65

Las composiciones para usar en los procedimientos de tratamiento descritos en el presente documento pueden realizarse o proporcionarse a un sujeto, por ejemplo, en el hogar, el consultorio del médico, una clínica, el departamento de pacientes externos de un hospital o un hospital. La duración de la terapia depende de la edad y la condición del sujeto, la gravedad de la infección del sujeto y cómo responde el sujeto al tratamiento; los factores pueden ser determinados por un experto en la técnica.

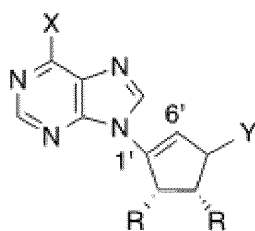
Si bien la comprensión del mecanismo no es necesaria para practicar la presente invención y mientras la presente invención no se limita a ningún mecanismo de acción particular, se contempla que, en algunas realizaciones, la inhibición conocida de la SAHase por la neplanocina A proporciona una fuente de actividad antiviral ya que la inhibición de la SAHase celular requerida para modular las metilaciones replicativas esenciales por la S-adenosilmetionina (SAM). En un aspecto, los derivados de la neplanocina basados en derivados de la D-neplanocina, tales como 3-deazaneplanocina (u otros componentes conocidos como isteromicina) que inhiben la actividad de la SAHase proporcionan un mecanismo beneficioso de actividad antiviral como se muestra en las Figuras 5A-B.

En un aspecto, los derivados de la neplanocina de acuerdo con la invención empleados en los procedimientos de tratamiento descritos en el presente documento proporcionan una $CI_{50} \leq 5,0 \mu M$. En otro aspecto, los derivados de la neplanocina empleados en los procedimientos de tratamiento divulgados en la presente memoria proporcionan un $CI_{50} \leq 5,0 \mu M$ mientras mantienen un índice de selectividad (CC_{50}/CI_{50}) ≥ 10 . En algunos aspectos, los derivados de la neplanocina tamizados frente a ensayos inhibitorios de la SAHase que tienen un $CI_{50} \leq 10,0 nM$ proporcionan eficacia antiviral de acuerdo con un mecanismo de inhibición de la SAHase.

En otros aspectos, y sin limitarse a un mecanismo de acción particular, los derivados de la neplanocina, específicamente, los enantiómeros L, empleados en los procedimientos de tratamiento divulgados en el presente documento, proporcionan una inhibición débil de la SAHase que indica un mecanismo alternativo de actividad antiviral. El mecanismo de acción alternativo, propuesto para involucrar al centro C4 (definido anteriormente en los derivados de la neplanocina como Y), específicamente, CH_2OH para los análogos de D-3-deazaisoneplanocina, proporciona un beneficio adicional de eludir la resistencia viral debido a un mecanismo distinto de acción antiviral. Como se describe en el presente documento, en un aspecto de la invención, esto es un beneficio inesperado de la invención reivindicada que ciertos derivados de la neplanocina que tienen menos efecto inhibitorio contra la SAHase también proporcionan inesperadamente eficacia antiviral que demuestra un mecanismo de acción antiviral adicional y previamente desconocido, como por ejemplo la afinidad del sustrato por las quinasas (*por ejemplo*, adenosina, desoxicitidina). En un aspecto preferente, los derivados de la L-isononeplanocina (o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos) proporcionan una inhibición reducida de la SAHase en comparación con la neplanocina A o la D-isononeplanocina mientras que proporcionan la eficacia antiviral. En un aspecto, la inhibición reducida de la SAHase está indicada por una $CI_{50} \geq 10,0 nM$. Sin estar limitados a un mecanismo de acción particular, de manera beneficiosa, como se divulga de acuerdo con la presente invención, los derivados antivirales de la neplanocina, particularmente los derivados de la L-isononeplanocina (o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos) pueden proporcionar una inhibición disminuida de la SAHase permitiendo la metilación del límite del ARNm celular y la síntesis de proteínas completa y, por lo tanto, proporciona la eficacia antiviral sin toxicidad general.

En un aspecto, el uso de derivados de los enantiómeros de la neplanocina proporciona un par de agentes antivirales potentes como resultado de los distintos mecanismos de acción para la actividad antiviral. En tal aspecto, las composiciones para usar en los procedimientos de tratamiento descritos en el presente documento pueden incluir una combinación de derivados de enantiómero de la neplanocina.

En un aspecto, los derivados de la neplanocina que tienen efectos inhibidores reducidos de la SAHase y actividad antiviral mantenida se emplean para proporcionar la profilaxis o el tratamiento antiviral sin toxicidad general inducida por la inhibición de la SAHase. En un aspecto preferente, el derivado de la neplanocina que tiene la siguiente fórmula de la L-isononeplanocina se administra a un sujeto que necesita un tratamiento terapéutico o profiláctico antiviral, como por ejemplo un virus del Ébola:

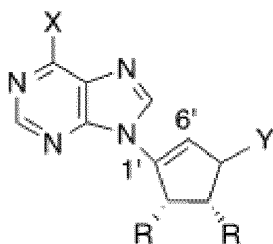


En donde R es un hidrógeno o un grupo hidroxilo, halógeno o alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo (o combinación del mismo, de tal manera que R es el mismo o es diferente), en donde Y es un hidrógeno, un grupo hidroxilo, CH_2OH , CH_2NH_2 (NHR, NRR', en donde R y R' en NHR y NRR' son alquilo, arilo o aralquilo), CH_2X (en donde X es un halógeno) o un alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo, y en donde X es NH_2 , NHR, NRR' NHOH, o hidrógeno (en donde R y R' en NHR y NRR' son alquilo, arilo o aralquilo); o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Es inesperado que el análogo de la L-isononeplanocina proporcione

eficacia antiviral, incluso para el filovirus, incluido el Ébola, a pesar del reducido efecto inhibitor de la SAHase, que es un mecanismo conocido de actividad antiviral.

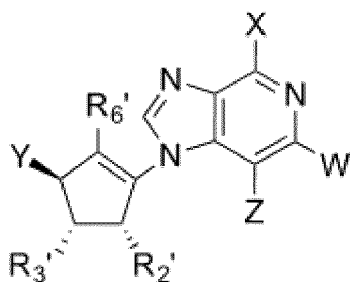
En un aspecto adicional, los derivados de deazaneplanocina, incluyendo 1', 6'-iso-3-deazaneplanocina de tipo D y L (o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), proporcionan una inhibición reducida de SAHase en comparación con la neplanocina A o isoneplanocina de tipo D mientras que proporcionando eficacia antiviral.

En un aspecto, los derivados de la neplanocina que tienen las siguientes fórmulas se administran a un sujeto que necesita tratamiento terapéutico o profiláctico antiviral, tal como por ejemplo un virus del Ébola o cualquier fiebre hemorrágica viral (FHV):

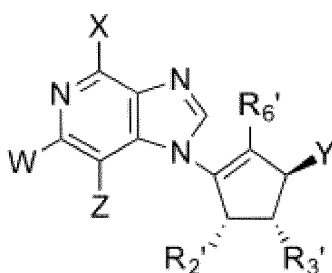


Análogo de la L-isonneplanocina

En donde R es un hidrógeno o un grupo hidroxilo, halógeno o alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo, X es NH₂, NHR, NRR', NHOH, o hidrógeno (en donde R y R' en NHR y NRR' son alquilo, arilo o aralquilo), e Y es un hidrógeno, un grupo hidroxilo, CH₂OH, CH₂NH₂ (NHR, NRR', (en donde R y R' en NHR y NRR' son alquilo, arilo o aralquilo)), CH₂X (en donde X es un halógeno), o un alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo; o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos.



Análogo de la D-3-Deazaisoneplanocina



Análogo de la L-3-Deazaisoneplanocina

En donde R2' es un hidrógeno o un grupo hidroxilo, halógeno o alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo, R3' es un hidrógeno o un grupo hidroxilo, halógeno o alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo, R6' es un hidrógeno o halógeno (preferentemente F), W es un hidrógeno o un halógeno (preferentemente F), X es NH₂, NHR, NRR', NHOH, o hidrógeno (en donde R y R' en NHR y NRR' son alquilo, arilo o aralquilo), Y es un hidrógeno, un grupo hidroxilo, CH₂OH, CH₂NH₂ (NHR, NRR', (en donde R y R' en NHR y NRR' son alquilo, arilo o aralquilo)), CH₂X (en donde X es un halógeno) o un alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo, y Z es un hidrógeno, halógeno (preferentemente un F o Br), alquilo o alquilo sustituido, ciano y derivados de los mismos; o sales farmacéuticamente adecuadas de los mismos.

Las composiciones para usar en procedimientos de tratamiento que emplean derivados de la neplanocina para el tratamiento de las fiebres hemorrágicas virales (FHV) dan como resultado una replicación viral reducida y una

eliminación o reducción de los síntomas de las infecciones virales, que incluyen, por ejemplo, fiebre, permeabilidad vascular aumentada y defectos de coagulación que causan sangrado severo y la muerte. Las composiciones para usar en procedimientos para el tratamiento de las FHV son altamente beneficiosas ya que actualmente no hay vacunas (excepto para la Fiebre amarilla) o candidatos a fármacos capaces de tratar los brotes de las FHV. En un aspecto de la invención, los derivados de la neplanocina, que incluyen isoneplanocinas, deazaneplanocinas y deazaisoneplanocinas proporcionan una eficacia de amplio espectro frente a las FHV como resultado de los mecanismos inesperados y distintos de la efectividad antiviral proporcionados por los derivados de la neplanocina, específicamente los 1,6 isómeros de la neplanocina A y los 1,6-deazaisómeros de la neplanocina A. Esto es un beneficio adicional de las composiciones para uso en procedimientos de tratamiento que los distintos mecanismos de eficacia antiviral reducen la capacidad de las FHV para desarrollar resistencia a fármacos. Es un beneficio aún mayor de las composiciones para uso en procedimientos de tratamiento que se pueda emplear una combinación de derivados de la neplanocina para aprovechar los distintos mecanismos de eficacia antiviral.

Todas las publicaciones y solicitudes de patente en esta especificación son indicativas del nivel de habilidad ordinaria en la técnica a la que pertenece esta invención.

Ejemplos

Las realizaciones de la presente invención se definen adicionalmente en los siguientes ejemplos no limitantes. Debe entenderse que estos ejemplos, aunque indican ciertas realizaciones de la invención, se dan solo a modo de ilustración. A partir de la discusión anterior y de estos Ejemplos, un experto en la técnica puede determinar las características esenciales de esta invención, y sin apartarse del alcance de la misma, puede hacer varios cambios y modificaciones a las realizaciones de la invención para adaptarla a diversos usos y condiciones. Por lo tanto, diversas modificaciones de las realizaciones de la invención, además de las mostradas y descritas en el presente documento, serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la descripción anterior. Dichas modificaciones también pretenden caer dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Materiales y Procedimientos Generales

Los puntos de fusión se registraron en un aparato de punto de fusión Meltemp II y los valores no se corrigieron. Los espectros de RMN ¹H y ¹³C se registraron en un espectrómetro Bruker AC-600 (600 MHz para protón y 150 MHz para el carbono) o un espectrómetro Bruker AV-400 (400 MHz para protón y 100 MHz para carbono), referenciados a tetrametilsilano interno (TMS) a 0,0 ppm. Los datos espectrales de masas se determinaron usando un espectrómetro de masas Waters Micromass Q-TOF Premier. Las reacciones se monitorizaron mediante cromatografía en capa fina (TLC) usando placas pre-recubiertas de gel de sílice Whatman Diamond 60-F₂₅₄ de 0,25 mm con visualización por irradiación con una lámpara Mineralight UVGL-25. La cromatografía en columna se realizó sobre sílice Whatman, malla 230-400 y 60 Å usando elución con el sistema disolvente indicado. Los rendimientos se refieren a materiales homogéneos cromatográficos y espectroscópicos (RMN ¹H y ¹³C).

Ejemplo 1

Síntesis de la D-isonneplanocina.

Etapas 1: Síntesis de (1S, 2R, 3S, 5R) -2-((Benciloxi) metil) -3-((4-metoxibencil) oxi) -6-oxabicyclo[3.1.0] -hexano 5

Una solución de epóxido ciclopentílico 4 (Ver Ludek & Meier, Synthesis 2003, 13, 2101; Biggadkike et al., J. Chem. Soc., Perkin Trans, 1 1998, 549) (1,12 g; 5,08 mmol) en THF (20 ml) se trató con NaH (60 %, 224 mg; 6,10 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 30 minutos adicionales y se añadieron bromuro de 4-metoxibencilo (0,72 ml; 5,59 mmol) y yoduro de tetrabutilamonio (20 mg; 0,05 mmol). Después de 24 h, la mezcla de reacción se inactivó con solución saturada de NH₄Cl y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró y el solvente se retiró por evaporación rotatoria. El producto puro (1,65 g; 95 %) se aisló mediante cromatografía en columna (hexanos/EtOAc, 2:1) como un líquido transparente: RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,30-7,24 (m, 5H); 7,20 (d, J = 8,8 Hz, 2H); 6,81 (d, J = 8,8 Hz, 2H); 4,46 (s, 2H); 4,38 (d, J = 2,7 Hz, 2H); 3,86 (d, J = 7,3 Hz, 1H); 3,75 (s, 3H); 3,50 (m, 1H); 3,43 (d, J = 2,6 Hz, 1H); 3,37 (m, 2H); 2,57 (t, J = 5,9 Hz, 1H); 2,13 (m, 1H); 2,03 (m, 1H); RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 159,0; 138,0; 130,4; 129,3; 128,4; 127,6; 113,8; 80,5; 73,1; 70,4; 69,2; 60,3; 59,6; 57,9; 55,2; 47,4; 37,8. El HRMS calculado para C₂₁H₂₄O₄Na [M+Na]⁺: 363,1572; encontrado 363,1564.

Etapas 2: Síntesis de (1R, 4S, 5S) -5-((Benciloxi) metil) -4-((4-metoxibencil) oxi) ciclopent-2-enol 6

A una solución de (1S, 2R, 3S, 5R) -2-((Benciloxi) metil) -3-((4-metoxibencil) oxi) -6-oxabicyclo[3.1.0] -hexano 5 (450 mg; 1,32 mmol) en THF (40 ml), se añadieron gota a gota hexametildisilazida de litio (7 ml; 1,0 M en THF, 7 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 60 °C durante 3 h. La solución resultante se enfrió a temperatura ambiente, se inactivó con solución saturada de NH₄Cl y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron bajo presión reducida. El residuo crudo se purificó por cromatografía en columna (EtOAc/hexanos, 1:1) para obtener a 6 (380 mg; 84 %) como un líquido

amarillo: RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,33-7,29 (m, 5H), 7,22 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 6,83 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 5,91 (s, 2H), 4,53-4,46 (m, 4H); 4,42 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H); 4,24 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H); 3,76 (s, 3H); 3,58 (m, 2H); 2,77 (br, 1H); 2,26 (m, 1H); RMN-¹³C (150 MHz, CDCl₃) δ ppm 159,2; 138,3; 136,2; 133,2; 130,6; 129,4; 128,4; 127,70; 127,68; 113,8; 83,6; 77,8; 73,2; 70,1; 70,0; 55,8; 55,3. El HRMS calculado para C₂₁H₂₄O₄Na [M+Na]⁺: 363,1572; encontrado 363,1577.

Etapas 3: *Síntesis de (1S, 2S, 3S, 4R, 5R) -3-((Benciloxi) metil) -4-((4-metoxibencil) oxi) -6-oxabicyclo [3.1.0] hexan-2-ol 7*

A una solución de (1R, 4S, 5S) -5-((Benciloxi) metil) -4-((4-metoxibencil) oxi) ciclopent-2-enol (220 mg; 0,65 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml) se añadió mCPBA (335 mg, 77 %; 1,5 mmol) a 0 °C. Esta mezcla se agitó durante una noche y se inactivó con bisulfito de sodio. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ y se lavó con NaHCO₃, salmuera, se secó (Na₂SO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo crudo se purificó por cromatografía en columna (EtOAc/hexanos, 1:1) para obtener a **7** (380 mg; 84 %) como un sólido blanco, m.p. 72-73 °C; RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,32-7,24 (m, 7H); 6,85 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H); 4,61 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H); 4,48 (dd, *J* = 11,8; 15,6 Hz, 2H); 4,39 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H); 4,03 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H); 3,76 (s, 3H); 3,65 (dd, *J* = 2,7, 9,4 Hz, 1H); 3,50 (m, 3H); 2,69 (br, 1H); 1,80 (m, 1H); ¹³CNMR (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 159,3; 138,2; 130,2; 129,4; 128,3 (2C); 127,6; 113,8; 77,0; 73,1; 71,8; 71,1; 66,9; 56,7; 55,2; 54,5; 44,9. El HRMS calculado para C₂₁H₂₄O₅Na [M+Na]⁺: 379,1521; encontrado 379,1511.

Etapas 4: *Síntesis de (1S, 2R, 3S, 4S, 5R) -2-(6-Amino-9H-purin-9-il) -4-((benciloxi) metil) -5-((4-metoxibencil) oxi) ciclopentano-1,3-diol 8*

Adenina (1,23 g; 9,1 mmol) y (1S, 2S, 3S, 4R, 5R) -3-((Benciloxi) metil) -4-((4-metoxibencil) oxi) -6-oxabicyclo[3.1.0] hexan-2-ol (1,30 g; 3,65 mmol) se suspendieron en DMF (20 ml) bajo N₂ durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se añadió 1,8-diazabicyclo[5.4.0] undec-7-eno (DBU, 1,64 ml, 10,9 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante 8 h. Después de la reacción se enfrió a temperatura ambiente, el sólido resultante se separó por filtración sobre Celite y después se aclaró con CH₂Cl₂. El filtrado se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna para obtener a **8** (900 mg, 50 %) como un sólido blanco (CH₂Cl₂/MeOH, 20:1): m.p. 163-165 °C; RMN-¹H (400 MHz, DMSO) δ ppm 8,13 (s, 1H); 8,10 (s, 1H); 7,36-7,27 (m, 7H); 7,16 (s, 2H); 6,87 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H); 5,83 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H); 5,06 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H); 4,61-4,50 (m, 6H); 4,27 (m, 1H); 3,76-3,73 (m, 4H); 3,58 (dd, *J* = 4,2; 9,4 Hz, 1H); 3,51 (m, 1H); 2,10 (m, 1H); NMR-¹³C (100 MHz, DMSO) ppm δ 158,7; 156,1; 152,0; 149,9; 141,2; 138,6; 130,8; 129,3; 128,3; 127,5; 127,4; 119,6; 113,6; 77,8; 72,2; 71,1; 70,5; 70,3; 69,2; 67,6; 55,1; 50,7. El HRMS calculado para C₂₆H₃₀N₅O₅ [M+H]⁺: 492,2247; encontrado 492,2241.

Etapas 5: *Síntesis de (1R, 2S, 3R, 4S, 5S) -3-(6-Amino-9h-purin-9-il) -5-((benciloxi) metil) -ciclopentano-1,2,4- triol 10*

A una solución de (1S, 2R, 3S, 4S, 5R) -2-(6-Amino-9H -purin-9-il) -4-((benciloxi) metil) -5-((4-metoxibencil) oxi) ciclopentano-1,3-diol (100 mg; 0,20 mmol) en MeOH (2 ml) se añadió HCl 1N (2 ml) y la solución se agitó a 50 °C durante 4 h. El disolvente se eliminó a presión reducida para obtener a **10** (70 mg, 94 %) como un sólido blanco que se usó directamente en esta forma en el siguiente paso. RMN-¹H (600 MHz, MeOD) ppm δ 8,59 (s, 1H); 8,44 (s, 1H); 7,42-7,29 (m, 5H); 4,89 (m, 1H); 4,63 (m, 3H); 4,53 (m, 1 H); 4,17 (m, 1H); 3,76 (m, 2H); 2,23 (m, 1H). El HRMS calculado para C₁₈H₂₂N₅O₃ [M+H]⁺: 372,1672; encontrado 372,1666.

Etapas 6: *Síntesis de (3aS, 4R, 5S, 6S, 6aR) -4-(6-Amino-9H-purin-9-il) -6-((benciloxi) metil) -2,2-dimetiltetrahydro-3aH-ciclopenta [d] [1,3] dioxol-5-ol 11*

A una solución de (1R, 2S, 3R, 4S, 5S) -3-(6-Amino-9H-purin-9-il) -5-((benciloxi) metil) -ciclopentano-1,2,4-triol (70 mg, 0,19 mmol) en acetona (5 ml) se añadieron ortoformiato de trietilo (0,25 ml; 1,50 mmol) y *p*-TsOH • H₂O (65 mg; 0,33 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h, se inactivó con solución saturada de NaHCO₃ (10 ml) y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se evaporaron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna (EtOAc/MeOH, 20:1) para obtener a **11** (60 mg; 77 %) como una espuma blanca: RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,26 (s, 1 H); 8,00 (s, 1H); 7,36-7,24 (m, 5H); 5,80 (s, 2H); 4,80 (t, *J* = 7,02 Hz, 1H); 4,70-4,63 (m, 2H); 4,60 (s, 2H); 4,42 (dd, *J* = 6,8; 9,6 Hz, 1H); 3,78 (m, 2H); 2,50 (m, 1H); 1,61 (s, 3H); 1,38 (s, 3H); RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 155,6; 152,0; 149,4; 140,6; 137,9; 128,3; 127,6; 119,3; 113,3; 79,6; 77,9; 73,3; 73,2; 69,3; 67,9; 50,1; 27,1; 24,8. El HRMS calculado para C₂₁H₂₆N₅O₄ [M+H]⁺: 412,1985; encontrado 412,1975.

Etapas 7: *Síntesis de (3aS, 4S, 5S, 6R, 6aR) -4-(6-Amino-9H-purin-9-il) -6-99benciloxi) metil) -2,2-dimetiltetrahydro-3aH-ciclopenta [d] [1,3] dioxol-5-il metanosulfonato 12*

A una solución de (3aS, 4R, 5S, 6S, 6aR) -4-(6-Amino-9H -purin-9-il) -6-((benciloxi) metil) -2,2-dimetiltetrahydro-3a H-ciclopenta [d][1,3] dioxol-5-ol (90 mg; 0,22 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (20 ml), se adicionaron gota a gota, trietilamina (0,06 ml; 0,44 mmol), cloruro de metanosulfonilo (0,02 ml; 0,26 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (5 mg; 0,04 mmol) a 0 °C bajo N₂. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se inactivó con solución saturada de NaHCO₃ y se extrajo con CH₂Cl₂. Las fases orgánicas se secaron (Na₂SO₄). El residuo, después

de la filtración y la evaporación, se cargó en gel de sílice. La cromatografía en columna (EtOAc/MeOH, 30:1) obtuvo a **12** (100 mg, 93 %) como una espuma blanca: RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,32 (s, 1H); 7,84 (s, 1H); 7,41-7,34 (m, 5H); 6,28 (s, 2H); 5,78 (t, *J* = 9,2 Hz, 1H); 5,15 (m, 1H); 4,82 (ddd, *J* = 9,3; 8,0; 5,6 Hz, 2H); 4,61 (s, 2H); 3,83 (dd, *J* = 9,7; 4,0 Hz, 1H); 3,76 (dd, *J* = 9,7; 4,0 Hz, 1H); 2,63-2,55 (m, 1H); 2,53 (s, 3H); 1,59 (s, 3H); 1,30 (s, 3H); RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 155,8; 152,3; 149,9; 140,5; 137,8; 128,5; 127,9; 127,8; 120,3; 113,5; 81,2; 79,2; 77,5; 73,5; 66,9; 66,7; 49,1; 37,5; 27,5; 25,1. El HRMS calculado para C₂₂H₂₈N₅O₆S [M+H]⁺: 490,1760; encontrado 490,1782.

Etapa 8: *Síntesis de 9-((3aS, 6R, 6aR) -6-((Benciloxi) metil) -2,2-dimetil-6, 6a-dihidro-3aH-ciclopenta[d] [1,3] dioxol-4-il) -9H-purina-amina 13*

A una solución de (3aS, 4S, 5S, 6R, 6aR) -4-(6-Amino-9H-purin-9-il) -6-99benciloxi metil) -2,2-dimetiltetrahidro -3aH-ciclopenta[d] [1,3] dioxol-5-il metanosulfonato (70 mg; 0,14 mmol) en THF (5 ml) se añadió metóxido de sodio (25 mg; 0,46 mmol) en MeOH (0,5 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h. El residuo, después de la evaporación a presión reducida, se cargó en gel de sílice, que luego se añadió a una columna para la purificación cromatográfica (EtOAc/MeOH, 50:1) para obtener a **13** (50 mg; 89 %) como un sólido blanco, m.p. 187-188 °C: RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,40 (s, 1H); 8,26 (s, 1H); 7,33-7,28 (m, 5H); 6,70 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H); 6,16 (s, 2H); 5,53 (dd, *J* = 5,8; 1,1 Hz, 1H); 4,73 (d, *J* = 5,8 Hz, 1H); 4,54 (s, 2H); 3,69 (dd, *J* = 9,4; 4,6 Hz, 1H); 3,48 (dd, *J* = 9,4; 6,1 Hz, 1H); 3,25 (m, 1H); 1,42 (s, 3H); 1,41 (s, 3H); RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 155,5; 153,4; 150,1; 138,7; 138,6; 135,3; 128,4; 127,7; 127,6; 119,8; 119,2; 111,6; 82,9; 80,6; 73,2; 70,6; 50,1; 27,4; 25,9. El HRMS calculado para C₂₁H₂₄N₅O₃ [M+H]⁺: 394,1879; encontrado 394,1873.

Etapa 9: *Síntesis de ((3aR, 4R, 6aS) -6- (6-Amino-9H-purin-9-il) -2,2-dimetil-4,6a-dihidro-3aH-ciclopenta[d] [1,3] dioxol-4-il) metanol 14*

Una solución de 9 - ((3a S , 6 R , 6a R) -6 - ((Benciloxi) metil) -2,2-dimetil-6,6a-dihidro-3a H -ciclopenta [d] [1,3] dioxol-4-il) -9H-purina-amina (300 mg, 0,76 mmol) y 20% de Pd (OH)₂ / C (375 mg) en ciclohexeno (5 ml) y EtOH (8 ml) se calentó a reflujo durante 12 h y luego se filtra a través de Celite. El filtrado se evaporó hasta sequedad bajo presión reducida y se purificó por cromatografía en columna (EtOAc/MeOH, 9:1) para obtener a **14** (200 mg, 87 %) como un sólido blanco. RMN-¹H (400 MHz, MeOD) ppm δ 8,34 (s, 1H); 8,26 (s, 1H); 6,60 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H); 5,65 (dd, *J* = 1,2; 5,8 Hz, 1H); 4,75 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H); 4,62 (br, 1H, OH); 3,77 (dd, *J* = 4,9; 11,1 Hz, 1H); 3,63 (dd, *J* = 5,8; 11,1 Hz, 1H); 3,09 (m, 1H); 1,42 (s, 3H); 1,38 (s, 3H); RMN-¹³C (100 MHz, MeOD) δ ppm 157,6; 154,5; 151,0; 140,4; 137,1; 121,3; 120,5; 112,6; 84,1; 81,9; 64,0; 53,8; 27,8; 26,0. El HRMS calculado para C₁₄H₁₈N₅O₃ [M+H]⁺: 304,1410; encontrado 304,1411.

Etapa 10: *Síntesis de "D" -Isonoplancina; (1R, 2S, 5R) -3-(6-Amino-9H-purin-9-il) -5-(hidroximetil) ciclopent-3-eno-1,2-diol 2*

A una solución de ((3aR, 4R, 6aS) -6-(6-Amino-9H-purin-9-il) -2,2-dimetil-4,6a-dihidro-3aH-ciclopenta[d] [1,3] di-oxol-4-il) metanol (190 mg; 0,63 mmol) en MeOH (2 ml) se añadió HCl 2N (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La solución se neutralizó luego con resina IRA-67 y el filtrado se evaporó para obtener a **2** (150 mg; 90 %) como un sólido blanco pálido, m.p. 195-196 °C: RMN-¹H (600 MHz, D₂O) δ ppm 8,00 (s, 1H); 7,83 (s, 1H); 6,17 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H); 4,86 (dd, *J* = 1,3; 5,9 Hz, 1H); 4,09 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H); 3,76 (dd, *J* = 4,6; 11,5 Hz, 1H); 3,63 (dd, *J* = 5,5; 11,5 Hz, 1H); 2,87 (m, 1H); RMN-¹³C (150 MHz, D₂O) δ ppm 154,9; 152,3; 147,8; 139,5; 134,5; 123,6; 117,8; 73,0; 71,0; 61,0; 22,9 50,8. El HRMS calculado para C₁₁H₁₄N₅O₃ [M+H]⁺: 264,1097; encontrado 264,1093. [α]_D^{22,9} 38,5° (c 0,18; H₂O).

Los procedimientos de síntesis para D-isonoplancina requirieron una ruta distinta y la separación de los compuestos enantioméricos, dando como resultado una ruta de síntesis separada para generar el enantiómero L-isonoplancina más preferente.

Ejemplo 2

Síntesis de la L-isonoplancina.

Etapas 1-3: El procedimiento descrito en el Ejemplo 1, las etapas 1-3 para la preparación de (1S, 2S, 3S, 4R, 5R) -3 - ((Benciloxi) metil) -4 -((4-metoxibencil) oxi) -6-oxabencil [3.1.0] hexan-2-ol **7**.

Etapa 4: *Síntesis de (1S, 2R, 3R, 4R, 5S) -3-(6-Amino-9H-purin-9-il) -5-((benciloxi) metil) -4-((4-metoxibencil) oxi) ciclopentano-1,2-diol 9*

Adenina (1,23 g; 9,1 mmol) y (1S, 2S, 3S, 4R, 5R) -3-((Benciloxi) metil) -4-((4-metoxibencil) oxi) -6-oxabencil[3.1.0] hexan-2-ol (1,30 g; 3,65 mmol) se suspendieron en DMF (20 ml) bajo N₂ durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se añadió 1,8-diazabencil[5.4.0] undec-7-eno (DBU, 1,64 ml, 10,9 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante 8 h. Después de la reacción se enfrió a temperatura ambiente, el sólido resultante se separó por filtración sobre Celite y después se aclaró con CH₂Cl₂. El filtrado se evaporó a presión reducida y el residuo se purificó por

cromatografía en columna para obtener a **9** (550 mg, 31 %) como espuma blanca (CH₂Cl₂/MeOH, 10:1, respectivamente): RMN-¹H (600 MHz, MeOD) δ ppm 8,07 (s, 1H); 7,96 (s, 1H); 7,42-7,30 (m, 5H); 6,69 (d, J = 8,2 Hz, 2H); 6,47 (d, J = 8,5 Hz, 2H); 4,72 (t, J = 9,0 Hz, 1H); 4,58 (m, 3H); 4,41 (t, J = 7,1 Hz, 1H); 4,28 (d, J = 12,1 Hz, 1H); 4,18 (d, J = 12,1 Hz, 1H); 4,04 (m, 1H); 3,63 (m, 5H); 2,31 (m, 1H); RMN-¹³C (150 MHz, MeOD) ppm δ 160,6; 157,1; 153,2; 150,9; 142,9; 139,9; 131,0; 130,5; 129,5; 129,1; 128,9; 120,9; 114,3; 78,6; 74,4; 73,4; 72,9; 72,6; 70,8; 68,7; 55,7; 52,7. El HRMS calculado para C₂₆H₃₀N₅O₅ [M+H]⁺: 492,2247; encontrado 492,2243.

Etapa 5: Síntesis de 9-((3aR, 4S, 5R, 6R, 6aS)-6-((Benciloximetil)-5-((4-metoxibencil)oxi)-2,2-dimetiltetrahidro-3aH-ciclopenta[d][1,3]dioxol-4-il)-9H-purin-6-amina **15**

A una solución de (1S, 2R, 3R, 4R, 5S)-3-(6-Amino-9H-purin-9-il)-5-((benciloxi)metil)-4-((4-metoxibencil)oxi)ciclopentano-1,2-diol (90 mg; 0,18 mmol) en acetona (5 ml) se añadió ortoformiato de trietilo (0,18 ml; 1,08 mmol) y p-TsOH · H₂O (41 mg; 0,21 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h, se inactivó con solución saturada de NaHCO₃ (10 ml) y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se evaporaron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (EtOAc/MeOH, 20:1) para obtener a **15** (80 mg, 84 %) como una espuma blanca: RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,26 (s, 1H); 7,71 (s, 1H); 7,40-7,31 (m, 5H); 6,71 (d, J = 8,7 Hz, 2H); 6,52 (d, J = 8,7 Hz, 2H); 6,03 (s, 2H); 5,10 (m, 1H); 4,76-4,70 (m, 3H); 4,69-4,63 (m, 2H); 4,15 (d, J = 11,6 Hz, 1H); 4,00 (d, J = 11,6 Hz, 1H); 3,76 (dd, J = 3,6; 9,6 Hz, 1H); 3,70-3,64 (m, 4H); 2,37 (m, 1H); 1,54 (s, 3H); 1,28 (s, 3H); RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 159,1; 155,5; 152,4; 149,6; 140,9; 138,1; 129,5; 129,1; 128,4; 127,72; 127,69; 120,5; 113,3; 112,9; 78,63; 78,60; 77,4; 73,2; 72,8; 68,5; 67,6; 55,1; 50,1; 27,5; 25,0. El HRMS calculado para C₂₉H₃₄N₅O₅ [M+H]⁺: 532,2560; encontrado 532,2568.

Etapa 6: Síntesis de (3aR, 4S, 5R, 6R, 6aS)-4-(6-Amino-9H-purin-9-il)-6-((benciloxi)metil)-2,2-dimetiltetrahidro-3aH-ciclopenta[d][1,3]dioxol-5-ol **16**

A una solución de 9-((3aR, 4S, 5R, 6R, 6aS)-6-((Benciloximetil)-5-((4-metoxibencil)oxi)-2,2-dimetiltetrahidro-3aH-ciclopenta[d][1,3]dioxol-4-il)-9H-purin-6-amina (70 mg; 0,13 mmol) en CH₂Cl₂/H₂O (20:1,5 mL) se añadió 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (60 mg; 0,26 mmol) a 0 °C. Después de 5 h, la mezcla de reacción se vertió en NaHCO₃ saturado, se extrajo con CH₂Cl₂ y las capas orgánicas combinadas, se secaron (Na₂SO₄), se filtró y se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna (EtOAc/MeOH, 20:1) para obtener a **16** (50 mg, 93 %) como un sólido blanco, m.p. 172-174 °C. El HRMS calculado para C₂₁H₂₆N₅O₄ [M+H]⁺: 412,1985; encontrado 412,1966.

Etapa 7: Síntesis de (3aR, 4R, 5R, 6S, 6aS)-4-(6-Amino-9H-purin-9-il)-6-((benciloxi)metil)-2,2-dimetiltetrahidro-3aH-ciclopenta[d][1,3]dioxol-5-il metanosulfonato **17**

Siguiendo el procedimiento para la preparación de **12**, se obtuvo el compuesto **17** a partir de **16** (220 mg; 0,54 mmol) como una espuma blanca (240 mg, 90 %). Las mediciones espectroscópicas de RMN ¹H y ¹³C fueron consistentes con lo informado anteriormente para **12**. El HRMS calculado para C₂₂H₂₈N₅O₆S [M+H]⁺: 490,1760; encontrado 490,1782.

Etapa 8: Síntesis de 9-((3aR, 6S, 6aS)-6-((Benciloxi)metil)-2,2-dimetil-6,6a-dihidro-3aH-ciclopenta[d][1,3]dioxol-4-il)-9H-purin-6-amina **18**

Siguiendo el procedimiento para la preparación de **13**, se obtuvo el compuesto **18** a partir de **17** (210 mg; 0,42 mmol) como un sólido blanco (150 mg, 90 %). Las mediciones espectroscópicas de RMN ¹H y ¹³C fueron consistentes con lo informado anteriormente para **13**. El HRMS calculado para C₂₁H₂₄N₅O₃ [M+H]⁺: 394,1879; encontrado 394,1848.

Etapa 9: Síntesis de ((3aS, 4S, 6aS)-6-(6-Amino-9H-purin-9-il)-2,2-dimetil-4,6a-dihidro-3aH-ciclopenta[d][1,3]dioxol-4-il)metanol **19**

Siguiendo el procedimiento para la preparación de **14**, se obtuvo el compuesto **19** a partir de **18** (120 mg; 0,30 mmol) como un sólido blanco (80 mg, 87 %). Las mediciones espectroscópicas de RMN ¹H y ¹³C fueron consistentes con lo informado anteriormente para **14**. El HRMS calculado para C₁₄H₁₈N₅O₃ [M+H]⁺: 304,1410; encontrado 304,1401.

Etapa 10: Síntesis de "L"-Isonoplanocina; (1S, 2R, 5S)-3-(6-Amino-9H-purin-9-il)-5-(hidroximetil)ciclopent-3-eno-1,2-diol **3**

Siguiendo el procedimiento para la preparación de **2**, se obtuvo el compuesto **3** a partir de **19** (70 mg; 0,23 mmol) como un sólido blanco (56 mg, 92 %), m.p. 191-193 °C. Las mediciones espectroscópicas de RMN ¹H y ¹³C fueron consistentes con lo informado anteriormente para **2**. El HRMS calculado para C₁₁H₁₄N₅O₃ [M+H]⁺: 264,1097; encontrado 264,1090. [α]_D^{23,0} -32,8 ° (c 0,04; H₂O).

Los procedimientos de síntesis para la L-isonoplanocina llegaron beneficiosamente al enantiómero preferente. Sin embargo, se preferiría una ruta de síntesis distinta que emplee materiales de partida alternativos para generar preferentemente un único enantiómero sin requerir la separación del enantiómero.

Ejemplo 3

Actividades antivirales de la "D" -Isonoplanocina y la "L" -Isonoplanocina

5 La "D" -Isonoplanocina y la "L" -Isonoplanocina sintetizada en los ejemplos 1 y 2, respectivamente, se evaluaron tanto contra el virus de ADN y como de ARN para abordar su eficacia en la reducción de la replicación viral. La concentración del compuesto que resulta de la reducción del 50 % de la replicación viral (CE_{50}), la concentración del compuesto que reduce la viabilidad celular en un 50 % (CC_{50}) y el índice de selectividad ($SI_{50}:CC_{50}/CE_{50}$) se muestran en la Tabla 1.

10 Los ensayos antivirales se basaron en la inhibición de la citopaticidad inducida por virus en cualquiera de los cultivos de células 2,2,15 (VHB), HFF (vaccinia, HCMC), HG23 (NOV) o Vero (Dengue, Sarampión, Ébola), siguiendo procedimientos previamente establecidos (Chen y col., Bio. & Med. Chem 2014, 22, 6961-6964, incluida la descripción de los procedimientos de ensayo en las referencias 12 (a)-(i)). Se inocularon cultivos de células confluentes en placas de microtitulación de 36 pocillos con 100 $CCID_{50}$ de virus, siendo 1 $CCID_{50}$ la dosis de virus requerida para infectar el 50 % de los cultivos celulares. Después de un período de absorción de virus de 1 hora, se eliminó el virus residual y los cultivos celulares se incubaron en presencia de concentraciones variables de los compuestos de prueba. La citopaticidad viral se registró tan pronto como se completó en los cultivos de células infectadas con el virus control que no se trataron con los compuestos de prueba.

20 TABLA 1 (Actividad antiviral de la "D" -Isonoplanocina y la "L" -Isonoplanocina (en μM))

25	Virus (línea celular huésped)	"D"-Isonoplanocina	"L"-Isonoplanocina
30	VHB (2,2,15)	CE_{50} 7,2 CE_{90} 35 CC_{50} > 100 IS_{50} > 14 IS_{90} > 3	inactivo
35	Vaccinia (HFF)	CE_{50} 10,08 CE_{90} > 300 CC_{50} > 300 IS_{50} > 30 IS_{90} 1	inactivo
40	MVHC (HFF)	CE_{50} 0,11 CE_{90} > 12 CC_{50} > 49,33 IS_{50} > 448 IS_{90} < 4	CE_{50} 3,70 FC_{90} 6,86 CC_{50} > 300 IS_{50} > 81 IS_{90} > 44
45	NOV (HG23)	CE_{50} 0,784 CE_{90} 8,884 CC_{50} > 100 IS_{50} > 128 IS_{90} > 11	CE_{50} 11 CE_{90} 89 CC_{50} > 300 IS_{50} > 9 IS_{90} > 1
50	Dengue (Vero 76)	CE_{50} 1,1; 1,5 CC_{50} 25,3; 23,8 IS_{50} 17; 21	CE_{50} 6,1; 5,7 CC_{50} 87; 122 IS_{50} 15; 21
55	Sarampión (Vero 76)	CE_{50} < 0,38 CE_{90} ND ^a CC_{50} > 1,33 IS_{50} > 3,5	CE_{50} 0,72; 0,72 CE_{90} ND ^a CC_{50} > 12,2; 15,2 IS_{50} 17; 21
60			
65			

5	Ébola (Zaire) (Vero)	CE ₅₀ 0,38 CC ₅₀ 1,3 IS ₅₀ 3,5	CE ₅₀ 0,76 CC ₅₀ 11,4 IS ₅₀ 15
	^a ND, no determinado		

Como se muestra en la Tabla 1, ambos enantiómeros de la isoneplanocina proporcionan actividad frente al citomegalovirus humano (MVHC), Sarampión, Ébola, norovirus y Dengue. La "D" isoneplanocina mostró actividad frente al virus de la hepatitis B y al virus de la vaccinia. En general, la "D" -Isonneplanocina mostró citotoxicidad a concentraciones más bajas en comparación con la "L" -Isonneplanocina demostrando una preferencia por el L -enantiómero como un posible candidato a fármaco para la actividad antiviral.

Ejemplo 4

Inhibición de la S-adenosilhomocisteína hidrolasa (SAHase) por la "D" -Isonneplanocina y la "L" -Isonneplanocina

Como consecuencia de que la "D"-Isonneplanocina y la "L"-Isonneplanocina, siendo isómeros de la Neplanocina A, que por un lado es un potente inhibidor de la S-adenosilhomocisteína hidrolasa (SAHase), de un mecanismo reconocido como una fuente de su actividad antiviral y por otro lado se piensa que contribuye a la citotoxicidad, se ensayó la eficacia inhibitoria sobre la actividad de la SAHase (fuente: eritrocitos de conejo). La inhibición de la actividad SAHase puede cuantificarse mediante la liberación de homocisteína libre. La SAHase de los eritrocitos de conejo (Sigma) se dializa a 4 °C durante 2 h en un tampón que contiene glicerol al 20 % y fosfato de potasio 50 mM; pH 7,4. La presencia de la adenosina desaminasa asegura que la reacción procederá únicamente en la dirección de avance (hidrólisis). La preparación de la enzima se incubó con o sin los compuestos de interés a diferentes concentraciones en tampón de fosfato de potasio 50 mM pH 7,4 durante 5 minutos a 37 °C antes de agregar la SAH. La formación de la homocisteína se detecta utilizando el reactivo de cuantificación de tior Measurement-ITTM de acuerdo con las instrucciones del fabricante (*Life technologies, Carlsbad, CA*). Las placas se leen en Spectra Max M2 (dispositivos moleculares).

El ensayo produjo los siguientes resultados (CI₅₀ en nM): neplanocina A (0,9 nM); "D" -Isonneplanocina A (0,9 nM); "L" -Isonneplanocina A (27 nM). La "D" -Isonneplanocina posee un efecto inhibitorio sobre la SAHase comparable a la neplanocina A, mientras que se requiere una concentración mucho mayor de la "L" -Isonneplanocina para inhibir la SAHase en la misma medida, lo que sugiere que el enantiómero "L" - Isonneplanocina muestra considerablemente menos efecto inhibitorio sobre la actividad SAHase.

En conjunto, estos datos indican que la L-Isonneplanocina es 2 veces menos activa contra el Ébola que el isómero D- pero también fue menos tóxica. Los resultados inhibitorios de la SAHase sugirieron una correlación con la actividad del Ébola para la D-Isonneplanocina; sin embargo, en el caso de la L-Isonneplanocina, el efecto más débil del Ébola puede deberse a su impacto reducido en la SAHase o la existencia de un mecanismo diferente anti-Ébola.

Ejemplo 5

Síntesis y propiedades antivirales de la 3-bromo-3-deazaneplanocina y la 3-bromo-3-deazaaristeromicina

Para explorar los mecanismos antivirales iniciados por los nucleósidos carbocíclicos de la 3-deazaadenina, se pueden sintetizar la 3-bromo-3-deazaneplanocina y la 3-bromo-3-deazaaristeromicina a partir de un ciclopentenol y una ciclopentanona fácilmente disponibles y de la 4-amino- o 4-cloro- 1H-imidazo [4,5-c] piridina (6-amino- o 6-cloro-3-deazaadenina) en 5 pasos y 7 pasos, como se describe en Liu y col. 2012.

Las propiedades antivirales de la 3-bromo-3-deazaneplanocina y la 3-bromo-3-deazaaristeromicina, análogos de la 3-deazaneplanocina, se analizan como en el ejemplo anterior 3. Ambos compuestos se evaluaron contra virus tanto de ADN como de ARN y las Tablas 2 y 3 enumeran dónde se observó actividad. Además, la actividad contra un panel de virus de la influenza se muestra en la Tabla 4.

TABLA 2 (Actividad antiviral de la 3-bromo-3-deazaneplanocina)

Virus	Línea celular	CE ₅₀ ^a μM	CC ₅₀ ^b μM	CC ₅₀ /CE ₅₀
Marburgo	HeLa	0,009	10	1100
Ébola	HeLa	3,3	11	3

^aConcentración de compuestos que reducen la replicación viral en un 50 %

^bConcentración de compuestos que reducen la viabilidad celular en un 50 %

TABLA 3 (Actividad antiviral de la 3-bromo-3-deazaneplanocina y la 3-bromo-3-deazaaristeromicina)

Virus	Línea celular	3-bromo-3-deazaneplanocina			3-bromo-3-deazaaristeromicina		
		CE ₅₀ ^a	CC ₅₀ ^b	IS ^c	CE ₅₀ ^a	CC ₅₀ ^b	IS ^c
			MCC ^d				
Fiebre del Valle del Rift	Vero 76	<0,094	23,2 ^b	250	58,3	>290	5
Punta Toro	Vero 76	0,25	35 ^b	140			
Tacaribe	Vero 76	<0,094	188 ^b	> 2000	9,9	79	7,9
Pichinde	Vero	1,2	27,5 ^b	24			
Junin	Vero	0,094	15,2 ^b	160	93		
Dengue	Vero	2,9	167 ^b	57	230	184	2
Vaccinia	HeLa	0,5	> 100 ^d			> 300	> 1,3
Estomatitis vesicular	HeLa	0,4	100 ^d				
Epstein Barr	Akata	> 0,03	0,13 ^b	<4,3			
Parainfluenza-3	Vero	0,5	> 100 ^d				
Herpes felino	CRFK	0,2	94 ^b	470			
^a Concentración de compuestos CE ₅₀ que reducen la replicación viral en un 50 %							
^b Concentración de compuestos CC ₅₀ que reducen la viabilidad celular en un 50 %							
^c IS:CC ₅₀ /CE ₅₀							
^d MCC: concentración mínima de compuesto que causa una alternancia microscópicamente detectable de la morfología celular normal							

TABLA 4 (Actividades *in vitro* de la 3-Bromo-3-deazaneplanocina y la 3-Bromo-3-deazaaristeromicina contra virus de la influenza (en µM)^{abc})

Virus	Línea celular	3-bromo-3-deazaneplanocina			3-bromo-3-deazaaristeromicina		
		^a CE ₅₀	^b CC ₅₀	^c IS	^a CE ₅₀	^b CC ₅₀	^c IS
Gripe A (H1N1)	MDCK	<0,094	220	> 2345	>290	>290	0
Gripe A (H3K2)	MDCK	1,55	>290	> 190	>290	>290	0
Gripe A (H5N1)	MDCK	0,94	>290	> 310	1,14	>290	> 260
Influenza B	MDCK	> 0,16	1,1	<7	0,84	>290	> 340
^a Concentración de compuestos CE ₅₀ que reducen la replicación viral en un 50 %							
^b Concentración de compuestos CC ₅₀ que reducen la viabilidad celular en un 50 %							
^c IS:CC ₅₀ /CE ₅₀							

El análisis antiviral descubrió que la 3-bromo-3-deazaneplanocina muestra una actividad significativa frente a varios (-)-ssRNA y algunos virus dsDNA. La 3-bromo-3-deazaaristeromicina fue menos activa que la 3-bromo-3-deazaneplanocina frente a ejemplos seleccionados de aquellos virus afectados por la 3-bromo-3-deazaneplanocina. La 3-bromo-3-deazaneplanocina muestra una mayor eficacia en la reducción de la replicación viral, aunque con una citotoxicidad incrementada en comparación con la 3-bromo-3-deazaaristeromicina como se muestra en las Tablas 3 y 4. Es importante destacar que la 3-bromo-3-deazaneplanocina muestra actividad antiviral contra un gran panel de virus de ADN y de ARN, lo que sugiere su utilidad como un agente de amplio espectro para la fiebre hemorrágica viral.

Ejemplo 6

Inhibición de la S-adenosilhomocisteína hidrolasa (SAHase) por la 3-deazaneplanocina y la 3-bromo-3-deazaneplanocina

La 3-deazaneplanocina y la 3-bromo-3-deazaneplanocina se evaluaron frente a la eficacia inhibitoria de la SAHase (representada en la Figura 6 como la actividad de la SAHase cuantificada por la liberación de homocisteína libre), como se describe en el ejemplo anterior 4. Los resultados se muestran en la Tabla 5 y la Figura 7.

TABLA 5 (Propiedades inhibitorias *versus* SAHase (CI₅₀)^a)

Compuesto	CI ₅₀
3-deazaneplanocina	9,3 nM
"D"-Isononeplanocina	0,9 nM
"L"-Isononeplanocina	27 nM
"D"-3-Deazaisoneplanocina	3,19 nM
"L"-3-Deazaisoneplanocina	> 10 000 nM
3-bromo-3-deazaneplanocina	2,7 nM
^a De los eritrocitos de conejo	

Este ensayo produjo los siguientes resultados (CI₅₀ en nM): 3-Deazaneplanocin (9,3 nM); 3-Bromo-3-Deazaneplanocin (2,7 nM) (Tabla 5). La 3-bromo-3-deazaneplanocina muestra menos eficacia en la inhibición de SAHase en comparación con la 3-deazaneplanocina (como se muestra en la Tabla 5), como se muestra en la Figura 7. Las estructuras químicas de los análogos de la neplanocina evaluados se muestran en la Figura 8 (D-3-deazaisoneplanocina (8A), L-3-deazaisoneplanocina (8B), D-3-bromo-3-deazaneplanocina (8C) y L-3-bromo-3-deazaneplanocina (8D). La amplia actividad antiviral observada con 3-Bromo-3-Deazaneplanocina se correlaciona con la inhibición de la SAHase, lo que sugiere que el direccionamiento de esta enzima celular proporciona en gran medida el mecanismo de la actividad antiviral de la 3-Bromo-3-Deazaneplanocin. El desarrollo de terapias dirigidas a funciones codificadas por el huésped, como la 3-bromo-3-deazaneplanocina, es ventajoso no solo para reducir el desarrollo de la resistencia sino también para aumentar el potencial de la actividad antiviral de amplio espectro.

Ejemplo 7

Síntesis y actividad antiviral de la "D" 3-Deazaisoneplanocina y la "L" -3-Deazaisoneplanocina

Los estudios previos con candidatos antivirales basados en la neplanocina (ejemplos 3 y 5) condujeron a la evaluación de la 1', 6'-iso-3-deazaneplanocina isomérica que, en base al análisis anterior de sus dramáticas diferencias estructurales, se evalúa por sus distintas propiedades antivirales. El análisis coincidió con el interés en las series de L-nucleósidos carbocíclicos, que habían recibido poca atención como fuente de candidatos antivirales, pero fue una característica estructural atractiva debido a la disminución de la toxicidad asociada con los nucleósidos de L-ribofuranosilo. Por lo tanto, estos intereses se combinaron para buscar a "D-" y "L-" 1',6'-iso-3-deazaneplanocina y sus análogos como candidatos antivirales. La síntesis de la "D" -3-Deazaisoneplanocina y la "L" -3-Deazaisoneplanocina en un esquema tal como los ejemplos anteriores 1, 2 y 5.

Se realizaron pruebas antivirales en "D"-3-Deazaisoneplanocina y "L"-3-Deazaisoneplanocina utilizando los siguientes ensayos: virus del Sarampión (visual) y (rojo neutro), citomegalovirus humano (violeta cristal) y virus del Ébola (Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real). La actividad antiviral de los compuestos se probó *in vitro* en la línea celular Vero 76 para el Sarampión, la línea celular HFF para el MVHC y la línea celular HepG para el Ébola.

Los datos de la "D" -3-Deazaisoneplanocina y la "L" -3-Deazaisoneplanocina: Sarampión: "D" -3-Deazaisoneplanocina, CE₅₀<0,1; CC₅₀> 100, IS₅₀> 1000; ensayo de fármacos: visual (efecto citopático/toxicidad).

Sarampión: "D"-3-Deazaisoneplanocina, $CE_{50} < 0,1$; CC_{50} 43, $IS_{50} > 430$; ensayo de fármacos: rojo neutro (efecto citopático/toxicidad). Sarampión: "L"-3-Deazaisoneplanocina, CE_{50} 8,7; $CC_{50} > 100$, $IS_{50} > 11$; ensayo de fármacos: visual (efecto citopático/toxicidad). Sarampión: "L"-3-Deazaisoneplanocina, CE_{50} 5,5; $CC_{50} > 100$, SI_{50} 18; ensayo de drogas: rojo neutro (efecto citopático/toxicidad). HCMV: "D"-3-Deazaisoneplanocina, $CE_{50} < 0,1$; $CC_{50} > 300,00$; $IS_{50} > 3000$, $CE_{90} < 0,10$; $IS_{90} > 3000$; ensayo de fármacos: cristal violeta (efecto citopático/toxicidad). HCMV: "L"-3-Deazaisoneplanocina, $CE_{50} < 0,1$; $CC_{50} > 300,00$, $IS_{50} > 3000$, $CE_{90} < 0,10$; $IS_{90} > 3000$; ensayo de drogas: cristal violeta (efecto citopático/toxicidad). Ébola: "D"-3-Deazaisoneplanocina, $CE_{50} < 0,32$; $CC_{50} > 100,00$, $IS_{50} > 313$, $CE_{90} > 74,10$; $IS_{90} > 1$; ensayo de fármacos: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (reducción del rendimiento del virus/CellTiter 96, toxicidad). Ébola: "L"-3-Deazaisoneplanocina, $CE_{50} < 0,32$; $CC_{50} > 100,00$; $IS_{50} > 312$, $CE_{90} < 0,32$; $IS_{90} > 312$; ensayo de fármacos: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (reducción del rendimiento del virus/CellTiter 96, toxicidad).

TABLA 6 (Propiedades antivirales de la "D-" y la "L-" 3-Deazaisoneplanocina)

Virus	Línea celular	"D"-3-Deazaisoneplanocina				"L"-3-Deazaisoneplanocina			
		CE_{50}	CE_{90}	CC_{50}	IS_{50}	CE_{50}	CE_{90}	CC_{50}	IS_{50}
Virus del Sarampión	Vero 76	<0,1		> 100	> 1000	8,7		> 100	> 11
Citomegalovirus humano	HFF	<0,10	<0,10	> 300	> 3000	<0,10	<0,10	> 300	> 3000
Ébola (Zaire)	HepG	<0,32	74,1	> 100,00	> 313	<0,32	<0,32	> 100,00	> 312

Concentración de compuestos CE_{50} que reducen la replicación viral en un 50 %
 Concentración de compuestos CE_{90} que reducen la replicación viral en un 90 %
 Concentración de compuestos CC_{50} que reducen la viabilidad celular en un 50 %
 $IS_{50}CC_{50}/CE_{50}$

Los enantiómeros de D y L-3-deazaisoneplanocina muestran actividad contra el virus del Sarampión (Vero 76), el citomegalovirus humano (HFF) y el Ébola (HepG). Los datos de la CI_{50} del Ébola (Zaire) en células HepG mostraron que ambos enantiómeros eran equipotentes y no citotóxicos ($CI_{50} < 0,32 \mu M$; $CC_{50} > 100 \mu M$) pero a CI_{90} la "L"-3-Deazaisoneplanocina fue más potente ($CI_{90} < 0,32 \mu M$ comparado con la "D"-3-Deazaisoneplanocina, CI_{90} 74,1 μM). Los datos de SAHase fueron igualmente relevantes para los dos enantiómeros (Tabla 5 y ejemplo 8); D-5 (CI_{50} 3,19 nM) y "L"-3-Deazaisoneplanocina ($CI_{50} > 10\ 000$ nM). En conjunto, estos datos sugieren que los resultados del Ébola para la "D"-3-deazaisoneplanocina se correlacionan con su efecto SAHase, pero lo mismo no se cumple para "L"-3-deazaisoneplanocina. Curiosamente, se han identificado dos candidatos contra el Ébola que son enantiómeros pero que actúan por diferentes mecanismos. Esta eficacia anti-Ébola se muestra adicionalmente en la Tabla 7.

TABLA 7

Compuesto	Línea celular	^a CE_{50}	^b CC_{50}	CC_{50}/CE_{50}
"D"-3-Deazaisoneplanocina	HepG	<0,32 μM	> 100 μM	> 313 μM
"L"-3-Deazaisoneplanocina	HepG	<0,32 μM	> 100 μM	> 313 μM

^aConcentración de compuestos que reducen la replicación viral en un 50 %
^bConcentración de compuestos que reducen la viabilidad celular en un 50 %

Ejemplo 8

Las pruebas antivirales se realizaron junto con los compuestos de control para el virus del Sarampión, el citomegalovirus humano y el virus del Ébola. Se aplicaron los siguientes ensayos de control: virus del Sarampión (visual) y (rojo neutro), citomegalovirus humano (cristal violeta) y virus del Ébola (reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real). La actividad antiviral de los compuestos de control se probó *in vitro* en la línea celular Vero 76 para el Sarampión, la línea celular HFF para el MVHC y la línea celular HepG para el Ébola.

Datos de referencia del fármaco control: Sarampión: 3-deazaguanina, CE_{50} 3,2; CC_{50} > 100, IS_{50} > 31; ensayo control: visual (efecto citopático/toxicidad). Sarampión: 3-deazaguanina, CE_{50} 2,1; CC_{50} > 100, IS_{50} > 48; ensayo de control: rojo neutro (efecto citopático/toxicidad). VHCM: ganciclovir, CE_{50} 0,47; CC_{50} > 300, IS_{50} > 638, CE_{90} 0,92; IS_{90} > 326; ensayo control: cristal violeta (efecto citopático/toxicidad). Ébola: carbocíclico 3-deazaadenosina (1), CE_{50} < 1,26; CC_{50} > 126,50; IS_{50} > 100, CE_{90} > 126,50; IS_{90} 1; ensayo control: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (reducción del rendimiento del virus/CellTiter 96, toxicidad). Ébola: carbocíclico 3-deazaadenosina (2), CE_{50} 7,69; CC_{50} > 400,00; IS_{50} > 52; ensayo control: ensayo control: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (reducción del rendimiento del virus/CellTiter 96, toxicidad). Ébola: E-64D, CE_{50} 8,44; CC_{50} > 400,00; IS_{50} > 47, CE_{90} 65,40; IS_{90} > 6; ensayo control: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (reducción del rendimiento del virus/CellTiter 96, toxicidad).

Curiosamente, la "D" -3-Deazaisoneplanocina (<0,1 µg/ml) mostró altas propiedades antivirales frente al Sarampión, requiriendo una concentración de fármaco aproximadamente 20 a 30 veces menor para reducir la replicación viral en la misma medida que el fármaco control, 3-Deazaguanina (3,2 µg/ml; 2,1 µg/ml), mientras mantiene niveles similares de citotoxicidad. Se descubrió que el enantiómero "L" es moderadamente activo frente al Sarampión, del mismo modo que se requieren concentraciones de fármaco entre 55 y 87 veces mayores (5,5 µg/ml; 8,7 µg/ml) para obtener una inhibición similar de la replicación viral por el "D-" enantiómero.

Además, se demostró que tanto la "D"-3-deazaisoneplanocina como la "L"-3-deazaisoneplanocina son altamente activas frente al HCMV. En comparación con el fármaco control, Ganciclovir, tanto "D-" como "L"-Deazaisoneplanocina requieren 4 y 9 veces menos concentración de fármaco para reducir la replicación viral en un 50 % y 90 %, respectivamente. Es importante destacar que las propiedades antivirales no fueron acompañadas con un aumento de la citotoxicidad en comparación con el Ganciclovir en este ensayo.

Por último, se demostró que tanto "D-" y "L" -3-Deazaisoneplanocina son altamente activas frente al Ébola, requiriendo concentraciones de fármaco de aproximadamente 3,9 a 26 veces más bajas para reducir la replicación del Ébola en un 50 % en comparación con los compuestos de control, la 3-deazaadenosina carbocíclica y el E-64D. El tratamiento de células HepG2 con la "L" -3-Deazaisoneplanocina <0,32 µM inhibió la replicación viral en un 90 %, mientras que para reducir la replicación del Ébola en la misma medida se requiere una concentración del fármaco entre 395 y 750 veces mayor para la 3-deazaadenosina carbocíclica (>126,5 µM; 240,3 µM), una concentración del fármaco 200 veces mayor para la E-64D (65,4 µM) y una concentración del fármaco 230 veces mayor para la "D"-3-deazaisoneplanocina (74,1 µM). Sin embargo, el aumento en la actividad anti-Ébola observado con "D-" y "L" -deazaisoneplanocina también se acompaña de un aumento en la citotoxicidad en comparación con los compuestos control.

Ejemplo 9

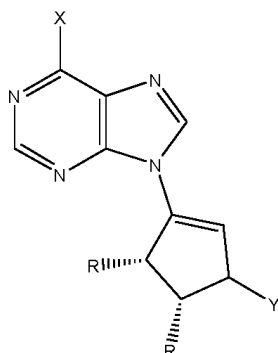
Inhibición de la S-adenosilhomocisteína hidrolasa (SAHase) por la "D"-3-Deazaisoneplanocina y la "L"-3-Deazaisoneplanocina

Este ensayo produjo los siguientes resultados (CI_{50} en nM): la "D"-3-Deazaisoneplanocin (3,19 nM), y la "L"-3-Deazaisoneplanocin (> 10 000 nM) (como se muestra anteriormente en la Tabla 5). La "L"-3-Deazaisoneplanocina muestra significativamente menos efecto inhibitorio sobre la SAHase en comparación con cualquier otro compuesto probado en la Tabla 5. El potente efecto de la "L"-3-Deazaisoneplanocina *versus* Ébola junto con sus propiedades más débiles frente a la SAHase sugiere que la inhibición de la SAHase no es el único sitio donde la "L"-3-Deazaisoneplanocina está actuando frente este virus.

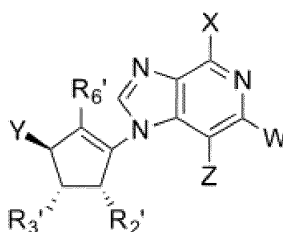
Las invenciones que se describen de este modo proporcionan una descripción de la fabricación y el uso de las composiciones y procedimientos divulgados, será obvio que los mismos pueden variar de muchas maneras. Dichas variaciones no deben considerarse como una desviación del alcance de las invenciones y todas esas modificaciones están destinadas a ser incluidas dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

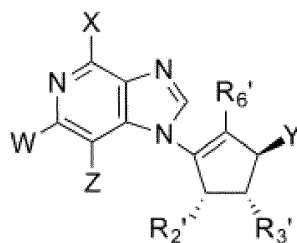
1. Un compuesto de la neplanocina de una de las siguientes fórmulas:



20 Análogo de la L-isonепlanocina,



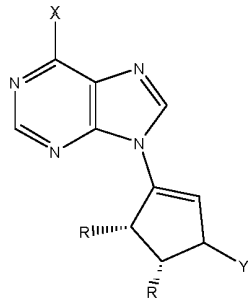
35 Análogo de la D-3-Deazaisoneplanocina



50 Análogo de la L-3-deazaisoneplanocina, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde

R es un grupo hidroxilo, halógeno o alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo,
 R₂' es un hidrógeno o un grupo hidroxilo, halógeno o alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo,
 R₃' es un hidrógeno o un grupo hidroxilo, halógeno o alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo,
 R₆' es un hidrógeno o un halógeno,
 W es un hidrógeno o un halógeno,
 X es NH₂, NHR'', NR''R', NHOH o hidrógeno (en donde R'' y R' son alquilo, arilo o arilalquilo),
 Y es un hidrógeno, un grupo hidroxilo, CH₂OH, CH₂NH₂, NHR'', NR''R', en donde R'' y R' son alquilo, arilo o arilalquilo, CH₂X (en donde X es un halógeno), o un alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo,
 Y' es un hidrógeno, CH₂OH, CH₂NH₂, NHR'', NR''R', en donde R'' y R' son alquilo, arilo o arilalquilo, CH₂X (en donde X es un halógeno), o un alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo, y Z es un hidrógeno, halógeno, alquilo o alquilo sustituido, o ciano.

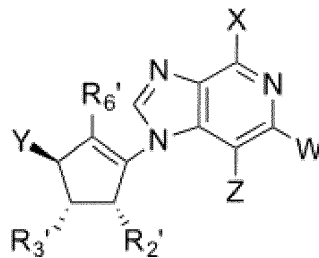
- 60 2. El compuesto de la neplanocina de la reivindicación 1, en donde la fórmula es la siguiente:



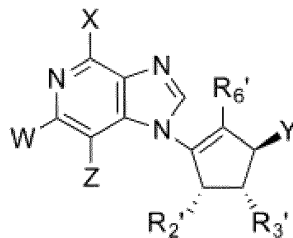
Análogo de la L-isonoplanocina, y sales del mismo, en donde

R es un grupo hidroxilo,
Y' es un hidrógeno, o CH₂OH, y
X es NH₂ o hidrógeno.

3. El compuesto de la neplanocina de la reivindicación 1, en donde la fórmula es uno de los siguientes:



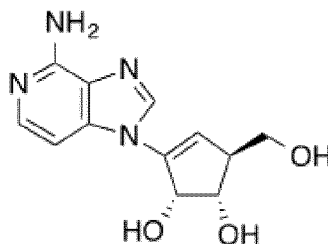
Análogo de la D-3-Deazaisoneplanocina,



Análogo de la L-3-deazaisoneplanocina, y sales de los mismos, en donde

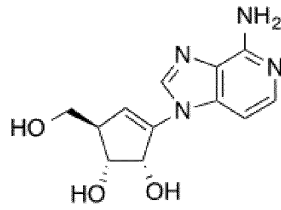
R₂' es un hidrógeno, grupo hidroxilo o halógeno,
R₃' es un hidrógeno, grupo hidroxilo o halógeno,
R₆' es un hidrógeno o halógeno,
W es un hidrógeno o un halógeno,
X es NH₂,
Y es un hidrógeno, grupo hidroxilo o CH₂OH, y
Z es un hidrógeno, halógeno o grupo alquilo.

4. El compuesto de la neplanocina de la reivindicación 3, en donde la fórmula es uno de los siguientes:



L-3-deazaisoneplanocina, y

5

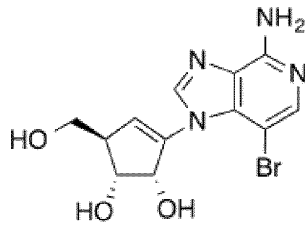


10

D-3-deazaisoneplanocina.

5. El compuesto de la neplanocina de la reivindicación 3, en donde la fórmula es uno de los siguientes:

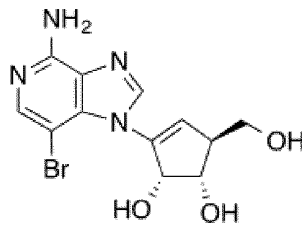
15



20

25

D-3-bromo-3-deazaisoneplanocina o



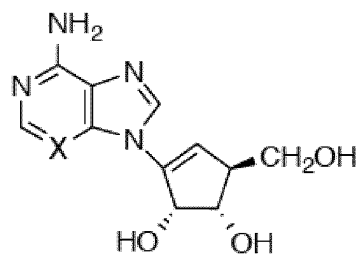
30

35

L-3-bromo-3-deazaisoneplanocina.

6. Un compuesto de la neplanocina de una de las siguientes fórmulas:

40

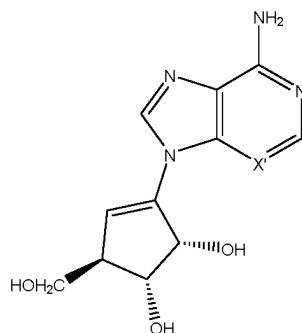


45

50

55

60

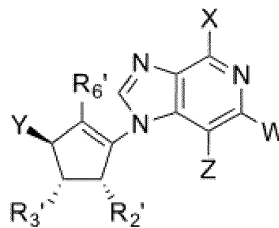


65

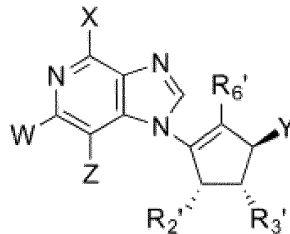
y sales de los mismos,

en donde X es N, CH o C(halógeno); y en donde X' es CH o C(halógeno).

7. Al menos un compuesto de la neplanocina de la reivindicación 1 para usar en un procedimiento de tratamiento terapéutico o profiláctico de un sujeto contra la infección viral, el uso comprende: administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del al menos un compuesto de la neplanocina a un sujeto que necesita de un tratamiento antiviral terapéutico o profiláctico, en donde la administración es por ingestión, inyección, infusión u otra administración corporal.
8. El compuesto de la neplanocina, al menos uno para el uso de la reivindicación 7, en donde el virus es un virus de ADN o de ARN, y se selecciona del grupo formado por Arenaviridae, Bunyaviridae, Coronaviridae, Flexiviridae, Hepevirus, Orthomyxoviridae, Paramyxoviridae, Picornaviridae, Togaviridae, Herpesviridae, Papovaviridae, Poxviridae, virus hepáticos y norovirus.
9. El compuesto de la neplanocina, al menos uno para el uso de la reivindicación 7, en donde el virus es el citomegalovirus humano (MVHC), Sarampión, Ébola, norovirus (NOV), Dengue, vaccinia o virus de la hepatitis B (VHB), y en donde si el virus es Ébola, el compuesto de la neplanocina es un D o L-nucleósido carbocíclico que tiene al menos una de las fórmulas:



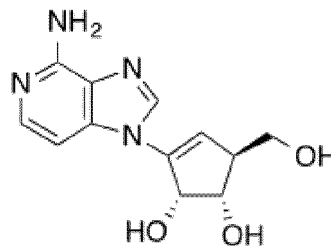
Análogo de la D-3-Deazaisoneplanocina



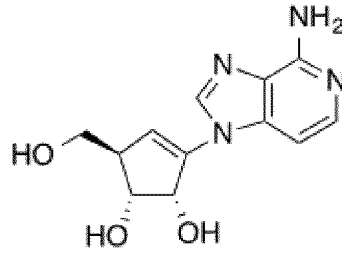
Análogo de la L-3-deazaisoneplanocina, y sales de los mismos, en donde

- R₂' es un hidrógeno, grupo hidroxilo o halógeno,
- R₃' es un hidrógeno, grupo hidroxilo o halógeno,
- R₆' es un hidrógeno o halógeno,
- W es un hidrógeno o un halógeno,
- X es NH₂, o hidrógeno,
- Y es un hidrógeno, un grupo hidroxilo o CH₂OH, y
- Z es un grupo hidrógeno, halógeno o grupo alquilo.

10. El compuesto de la neplanocina, al menos uno para el uso de la reivindicación 7, en donde el virus es Ébola y el compuesto de la neplanocina tiene al menos una de las siguientes fórmulas:

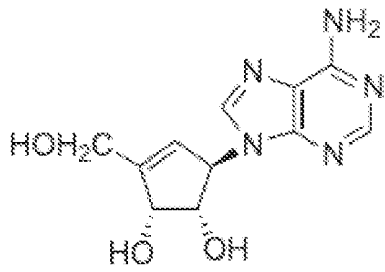


L-3-deazaisoneplanocina o

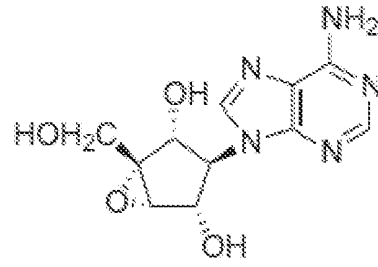


15 D-3-deazaisoneplanocina.

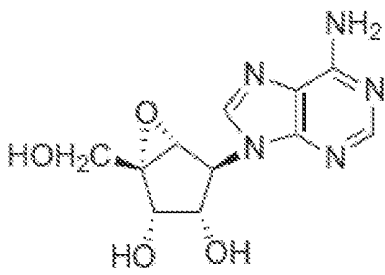
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40
11. El compuesto de la neplanocina, al menos uno para el uso de la reivindicación 7, en donde la cantidad del compuesto de la neplanocina administrada es una cantidad antiviral eficaz: (a) suficiente para mejorar, inhibir, prevenir o aminorar la infección viral, o (b) que previene la aparición o uno o más síntomas de la infección o reduce la gravedad o el tiempo durante el cual el sujeto sufre de uno o más síntomas de la infección en al menos un 50 %.
 12. El compuesto de neplanocina, al menos uno para el uso de la reivindicación 7, en donde los compuestos enantioméricos de la neplanocina se proporcionan para mecanismos duales de eficacia antiviral.
 13. Una composición farmacéutica adecuada para tratar a un sujeto con una infección viral o que necesita un tratamiento antiviral profiláctico que comprende: una cantidad antiviral suficiente del compuesto de la neplanocina de la reivindicación 1; y un portador farmacéuticamente aceptable seleccionado del grupo formado por un diluyente, adyuvante, excipiente, vehículo o combinaciones de los mismos, para producir efectos antivirales.
 14. La composición farmacéutica de la reivindicación 13, en donde el compuesto de la neplanocina se formula en tabletas, cápsulas de gel, cápsulas, grageas, polvos, granulados, suspensiones, emulsiones, soluciones, geles, hidrogeles, geles orales, pastas, colirios, ungüentos, cremas, yesos, emplastos, dispositivos de liberación, supositorios, enemas, inyectables, implantes, atomizadores o aerosoles, y además que comprendan un portador farmacéuticamente aceptable seleccionado del grupo formado por un diluyente, adyuvante, excipiente, vehículo o combinaciones de los mismos.
 15. La composición farmacéutica de la reivindicación 13, en donde la cantidad antiviral del compuesto de la neplanocina es una cantidad: (a) suficiente para mejorar, inhibir, prevenir o aminorar la infección viral; (b) que previene la aparición de uno o más síntomas de la infección o reduce la gravedad o el tiempo durante el cual el sujeto sufre de uno o más síntomas de la infección en al menos un 50 %; o (c) que reduce la replicación viral o mata las células virales en al menos un 50 %.



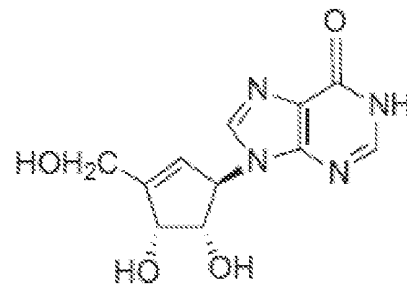
1A



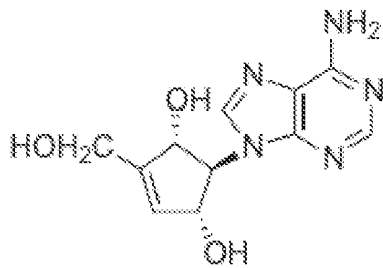
1B



1C



1D



1E

Figuras 1A-E

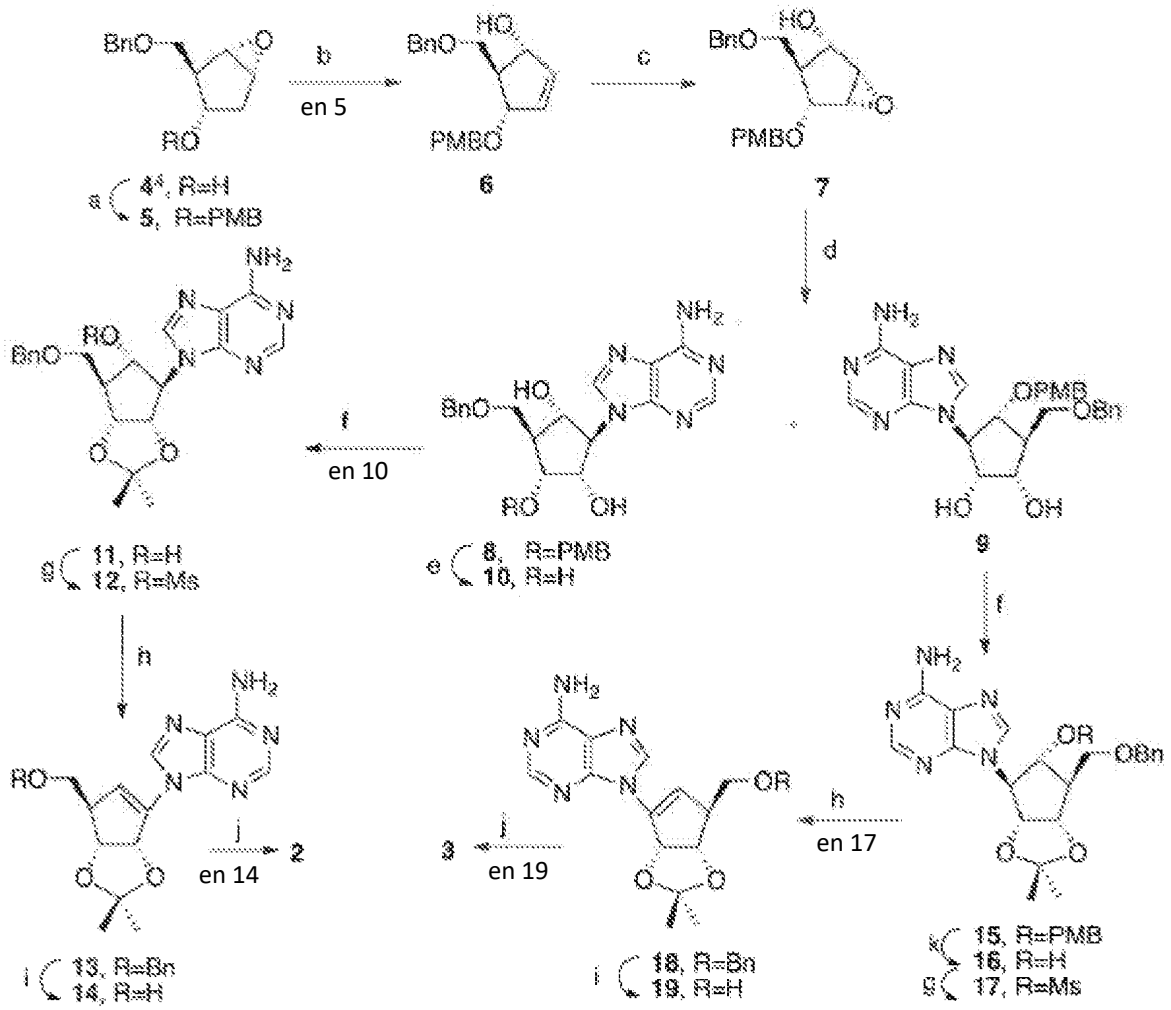


Figura 2

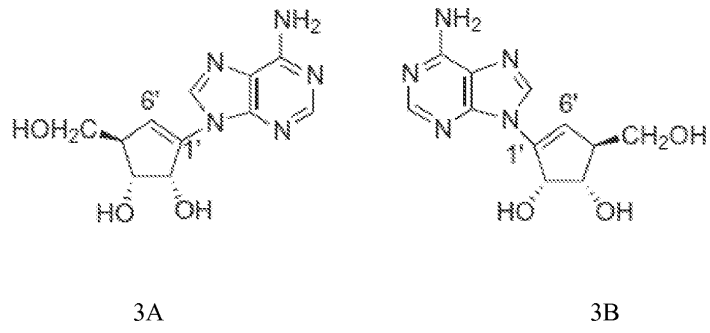


Figura 3A-B

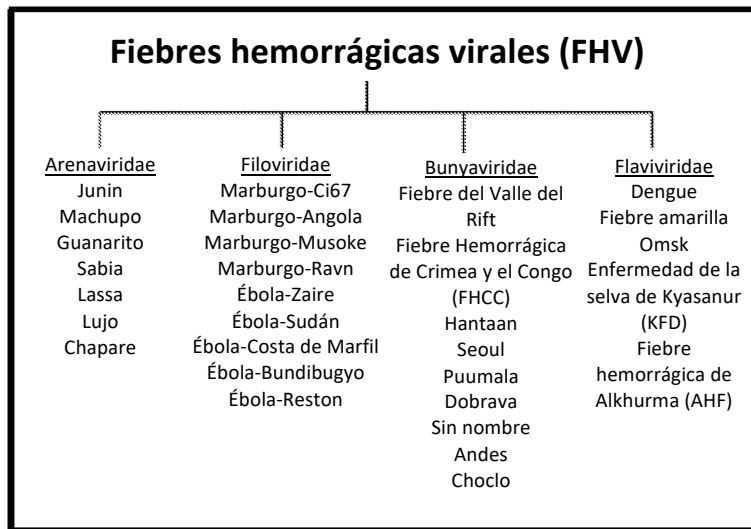


Figura 4

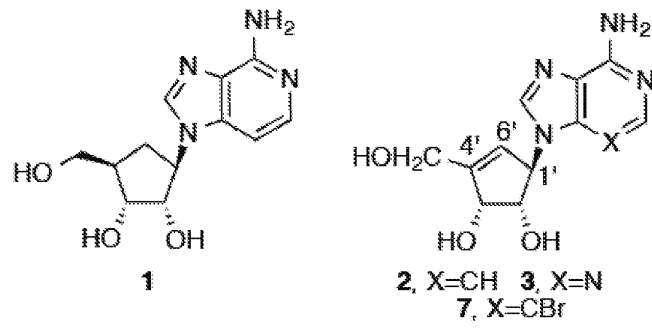


Figura 5A

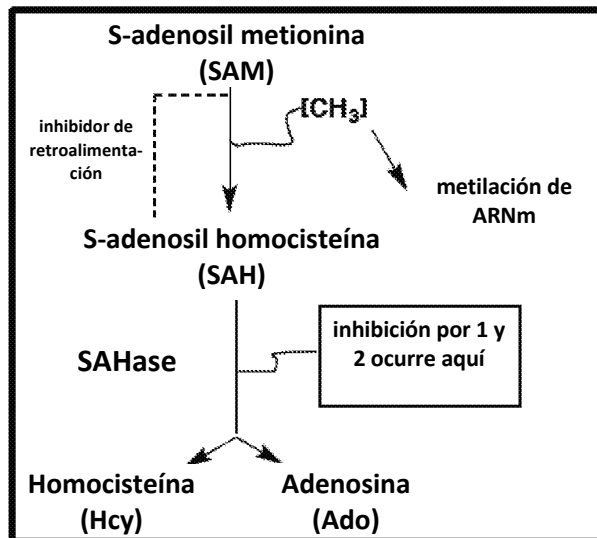


Figura 5B

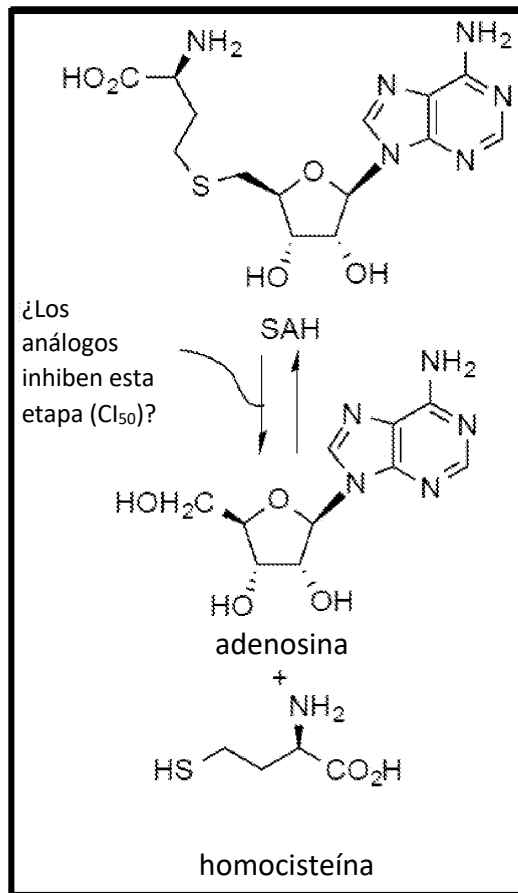


Figura 6

Inhibición de la SAHase

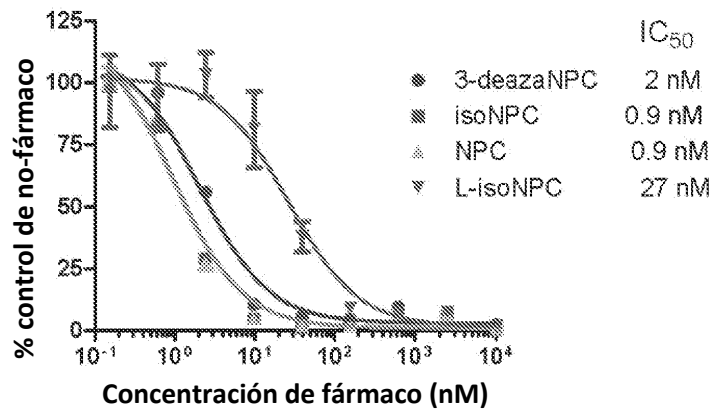
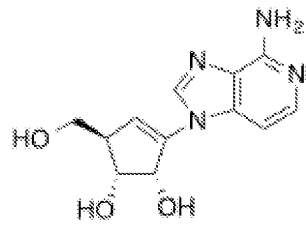
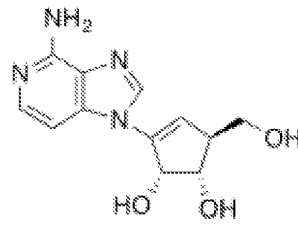


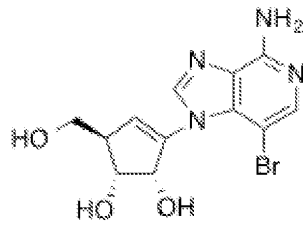
Figura 7



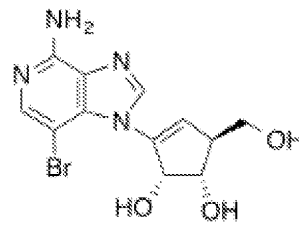
8A



8B



8C



8D

Figuras 8A-D