



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 602 17 465 T2 2007.10.18**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 355 916 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **602 17 465.1**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US02/03086**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **02 709 299.8**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2002/057287**

(86) PCT-Anmeldetag: **18.01.2002**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **25.07.2002**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **29.10.2003**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **10.01.2007**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **18.10.2007**

(51) Int Cl.⁸: **C07H 19/14 (2006.01)**

A61K 31/7064 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

263313 P 22.01.2001 US

282069 P 06.04.2001 US

299320 P 19.06.2001 US

344528 P 25.10.2001 US

(73) Patentinhaber:

**MERCK & CO, INC., Rahway, N.J., US; Isis
Pharmaceuticals, Inc., Carlsbad, Calif., US**

(74) Vertreter:

Abitz & Partner, 81677 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE, TR**

(72) Erfinder:

**CARROLL, S., Steven, Rahway, NJ 07065-0907,
US; MACCOSS, Malcolm, Rahway, NJ 07065-0907,
US; OLSEN, B., David, Rahway, NJ 07065-0907,
US; BHAT, Balkrishen, Carlsbad, CA 92008, US;
BHAT, Neelima, Carlsbad, CA 92008, US; COOK,
Phillip Dan, Carlsbad, CA 92008, US; ELDRUP, B.,
Anne, Carlsbad, CA 92008, US; PRAKASH, P.,
Thazha, Carlsbad, CA 92008, US; PRHAVC, Marija,
Carlsbad, CA 92008, US; SONG, Quanlai,
Carlsbad, CA 92008, US**

(54) Bezeichnung: **NUKLEOSIDDERIVATE ALS INHIBITOREN VON RNA-ABHÄNGIGER RNA VIRALPOLYMERASE**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

GEBIET DER ERFINDUNG

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft Nucleosid-Verbindungen und bestimmte Derivate davon, deren Synthese und deren Verwendung als Inhibitoren von RNA-abhängiger viraler RNA-Polymerase. Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind Inhibitoren der RNA-abhängigen RNA-Virusreplikation und eignen sich zur Behandlung einer RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion. Sie eignen sich besonders als Inhibitoren von Hepatitis-C-Virus(HCV)-NS5B-Polymerase, als Inhibitoren der HCV-Replikation und zur Behandlung einer Hepatitis-C-Infektion.

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0002] Eine Hepatitis-C-Virus(HCV)-Infektion stellt ein großes Gesundheitsproblem dar, das bei einer beträchtlichen Anzahl von infizierten Personen, geschätzt etwa bei 2-15% der Weltbevölkerung, zu chronischem Leberleiden, wie z.B. Zirrhose und hepatozellulärem Karzinom, führt. Allein in den Vereinigten Staaten gibt es gemäß dem U.S. Center for Disease Control schätzungsweise 4,5 Millionen infizierte Personen. Gemäß der World Health Organisation gibt es weltweit mehr als 200 Millionen infizierte Personen, wobei wenigstens 3 bis 4 Millionen Personen sich jedes Jahr infizieren. Nach einer Infektion befreien sich etwa 20% der Personen von dem Virus, aber der Rest trägt HCV für den Rest des Lebens in sich. Zehn bis zwanzig Prozent der chronisch infizierten Personen bilden letztlich eine leberzerstörende Zirrhose oder Krebs aus. Die Viruserkrankung wird parenteral durch kontaminiertes Blut und kontaminierte Blutprodukte, kontaminierte Nadeln oder sexuell und vertikal von infizierten Müttern oder den Virus in sich tragenden Müttern auf ihre Nachkommenschaft übertragen. Die derzeitigen Behandlungen gegen HCV-Infektionen, die auf die Immuntherapie mit rekombinantem Interferon- α alleine oder in Kombination mit dem Nucleosid-Analogon Ribavirin beschränkt sind, sind von begrenztem klinischem Nutzen. Darüber hinaus gibt es keinen etablierten Impfstoff gegen HCV. Demnach besteht ein dringender Bedarf an verbesserten therapeutischen Mitteln, die eine chronische HCV-Infektion wirksam bekämpfen. Der Stand der Technik zur Behandlung von HCV-Infektionen wurde zusammengefasst dargestellt, und es wird auf die folgenden Publikationen hingewiesen: B. Dymock et al., "Novel approaches to the treatment of hepatitis C virus infection," *Antiviral Chemistry & Chemotherapy*, 11: 79-96 (2000); H. Rosen et al., "Hepatitis C virus: current understanding and prospects for future therapies," *Molecular Medicine Today*, 5: 393-399 (1999); D. Moradpour et al., "Current and evolving therapies for hepatitis C," *European J. Gastroenterol. Hepatol.*, 11: 1189-1202 (1999), R. Bartenschlager, "Candidate Targets for Hepatitis C Virus-Specific Antiviral Therapy," *Intervirolgy*, 40: 378-393 (1997); G.M. Lauer und B.D. Walker, "Hepatitis C Virus Infection," *N. Engl. J. Med.*, 345: 41-52 (2001); B.W. Dymock, "Emerging therapies for hepatitis C virus infection," *Emerging Drugs*, 6: 13-42 (2001); und C. Crabb, "Hard-Won Advances Spark Excitement about Hepatitis C," *Science*: 506-507 (2001).

[0003] Verschiedene Ansätze für eine HCV-Therapie wurden verfolgt, welche die Inhibierung viraler Serinproteinasen (NS3-Protease), Helicase und RNA-abhängiger RNA-Polymerase (NS5B) und die Entwicklung eines Impfstoffs umfassen.

[0004] Das HCV-*Virion* ist ein umhülltes Positivstrang-RNA-Virus mit einer einzigen Oligoribonucleotid-Genomsequenz aus etwa 9600 Basen, das ein Polyprotein aus etwa 3010 Aminosäuren kodiert. Die Proteinprodukte des HCV-Gens bestehen aus den Strukturproteinen C, E1 und E2 und den Nichtstrukturproteinen NS2, NS3, NS4A und NS4B und NS5A und NS5B. Man nimmt an, dass die Nichtstrukturproteine (NS-Proteine) für die katalytische Maschinerie bei der Virusreplikation sorgen. Die NS3-Protease setzt NS5B frei, die RNA-abhängige RNA-Polymerase, aus der Polyproteinkette. HCV-NS5B-Polymerase wird für die Synthese einer doppelsträngigen RNA aus einer einzelsträngigen viralen RNA benötigt, die bei dem HCV-Replikationszyklus als Template dient. Die NS5B-Polymerase wird daher als essentielle Komponente beim HCV-Replikationskomplex angesehen [siehe K. Ishi et al., "Expression of Hepatitis C Virus NS5B Protein: Characterization of Its RNA Polymerase Activity and RNA Binding," *Hepatology*, 29: 1227-1235 (1999) und V. Lohmann et al., "Biochemical and Kinetic Analyses of NS5B RNA-Dependent RNA Polymerase of the Hepatitis C Virus," *Virology*, 249: 108-118 (1998)]. Die Inhibierung von HCV-NS5B-Polymerase verhindert die Bildung der doppelsträngigen HCV-RNA und stellt daher einen verlockenden Ansatz zur Entwicklung HCV-spezifischer antiviraler Therapien dar.

[0005] Es wurde jetzt festgestellt, dass Nucleosid-Verbindungen der vorliegenden Erfindung und bestimmte Derivate davon wirksame Inhibitoren der RNA-abhängigen RNA-Virusreplikation und insbesondere der HCV-Replikation sind. Die 5'-Triphosphatderivate dieser Nucleosid-Verbindungen sind Inhibitoren von

RNA-abhängiger viraler RNA-Polymerase und insbesondere von HCV-NS5B-Polymerase. Die vorliegenden Nucleosid-Verbindungen und die Derivate davon eignen sich auch zur Behandlung einer RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion und insbesondere einer HCV-Infektion.

[0006] Es ist daher ein Ziel der vorliegenden Erfindung, Nucleosid-Verbindungen und bestimmte Derivate davon zur Verfügung zu stellen, die sich als Inhibitoren von RNA-abhängiger viraler RNA-Polymerase und insbesondere als Inhibitoren von HCV-NS5B-Polymerase eignen.

[0007] Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, Nucleosid-Verbindungen und bestimmte Derivate davon zur Verfügung zu stellen, die sich als Inhibitoren der Replikation eines RNA-abhängigen RNA-Virus und insbesondere als Inhibitoren der Replikation von Hepatitis-C-Virus eignen.

[0008] Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, Nucleosid-Verbindungen und bestimmte Derivate davon zur Verfügung zu stellen, die sich bei der Behandlung einer RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion und insbesondere bei der Behandlung einer HCV-Infektion eignen.

[0009] Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, pharmazeutische Zusammensetzungen, welche die Nucleosid-Verbindungen der vorliegenden Erfindung in Verbindung mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger enthalten, zur Verfügung zu stellen.

[0010] Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, pharmazeutische Zusammensetzungen, welche die Nucleosid-Verbindungen und Derivate davon der vorliegenden Erfindung enthalten, zur Verwendung als Inhibitoren von RNA-abhängiger viraler RNA-Polymerase und insbesondere als Inhibitoren von HCV-NS5B-Polymerase zur Verfügung zu stellen.

[0011] Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, pharmazeutische Zusammensetzungen, welche die Nucleosid-Verbindungen und Derivate davon der vorliegenden Erfindung enthalten, zur Verwendung als Inhibitoren der RNA-abhängigen RNA-Virusreplikation und insbesondere als Inhibitoren der HCV-Replikation zur Verfügung zu stellen.

[0012] Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, pharmazeutische Zusammensetzungen, welche die Nucleosid-Verbindungen und Derivate davon der vorliegenden Erfindung enthalten, zur Behandlung einer RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion und insbesondere zur Behandlung einer HCV-Infektion zur Verfügung zu stellen.

[0013] Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, pharmazeutische Zusammensetzungen, welche die Nucleosid-Verbindungen und Derivate davon der vorliegenden Erfindung enthalten, in Kombination mit anderen wirksamen Mitteln gegen einen RNA-abhängigen RNA-Virus und insbesondere gegen HCV zur Verfügung zu stellen.

[0014] Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, Verfahren zur Inhibierung von RNA-abhängiger viraler RNA-Polymerase und insbesondere zur Inhibierung von HCV-NS5B-Polymerase zur Verfügung zu stellen.

[0015] Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, Verfahren zur Inhibierung der RNA-abhängigen RNA-Virusreplikation und insbesondere zur Inhibierung der HCV-Replikation zur Verfügung zu stellen.

[0016] Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, Verfahren zur Behandlung einer RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion und insbesondere zur Behandlung einer HCV-Infektion zur Verfügung zu stellen.

[0017] Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, Verfahren zur Behandlung einer RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion in Kombination mit anderen wirksamen Mitteln gegen das RNA-abhängige RNA-Virus und insbesondere zur Behandlung einer HCV-Infektion in Kombination mit anderen wirksamen Mitteln gegen HCV zur Verfügung zu stellen.

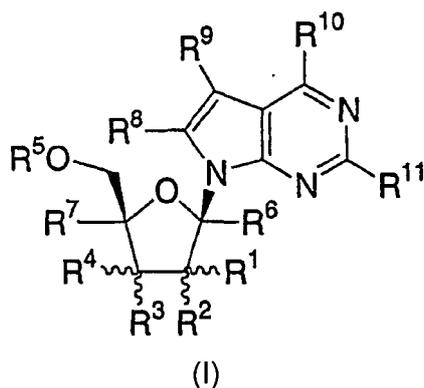
[0018] Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, Nucleosid-Verbindungen und bestimmte Derivate davon und ihre pharmazeutischen Zusammensetzungen zur Verwendung als Medikament zur Inhibierung der RNA-abhängigen RNA-Virusreplikation und/oder zur Behandlung einer RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion und insbesondere zur Inhibierung einer HCV-Replikation und/oder zur Behandlung einer HCV-Infektion zur Verfügung zu stellen.

[0019] Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, die Verwendung der Nucleosid-Verbindungen und bestimmter Derivate davon der vorliegenden Erfindung und ihrer pharmazeutischen Zusammensetzungen zur Herstellung eines Medikaments zur Inhibierung der RNA-abhängigen RNA-Virusreplikation und/oder zur Behandlung einer RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion und insbesondere zur Inhibierung einer HCV-Replikation und/oder zur Behandlung einer HCV-Infektion zur Verfügung zu stellen.

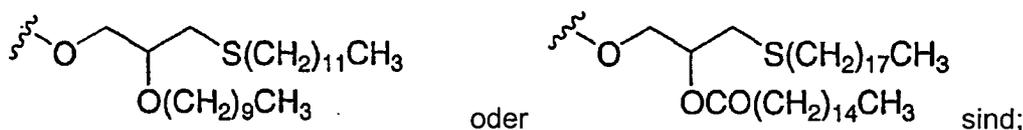
[0020] Diese und andere Ziele werden aus der folgenden detaillierten Beschreibung sofort offensichtlich werden.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0021] Die vorliegende Erfindung betrifft Verbindungen der Strukturformel I mit der angegebenen stereochemischen Konfiguration:



oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon, wobei R^1 C_{2-4} -Alkenyl, C_{2-4} -Alkynyl oder C_{1-4} -Alkyl ist, wobei das Alkyl unsubstituiert oder mit Hydroxy, Amino, C_{1-4} -Alkoxy, C_{1-4} -Alkylthio oder ein bis drei Fluoratomen substituiert ist; R^2 Wasserstoff, Fluor, Hydroxy, Mercapto, C_{1-4} -Alkoxy oder C_{1-4} -Alkyl ist; oder R^1 und R^2 , zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, ein 3- bis 6-gliedriges gesättigtes monocyclisches Ringsystem bilden, das gegebenenfalls ein Heteroatom, ausgewählt aus O, S und NC_{0-4} -Alkyl, enthält; R^3 und R^4 jeweils unabhängig ausgewählt sind aus der Gruppe, bestehend aus Wasserstoff, Cyano, Azido, Halogen, Hydroxy, Mercapto, Amino, C_{1-4} -Alkoxy, C_{2-4} -Alkenyl, C_{2-4} -Alkynyl und C_{1-4} -Alkyl, wobei Alkyl unsubstituiert oder mit Hydroxy, Amino, C_{1-4} -Alkoxy, C_{1-4} -Alkylthio oder ein bis drei Fluoratomen substituiert ist; R^5 Wasserstoff, C_{1-10} -Alkylcarbonyl, $P_3O_9H_4$, $P_2O_6H_3$ oder $P(O)R^{13}R^{14}$ ist; R^6 und R^7 jeweils unabhängig Wasserstoff, Methyl, Hydroxymethyl oder Fluormethyl sind; R^8 Wasserstoff, C_{1-4} -Alkyl, C_{2-4} -Alkynyl, Halogen, Cyano, Carboxy, C_{1-4} -Alkyloxycarbonyl, Azido, Amino, C_{1-4} -Alkylamino, Di(C_{1-4} -alkyl)amino, Hydroxy, C_{1-6} -Alkoxy, C_{1-6} -Alkylthio, C_{1-6} -Alkylsulfonyl, (C_{1-4} -Alkyl) $_{0-2}$ -aminomethyl oder C_{4-6} -Cycloheteroalkyl, unsubstituiert oder substituiert mit ein bis zwei Gruppen, unabhängig ausgewählt aus Halogen, Hydroxy, Amino, C_{1-4} -Alkyl und C_{1-4} -Alkoxy, ist; R^9 Wasserstoff, Cyano, Nitro, C_{1-3} -Alkyl, $NHCONH_2$, $CONR^{12}R^{12}$, $CSNR^{12}R^{12}$, $COOR^{12}$, $C(=NH)NH_2$, Hydroxy, C_{1-3} -Alkoxy, Amino, C_{1-4} -Alkylamino, Di(C_{1-4} -alkyl)amino, Halogen, (1,3-Oxazol-2-yl), (1,3-Thiazol-2-yl) oder (Imidazol-2-yl) ist, wobei Alkyl unsubstituiert oder mit ein bis drei Gruppen, unabhängig ausgewählt aus Halogen, Amino, Hydroxy, Carboxy und C_{1-3} -Alkoxy, substituiert ist; R^{10} und R^{11} jeweils unabhängig Wasserstoff, Hydroxy, Halogen, C_{1-4} -Alkoxy, Amino, C_{1-4} -Alkylamino, Di(C_{1-4} -alkyl)amino, C_{3-6} -Cycloalkylamino, Di(C_{3-6} -cycloalkyl)amino oder C_{4-6} -Cycloheteroalkyl, unsubstituiert oder substituiert mit ein bis zwei Gruppen, unabhängig ausgewählt aus Halogen, Hydroxy, Amino, C_{1-4} -Alkyl und C_{1-4} -Alkoxy, sind; jedes R^{12} unabhängig Wasserstoff oder C_{1-6} -Alkyl ist und R^{13} und R^{14} jeweils unabhängig Hydroxy, $OCH_2CH_2SC(=O)C_{1-4}$ -Alkyl, $OCH_2O(C=O)OC_{1-4}$ -Alkyl, $NHCHMeCO_2Me$, $OCH(C_{1-4}$ -Alkyl)O(C=O) C_{1-4} -alkyl,



mit der Maßgabe, dass, wenn R^1 β -Methyl ist und R^4 Wasserstoff ist oder R^4 β -Methyl ist und R^1 Wasserstoff ist, R^2 und R^3 α -Hydroxy sind, R^{10} Amino ist und R^5 , R^6 , R^7 , R^8 und R^{11} Wasserstoff sind, R^9 dann nicht Cyano

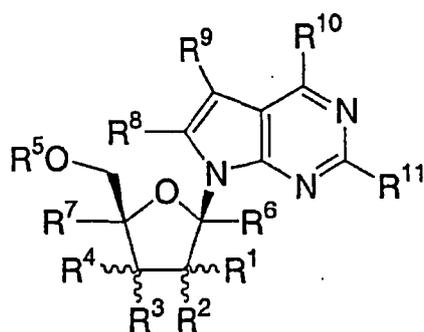
oder CONH₂ ist.

[0022] Die Verbindungen der Formel I eignen sich als Inhibitoren von RNA-abhängiger viraler RNA-Polymerase und insbesondere von HCV-NS5B-Polymerase. Sie sind auch Inhibitoren der RNA-abhängigen RNA-Virusreplikation und insbesondere der HCV-Replikation, und sie eignen sich zur Behandlung einer RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion und insbesondere zur Behandlung einer HCV-Infektion.

[0023] Ebenfalls von der vorliegenden Erfindung umfasst sind pharmazeutische Zusammensetzungen, die die Verbindungen alleine oder in Kombination mit anderen wirksamen Mitteln gegen ein RNA-abhängiges RNA-Virus und insbesondere gegen HCV enthalten, sowie Verfahren zur Inhibierung der RNA-abhängigen RNA-Virusreplikation und zur Behandlung einer RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion.

DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0024] Die vorliegende Erfindung betrifft Verbindungen der Strukturformel I mit der angegebenen stereochemischen Konfiguration:



(I)

oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon,

wobei R¹ C₂₋₄-Alkenyl, C₂₋₄-Alkynyl oder C₁₋₄-Alkyl ist, wobei das Alkyl unsubstituiert oder mit Hydroxy, Amino, C₁₋₄-Alkoxy, C₁₋₄-Alkylthio oder ein bis drei Fluoratomen substituiert ist;

R² Wasserstoff, Fluor, Hydroxy, Mercapto, C₁₋₄-Alkoxy oder C₁₋₄-Alkyl ist; oder R¹ und R², zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, ein 3- bis 6-gliedriges gesättigtes monocyclisches Ringsystem bilden, das gegebenenfalls ein Heteroatom, ausgewählt aus O, S und NC₀₋₄-Alkyl, enthält;

R³ und R⁴ jeweils unabhängig ausgewählt sind aus der Gruppe, bestehend aus Wasserstoff, Cyano, Azido, Halogen, Hydroxy, Mercapto, Amino, C₁₋₄-Alkoxy, C₂₋₄-Alkenyl, C₂₋₄-Alkynyl und C₁₋₄-Alkyl, wobei Alkyl unsubstituiert oder mit Hydroxy, Amino, C₁₋₄-Alkoxy, C₁₋₄-Alkylthio oder ein bis drei Fluoratomen substituiert ist;

R⁵ Wasserstoff, C₁₋₁₀-Alkylcarbonyl, P₃O₉H₄, P₂O₆H₃ oder P(O)R¹³R¹⁴ ist;

R⁶ und R⁷ jeweils unabhängig Wasserstoff, Methyl, Hydroxymethyl oder Fluormethyl sind;

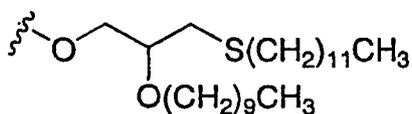
R⁸ Wasserstoff, C₁₋₄-Alkyl, C₂₋₄-Alkynyl, Halogen, Cyano, Carboxy, C₁₋₄-Alkyloxycarbonyl, Azido, Amino, C₁₋₄-Alkylamino, Di(C₁₋₄-alkyl)amino, Hydroxy, C₁₋₆-Alkoxy, C₁₋₆-Alkylthio, C₁₋₆-Alkylsulfonyl, (C₁₋₄-Alkyl)₀₋₂-aminomethyl oder C₄₋₆-Cycloheteroalkyl, unsubstituiert oder substituiert mit ein bis zwei Gruppen, unabhängig ausgewählt aus Halogen, Hydroxy, Amino, C₁₋₄-Alkyl und C₁₋₄-Alkoxy, ist;

R⁹ Wasserstoff, Cyano, Nitro, C₁₋₃-Alkyl, NHCONH₂, CONR¹²R¹², CSNR¹²R¹², COOR¹², C(=NH)NH₂, Hydroxy, C₁₋₃-Alkoxy, Amino, C₁₋₄-Alkylamino, Di(C₁₋₄-alkyl)amino, Halogen, (1,3-Oxazol-2-yl), (1,3-Thiazol-2-yl) oder (Imidazol-2-yl) ist, wobei Alkyl unsubstituiert oder mit ein bis drei Gruppen, unabhängig ausgewählt aus Halogen, Amino, Hydroxy, Carboxy und C₁₋₃-Alkoxy, substituiert ist;

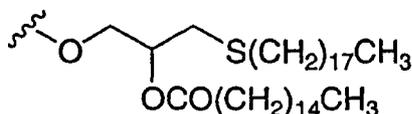
R¹⁰ und R¹¹ jeweils unabhängig Wasserstoff, Hydroxy, Halogen, C₁₋₄-Alkoxy, Amino, C₁₋₄-Alkylamino, Di(C₁₋₄-alkyl)amino, C₃₋₆-Cycloalkylamino, Di(C₃₋₆-cycloalkyl)amino oder C₄₋₆-Cycloheteroalkyl, unsubstituiert oder substituiert mit ein bis zwei Gruppen, unabhängig ausgewählt aus Halogen, Hydroxy, Amino, C₁₋₄-Alkyl und C₁₋₄-Alkoxy, sind;

jedes R¹² unabhängig Wasserstoff oder C₁₋₆-Alkyl ist und

R¹³ und R¹⁴ jeweils unabhängig Hydroxy, OCH₂CH₂SC(=O)C₁₋₄-Alkyl, OCH₂O(C=O)OC₁₋₄-Alkyl, NHCHMeCO₂Me, OCH(C₁₋₄-Alkyl)O(C=O)C₁₋₄-alkyl,



oder

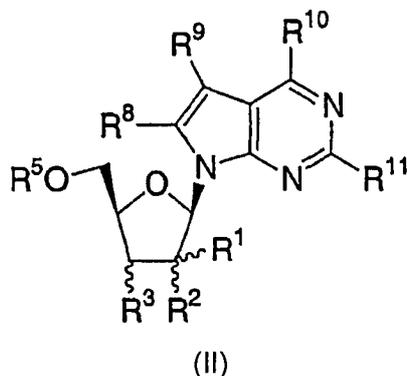


sind;

mit der Maßgabe, dass, wenn R^1 β -Methyl ist und R^4 Wasserstoff ist oder R^4 α -Methyl ist und R^1 Wasserstoff ist, R^2 und R^3 α -Hydroxy sind, R^{10} Amino ist und R^5 , R^6 , R^7 , R^8 und R^{11} Wasserstoff sind, R^9 dann nicht Cyano oder CONH_2 ist.

[0025] Die Verbindungen der Formel I eignen sich als Inhibitoren von RNA-abhängiger viraler RNA-Polymerase. Sie sind auch Inhibitoren der RNA-abhängigen RNA-Virusreplikation und eignen sich zur Behandlung einer RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion.

[0026] In einer Ausführungsform der Verbindungen der Strukturformel I sind die Verbindungen der Strukturformel II:



oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon, wobei

R^1 C_{1-3} -Alkyl ist, wobei Alkyl unsubstituiert oder substituiert ist mit Hydroxy, Amino, C_{1-3} -Alkoxy, C_{1-3} -Alkylthio oder ein bis drei Fluoratomen;

R^2 Hydroxy, Fluor oder C_{1-3} -Alkoxy ist;

R^3 Wasserstoff, Halogen, Hydroxy, Amino oder C_{1-3} -Alkoxy ist;

R^5 Wasserstoff, $\text{P}_3\text{O}_9\text{H}_4$, $\text{P}_2\text{O}_6\text{H}_3$ oder PO_3H_2 ist;

R^8 Wasserstoff, Amino oder C_{1-4} -Alkylamino ist;

R^9 Wasserstoff, Cyano, Methyl, Halogen oder CONH_2 ist und

R^{10} und R^{11} jeweils unabhängig Wasserstoff, Halogen, Hydroxy, Amino, C_{1-4} -Alkylamino, $\text{Di}(C_{1-4}\text{-alkyl})\text{amino}$ oder C_{3-6} -Cycloalkylamino sind;

mit der Maßgabe, dass, wenn R^1 β -Methyl ist, R^2 und R^3 α -Hydroxy sind, R^{10} Amino ist und R^5 , R^8 und R^{11} Wasserstoff sind, R^9 dann nicht Cyano oder CONH_2 ist.

[0027] In einer zweiten Ausführungsform der Verbindungen der Strukturformel I sind die Verbindungen der Strukturformel II, wobei:

R^1 Methyl, Fluormethyl, Hydroxymethyl, Difluormethyl, Trifluormethyl oder Aminomethyl ist;

R^2 Hydroxy, Fluor oder Methoxy ist;

R^3 Wasserstoff, Fluor, Hydroxy, Amino oder Methoxy ist;

R^5 Wasserstoff oder $\text{P}_3\text{O}_9\text{H}_4$ ist;

R^8 Wasserstoff oder Amino ist;

R^9 Wasserstoff, Cyano, Methyl, Halogen oder CONH_2 ist und

R^{10} und R^{11} jeweils unabhängig Wasserstoff, Fluor, Hydroxy oder Amino sind;

mit der Maßgabe, dass, wenn R^1 β -Methyl ist, R^2 und R^3 α -Hydroxy sind, R^{10} Amino ist und R^5 , R^8 und R^{11} Wasserstoff sind, R^9 dann nicht Cyano oder CONH_2 ist.

[0028] Veranschaulichende, jedoch nicht einschränkende Beispiele für Verbindungen der vorliegenden Erfindung, die als Inhibitoren von RNA-abhängiger viraler RNA-Polymerase geeignet sind, sind die folgenden:

4-Amino-7-(2-C-methyl- β -D-arabinofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Amino-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Methylamino-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Dimethylamino-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Cyclopropylamino-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Amino-7-(2-C-vinyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Amino-7-(2-C-hydroxymethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Amino-7-(2-C-fluormethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Amino-5-methyl-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Amino-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-5-carbonsäure,
 4-Amino-5-brom-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-5-chlor-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-5-fluor-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 2,4-Diamino-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 2-Amino-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 2-Amino-4-cyclopropylamino-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 2-Amino-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on,
 4-Amino-7-(2-C-ethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-7-(2-C,2-O-dimethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 7-(2-C-Methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on,
 2-Amino-5-methyl-7-(2-C,2-O-dimethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on,
 4-Amino-7-(3-desoxy-2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-7-(3-desoxy-2-C-methyl- β -D-arabinofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-2-fluor-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-7-(2,4-di-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin und
 4-Amino-7-(3-desoxy-3-fluor-2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin
 und die entsprechenden 5'-Triphosphate,
 oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

[0029] Ferner die vorliegende Erfindung veranschaulichend sind die Verbindungen, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus:

4-Amino-7-(2-C-methyl- β -D-arabinofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-7-(2-C-fluormethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-5-methyl-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-5-brom-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-5-chlor-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-5-fluor-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin und
 4-Amino-7-(2-C,2-O-dimethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin
 und den entsprechenden 5'-Triphosphaten,
 oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

[0030] Bei einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung eignen sich die Nucleosid-Verbindungen der vorliegenden Erfindung als Inhibitoren von Positive-Sense-Einzelstrang-RNA-abhängiger viraler RNA-Polymerase, als Inhibitoren der Positiv-Sense-Einzelstrang-RNA-abhängigen RNA-Virusreplikation und/oder zur Behandlung einer Positive-Sense-Einzelstrang-RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion. In einer Klasse dieser Ausführungsform ist das Positive-Sense-Einzelstrang-RNA-abhängige RNA-Virus ein Flaviviridae-Virus oder ein Picornaviridae-Virus. In einer Unterklasse dieser Klasse ist das Picornaviridae-Virus ein Rhinovirus, ein Poliovirus oder ein Hepatitis-A-Virus. In einer zweiten Unterklasse dieser Klasse ist das Flaviviridae-Virus ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Hepatitis-C-Virus, Gelbfiebervirus, Dengue-Virus, West-Nil-Virus, Japan-Enzephalitis-Virus, Banzi-Virus und Bovine-Virusdiarrhoe-Virus (BVDV). In einer Unterklasse dieser Unterklasse ist das Flaviviridae-Virus Hepatitis-C-Virus.

[0031] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein Verfahren zur Inhibierung von RNA-abhängiger viraler RNA-Polymerase, ein Verfahren zur Inhibierung der RNA-abhängigen RNA-Virusreplikation und/oder ein Verfahren zur Behandlung einer RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion bei einem Säuger, der diese benötigt, umfassend die Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Menge einer Verbindung der Strukturformel I an den Säuger.

[0032] In einer Ausführungsform dieses Aspekts der vorliegenden Erfindung ist die RNA-abhängige virale RNA-Polymerase eine Positive-Sense-Einzelstrang-RNA-abhängige virale RNA-Polymerase. In einer Klasse dieser Ausführungsform ist die Positive-Sense-Einzelstrang-RNA-abhängige virale RNA-Polymerase eine virale Flaviviridae-Polymerase oder eine virale Picornaviridae-Polymerase. In einer Unterklasse dieser Klasse ist die virale Picornaviridae-Polymerase Rhinovirus-Polymerase, Poliovirus-Polymerase oder Hepatitis-A-Virus-Polymerase. In einer zweiten Unterklasse dieser Klasse ist die virale Flaviviridae-Polymerase ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Hepatitis-C-Virus-Polymerase, Gelbfiebervirus-Polymerase, Dengue-Virus-Polymerase, West-Nil-Virus-Polymerase, Japan-Enzephalitis-Virus-Polymerase, Banzi-Virus-Polymerase und Bovine-Virusdiarrhoe-Virus(BVDV)-Polymerase. In einer Unterklasse dieser Unterklasse ist die virale Flaviviridae-Polymerase Hepatitis-C-Virus-Polymerase.

[0033] In einer zweiten Ausführungsform dieses Aspekts der vorliegenden Erfindung ist die RNA-abhängige RNA-Virusreplikation eine Positive-Sense-Einzelstrang-RNA-abhängige RNA-Virusreplikation. In einer Klasse dieser Ausführungsform ist die Positive-Sense-Einzelstrang-RNA-abhängige RNA-Virusreplikation eine Flaviviridae-Virusreplikation oder eine Picornaviridae-Virusreplikation. In einer Unterklasse dieser Klasse ist die Picornaviridae-Virusreplikation eine Rhinovirusreplikation, eine Poliovirusreplikation oder eine Hepatitis-A-Virusreplikation. In einer zweiten Unterklasse dieser Klasse ist die Flaviviridae-Virusreplikation ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Hepatitis-C-Virusreplikation, Gelbfiebervirusreplikation, Dengue-Virusreplikation, West-Nil-Virusreplikation, Japan-Enzephalitis-Virusreplikation, Banzi-Virusreplikation und Bovine-Virusdiarrhoe-Virusreplikation. In einer Unterklasse dieser Unterklasse ist die Flaviviridae-Virusreplikation eine Hepatitis-C-Virusreplikation.

[0034] In einer dritten Ausführungsform dieses Aspekts der vorliegenden Erfindung ist die RNA-abhängige RNA-Virusinfektion eine Positive-Sense-Einzelstrang-RNA-abhängige Virusinfektion. In einer Klasse dieser Ausführungsform ist die Positive-Sense-Einzelstrang-RNA-abhängige RNA-Virusinfektion eine Flaviviridae-Virusinfektion oder eine Picornaviridae-Virusinfektion. In einer Unterklasse dieser Klasse ist die Picornaviridae-Virusinfektion eine Rhinovirusinfektion, eine Poliovirusinfektion oder eine Hepatitis-A-Virusinfektion. In einer zweiten Unterklasse dieser Klasse ist die Flaviviridae-Virusinfektion ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Hepatitis-C-Virusinfektion, Gelbfiebervirusinfektion, Dengue-Virusinfektion, West-Nil-Virusinfektion, Japan-Enzephalitis-Virusinfektion, Banzi-Virusinfektion und Bovine-Virusdiarrhoe-Virusinfektion. In einer Unterklasse dieser Unterklasse ist die Flaviviridae-Virusinfektion eine Hepatitis-C-Virusinfektion.

[0035] Innerhalb der vorliegenden Anmeldung haben die folgenden Ausdrücke die angegebenen Bedeutungen:

Die oben angegebenen Alkylgruppen sollen diejenigen Alkylgruppen mit der angegebenen Länge in entweder gerader oder verzweigter Konfiguration umfassen. Beispielhaft für solche Alkylgruppen sind Methyl, Ethyl, Propyl, Isopropyl, Butyl, sek.-Butyl, tert.-Butyl, Pentyl, Isopentyl, Hexyl, Isohexyl und dergleichen.

[0036] Die Bezeichnung "Alkenyl" soll gerad- oder verzweigt-kettige Alkene mit insgesamt zwei bis sechs Kohlenstoffatomen oder einer beliebigen Anzahl innerhalb dieses Bereichs bedeuten (z.B. Ethenyl, Propenyl, Butenyl, Pentenyl usw.).

[0037] Die Bezeichnung "Alkynyl" soll gerad- oder verzweigt-kettige Alkine mit insgesamt zwei bis sechs Kohlenstoffatomen oder einer beliebigen Anzahl innerhalb dieses Bereichs bedeuten (z.B. Ethinyl, Propinyl, Butinyl, Pentinyl usw.).

[0038] Die Bezeichnung "Cycloalkyl" soll cyclische Alkanringe mit insgesamt drei bis acht Kohlenstoffatomen oder einer beliebigen Anzahl innerhalb dieses Bereichs bedeuten (d.h. Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl, Cycloheptyl oder Cyclooctyl).

[0039] Die Bezeichnung "Cycloheteroalkyl" soll nichtaromatische Heterocyclen bedeuten, die ein oder zwei Heteroatome, ausgewählt aus Stickstoff, Sauerstoff und Schwefel, enthalten. Beispiele für 4-6-gliedriges Cycloheteroalkyl sind u.a. Azetidiny, Pyrrolidiny, Piperidiny, Morpholinyl, Thiamorpholinyl, Imidazolidiny, Tetrahydrofuranly, Tetrahydropyranly, Tetrahydrothiophenyl, Piperazinyl und dergleichen.

[0040] Die Bezeichnung "Alkoxy" bedeutet gerad- oder verzweigt-kettige Alkoxide mit der angegebenen Anzahl von Kohlenstoffatomen (z.B. C₁₋₄-Alkoxy) oder mit einer beliebigen Anzahl innerhalb dieses Bereichs [d.h. Methoxy (MeO-), Ethoxy, Isopropoxy usw.].

[0041] Die Bezeichnung "Alkylthio" bedeutet gerad- oder verzweigt-kettige Alkylsulfide mit der angegebenen Anzahl von Kohlenstoffatomen (z.B. C₁₋₄-Alkylthio) oder mit einer beliebigen Anzahl innerhalb dieses Bereichs [d.h. Methylthio (MeS-), Ethylthio, Isopropylthio usw.].

[0042] Die Bezeichnung "Alkylamino" bedeutet gerade oder verzweigte Alkylamine mit der angegebenen Anzahl von Kohlenstoffatomen (z.B. C₁₋₄-Alkylamino) oder mit einer beliebigen Anzahl innerhalb dieses Bereichs [d.h. Methylamino, Ethylamino, Isopropylamino, t-Butylamino usw.].

[0043] Die Bezeichnung "Alkylsulfonyl" bedeutet gerad- oder verzweigt-kettige Alkylsulfone mit der angegebenen Anzahl von Kohlenstoffatomen (z.B. C₁₋₄-Alkylsulfonyl) oder mit einer beliebigen Anzahl innerhalb dieses Bereichs [d.h. Methylsulfonyl (MeSO₂-), Ethylsulfonyl, Isopropylsulfonyl usw.].

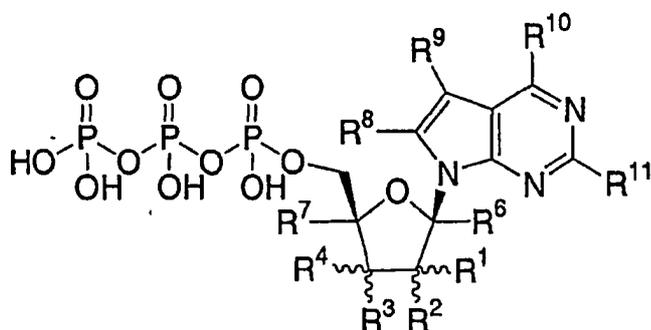
[0044] Die Bezeichnung "Alkyloxycarbonyl" bedeutet gerad- oder verzweigt-kettige Ester eines Carbonsäurederivats der vorliegenden Erfindung mit der angegebenen Anzahl von Kohlenstoffatomen (z.B. C₁₋₄-Alkyloxycarbonyl) oder mit einer beliebigen Anzahl innerhalb dieses Bereichs [d.h. Methylloxycarbonyl (MeOCO-), Ethylloxycarbonyl oder Butylloxycarbonyl].

[0045] Die Bezeichnung "Aryl" umfasst sowohl Phenyl, Naphthyl als auch Pyridyl. Die Arylgruppe ist gegebenenfalls mit ein bis drei Gruppen, unabhängig ausgewählt aus C₁₋₄-Alkyl, Halogen, Cyano, Nitro, Trifluormethyl, C₁₋₄-Alkoxy und C₁₋₄-Alkylthio, substituiert.

[0046] Die Bezeichnung "Halogen" soll die Halogenatome Fluor, Chlor, Brom und Iod umfassen.

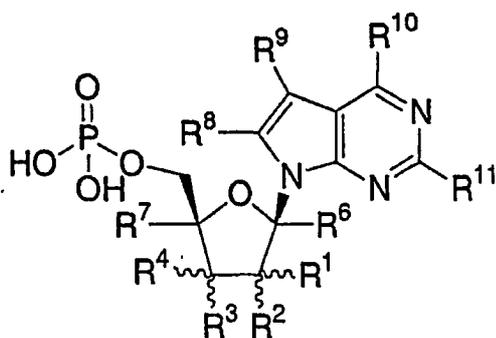
[0047] Die Bezeichnung "substituiert" soll Mehrfachsubstitutionen durch einen genannten Substituenten umfassen. Wenn mehrere Substituentengruppen offenbart oder beansprucht werden, kann die substituierte Verbindung unabhängig durch ein oder mehrere der offenbarten oder beanspruchten Substituentengruppen, einzeln oder mehrfach, substituiert sein.

[0048] Die Bezeichnung "5'-Triphosphat" bedeutet ein Triphosphorsäureesterderivat der 5'-Hydroxylgruppe einer Nucleosid-Verbindung der vorliegenden Erfindung mit der folgenden allgemeinen Strukturformel III:

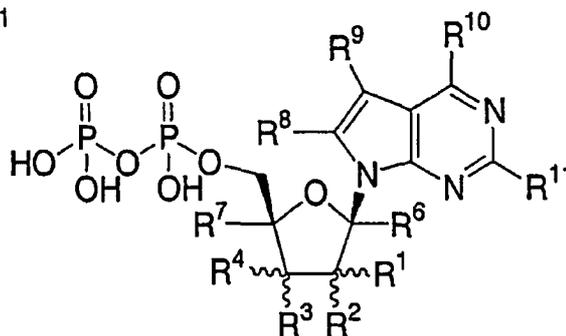


(III),

wobei R¹-R¹¹ wie oben definiert sind. Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung sollen auch pharmazeutisch annehmbare Salze der Triphosphatester sowie pharmazeutisch annehmbare Salze von 5'-Monophosphat- und 5'-Diphosphatesterderivaten der Strukturformeln IV bzw. V umfassen.

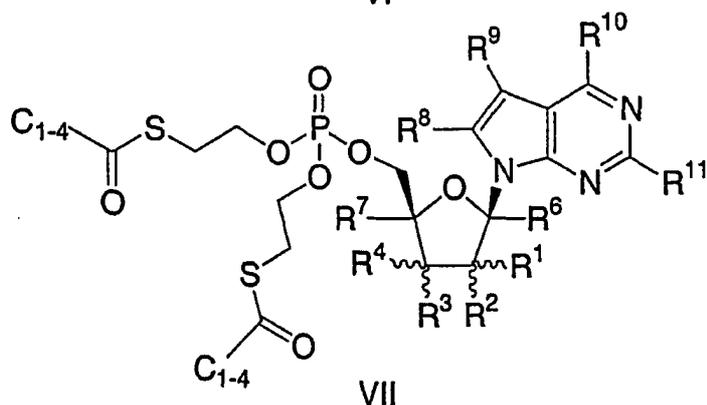
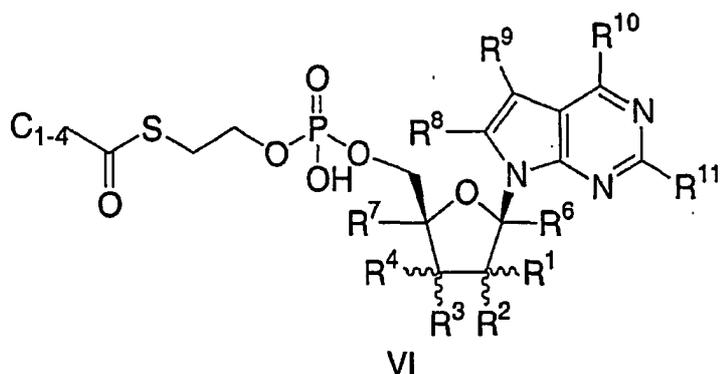


(IV)



(V)

[0049] Die Bezeichnung "5'-(S-Acyl-2-thioethyl)phosphat" oder "SATE" bedeutet ein Mono- oder Diesterderivat eines 5'-Monophosphat-Nucleosidderivats der vorliegenden Erfindung der Strukturformeln VI bzw. VII sowie pharmazeutisch annehmbare Salze des Monoesters.



[0050] Die Bezeichnung "Zusammensetzung" wie in "pharmazeutische Zusammensetzung" soll ein Produkt umfassen, das den/die Wirkstoff(e) und den/die inerten Bestandteil(e), welche den Träger bilden, sowie ein beliebiges Produkt, das direkt oder indirekt aus der Kombination, Komplexierung oder Aggregation von beliebigen zwei oder mehreren der Bestandteile oder durch Dissoziation von einem oder mehreren der Bestandteile oder aus anderen Arten von Reaktionen oder Wechselwirkungen von einem oder mehreren der Bestandteile hervorgeht. Demgemäß umfassen die pharmazeutischen Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung eine beliebige Zusammensetzung, die durch Vermischen einer Verbindung der vorliegenden Erfindung und eines pharmazeutisch annehmbaren Trägers hergestellt wird.

[0051] Die Bezeichnungen "Verabreichung von" und "Verabreichung einer" Verbindung sollen so verstanden werden, dass sie die Bereitstellung einer Verbindung der Erfindung oder eines Prodrugs einer Verbindung der Erfindung an die bedürftige Person umfassen.

[0052] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein Verfahren zur Inhibierung von HCV-NS5B-Polymerase, zur Inhibierung der HCV-Replikation oder zur Behandlung einer HCV-Infektion mit einer Verbindung der vorliegenden Erfindung in Kombination mit einem oder mehreren Mitteln, die sich zur Behandlung einer HCV-Infektion eignen. Solche Mittel, die gegen HCV wirksam sind, sind u.a., ohne jedoch darauf beschränkt zu sein, Ribavirin, Levovirin, Viramidin, Thymosin-alpha-1, Interferon- α , pegyliertes Interferon- α (Peginterferon- α), eine Kombination aus Interferon- α und Ribavirin, eine Kombination aus Peginterferon- α und Ribavirin, eine Kombination aus Interferon- α und Levovirin und eine Kombination aus Peginterferon- α und Levovirin. Interferon- α umfasst, ohne jedoch darauf beschränkt zu sein, rekombinantes Interferon- α 2a (wie z.B. Roferon-Interferon, das von Hoffmann-LaRoche, Nutley, NJ, erhältlich ist), pegyliertes Interferon- α 2a (PegasysTM), Interferon- α 2b (wie z.B. Intron-A-Interferon, das von Schering Corp., Kenilworth, NJ, erhältlich ist), pegyliertes Interferon- α 2b (PegIntronTM), ein rekombinantes Consensus-Interferon (wie z.B. Interferon alphacon-1) und ein gereinigtes Interferon- α -Produkt. Das rekombinante Consensus-Interferon von Amgen besitzt die Handelsbezeichnung Infergen[®]. Levovirin ist das L-Enantiomer von Ribavirin, das eine immunmodulatorische Wirkung ähnlich wie Ribavirin besitzt. Viramidin stellt ein Analogon von Ribavirin dar, das in der WO 01/60379 (übertragen auf ICN Pharmaceuticals) offenbart ist. Gemäß diesem Verfahren der vorliegenden Erfindung können die einzelnen Komponenten der Kombination getrennt zu verschiedenen Zeiten während des Verlaufs der Therapie oder gleichzeitig in aufgeteilten oder ein einzelnen Kombinationsformen verabreicht werden. Die vorliegende Erfindung ist daher so zu verstehen, dass sie alle solchen Regime mit gleichzeitiger oder alternierender Behandlung umfasst, und die Bezeichnung "Verabreichung" ist entsprechend aufzufassen. Man wird verstehen, dass der Umfang der Kombinationen der Verbindungen dieser Erfindung mit anderen zur Behandlung von HCV-Infektion geeigneten Mitteln im Prinzip jede beliebige Kombination mit einer beliebigen pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung einer HCV-Infektion umfasst. Wenn eine Verbindung

der vorliegenden Erfindung oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon in Kombination mit einem zweiten, gegen HCV wirksamen therapeutischen Mittel verwendet wird, kann die Dosis einer jeden Verbindung entweder die gleiche wie die Dosis bei alleiniger Verwendung der Verbindung oder anders als diese sein.

[0053] Zur Behandlung einer HCV-Infektion können die Verbindungen der vorliegenden Erfindung auch in Kombination mit einem Mittel, das ein Inhibitor von HCV-NS3-Serinprotease ist, verabreicht werden. HCV-NS3-Serinprotease ist ein essentielles virales Enzym und wurde als hervorragendes Ziel zur Inhibierung der HCV-Replikation beschrieben. Sowohl auf Substrat als auch nicht auf Substrat basierende Inhibitoren von HCV-NS3-Proteaseinhibitoren sind in der WO 98/22496, WO 98/46630, WO 99/07733, WO 99/07734, WO 99/38888, WO 99/50230, WO 99/64442, WO 00/09543, WO 00/59929 und GB 2337262 offenbart. HCV-NS3-Protase als ein Ziel für die Entwicklung von Inhibitoren der HCV-Replikation und zur Behandlung einer HCV-Infektion ist bei B.W. Dymock, "Emerging therapies for hepatitis C virus infection," *Emerging Drugs*, 6: 13-42 (2001), erörtert.

[0054] Ribavirin, Levovirin und Viramidin können ihre Anti-HCV-Wirkungen durch Modulierung intrazellulärer Guanin-Nucleotid-Pools durch Inhibierung des intrazellulären Enzyms Inosin-Monophosphat-Dehydrogenase (IMPDH) ausüben. IMPDH ist das geschwindigkeitslimitierende Enzym auf dem biosynthetischen Weg in der De-novo-Guanin-Nucleotid-Biosynthese. Ribavirin wird leicht intrazellulär phosphoryliert, und das Monophosphatderivat ist ein Inhibitor von IMPDH. Somit stellt die Inhibierung von IMPDH ein weiteres geeignetes Ziel für die Entdeckung von Inhibitoren der HCV-Replikation dar. Somit können die Verbindungen der vorliegenden Erfindung auch in Kombination mit einem Inhibitor von IMPDH, wie z.B. VX-497, der in der WO 97/41211 und der WO 01/00622 (übertragen auf Vertex) offenbart ist; einem weiteren IMPDH-Inhibitor, wie z.B. derjenige, der in der WO 00/25780 (übertragen an Bristol-Myers Squibb) offenbart ist; oder Mycophenolatmofetil [siehe A.C. Allison und E.M. Eugui, *Agents Action*, 44 (Erg.): 165 (1993)], verabreicht werden

[0055] Zur Behandlung einer HCV-Infektion können die Verbindungen der vorliegenden Erfindung auch in Kombination mit dem antiviralen Mittel Amantadin (1-Aminoadamantan) [für eine umfassende Beschreibung dieses Mittels siehe J. Kirschbaum, *Anal. Profiles Drug Subs.* 12: 1-36 (1983)] verabreicht werden.

[0056] Mit "pharmazeutisch annehmbar" ist gemeint, dass der Träger, das Verdünnungsmittel oder der Hilfsstoff mit den anderen Bestandteilen der Formulierung kompatibel sein muss und für den Empfänger nicht schädlich sein darf.

[0057] Ebenfalls von der vorliegenden Erfindung umfasst sind pharmazeutische Zusammensetzungen, welche die Nucleosid-Verbindungen und Derivate davon der vorliegenden Erfindung in Verbindung mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger enthalten. Ein weiteres Beispiel der Erfindung ist eine pharmazeutische Zusammensetzung, die durch Kombination von irgendwelchen der oben beschriebenen Verbindungen und einem pharmazeutisch annehmbaren Träger hergestellt wird. Eine weitere Veranschaulichung der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung, welches die Kombination irgendwelcher der oben beschriebenen Verbindungen und eines pharmazeutisch annehmbaren Trägers umfasst.

[0058] Ebenfalls von der vorliegenden Erfindung umfasst sind pharmazeutische Zusammensetzungen, die sich zur Inhibierung von RNA-abhängiger viraler RNA-Polymerase, insbesondere HCV-NS5B-Polymerase, eignen, umfassend eine wirksame Menge einer Verbindung der vorliegenden Erfindung und eines pharmazeutisch annehmbaren Trägers. Pharmazeutische Zusammensetzungen, die sich zur Behandlung einer RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion eignen, insbesondere einer HCV-Infektion, sind ebenfalls von der vorliegenden Erfindung umfasst, ebenso wie ein Verfahren zur Inhibierung einer RNA-abhängigen viralen RNA-Polymerase, insbesondere HCV-NS5B-Polymerase, und ein Verfahren zur Behandlung der RNA-abhängigen Virusreplikation und insbesondere der HCV-Replikation. Darüber hinaus betrifft die vorliegende Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die eine therapeutisch wirksame Menge einer Verbindung der vorliegenden Erfindung in Kombination mit einer therapeutisch wirksamen Menge eines weiteren, gegen RNA-abhängigen RNA-Virus und insbesondere gegen HCV wirksamen Mittels enthält. Mittel, die gegen HCV wirksam sind, sind u.a., ohne jedoch darauf beschränkt zu sein, Ribavirin, Levovirin, Viramidin, Thymosin alpha-1, ein Inhibitor von HCV-NS3-Serinprotease, Interferon- α , pegyliertes Interferon- α (Peginterferon- α), eine Kombination aus Interferon- α und Ribavirin, eine Kombination aus Peginterferon- α und Ribavirin, eine Kombination aus Interferon- α und Levovirin und eine Kombination aus Peginterferon- α und Levovirin. Interferon- α umfasst, ohne jedoch darauf beschränkt zu sein, rekombinantes Interferon- α 2a (wie z.B. Roferon-Interferon, das von Hoffmann-LaRoche, Nutley, NJ, erhältlich ist), Interferon- α 2b (wie z.B. Intron-A-Interferon, das von Schering Corp., Kenilworth, NJ, erhältlich ist), ein Consensus-Interferon und ein gereinigtes Interferon- α -Produkt. Für eine Diskussion über Ribavirin und dessen Wirksamkeit gegen HCV siehe J.O. Saunders und S.A. Raybuck, "Inosine

Monophosphate Dehydrogenase: Consideration of Structure, Kinetics and Therapeutic Potential," Ann. Rep. Med. Chem., 35, 201-210 (2000).

[0059] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung stellt die Verwendung der Nucleosid-Verbindungen und Derivate davon und ihrer pharmazeutischen Zusammensetzungen zur Herstellung eines Medikaments zur Inhibierung der RNA-abhängigen RNA-Virusreplikation, insbesondere der HCV-Replikation, und/oder zur Behandlung einer RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion, insbesondere einer HCV-Infektion, zur Verfügung. Noch ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung stellt Nucleosid-Verbindungen und Derivate davon und ihre pharmazeutischen Zusammensetzungen zur Verwendung als ein Medikament zur Inhibierung der RNA-abhängigen RNA-Virusreplikation, insbesondere der HCV-Replikation, und/oder zur Behandlung einer RNA-abhängigen RNA-Virusinfektion, insbesondere einer HCV-Infektion, zur Verfügung.

[0060] Die pharmazeutischen Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung enthalten eine Verbindung der Strukturformel I als einen Wirkstoff oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon und können auch einen pharmazeutisch annehmbaren Träger und gegebenenfalls andere therapeutische Bestandteile enthalten.

[0061] Die Zusammensetzungen umfassen zur oralen, rektalen, topischen, parenteralen (einschließlich subkutanen, intramuskulären und intravenösen), okularen (ophthalmischen), pulmonalen (nasale oder bukkale Inhalation) oder nasalen Verabreichung geeignete Zusammensetzungen, obwohl der geeignetste Weg in jedem Fall von der Beschaffenheit und Schwere des zu behandelnden Zustandes und von der Beschaffenheit des Wirkstoffs abhängen wird. Sie können auch zweckmäßig in Einheitsdosisform dargereicht und durch irgendeines der auf dem Fachgebiet der Pharmazie gut bekannten Verfahren hergestellt werden.

[0062] Bei der praktischen Verwendung können die Verbindungen der Strukturformel I als der Wirkstoff in in-niger Vermischung mit einem pharmazeutischen Träger gemäß herkömmlichen pharmazeutischen Compoundierverfahren kombiniert werden. Der Träger kann eine große Vielfalt von Formen besitzen, abhängig von der Präparateform, die für die Verabreichung erwünscht ist, z.B. oral oder parenteral (einschließlich intravenös). Bei der Herstellung der Zusammensetzungen für eine orale Dosisform kann irgendeines der üblichen pharmazeutischen Mittel eingesetzt werden, zum Beispiel Wasser, Glycole, Öle, Alkohole, Aromastoffe, Konservierungsmittel, Farbmittel und dergleichen im Falle von oralen Flüssigpräparaten, wie zum Beispiel Suspensionen, Elixiere oder Lösungen; oder Träger wie Stärken, Zucker, mikrokristalline Cellulose, Verdünnungsmittel, Granulierungsmittel, Gleitmittel, Bindemittel, Sprengmittel und dergleichen im Falle von oralen festen Präparaten, wie zum Beispiel Pulver, Hart- oder Weichkapseln und Tabletten, wobei die festen oralen Präparate gegenüber den flüssigen Präparaten bevorzugt sind.

[0063] Aufgrund ihrer leichten Verabreichung stellen Tabletten und Kapseln die vorteilhafteste orale Dosis-einheitsform dar, wobei in diesem Falle selbstverständlich feste pharmazeutische Träger eingesetzt werden. Falls erwünscht, können die Tabletten durch wässrige oder nichtwässrige Standardverfahren überzogen werden. Solche Zusammensetzungen und Präparate sollten wenigstens 0,1 Prozent der Wirkverbindung enthalten. Der Prozentsatz an Wirkverbindung in diesen Zusammensetzungen kann natürlich variiert werden und kann zweckmäßigerweise zwischen etwa 2 Gew.-% und etwa 60 Gew.-% der Einheit liegen. Die Menge an Wirkverbindung in solchen therapeutisch geeigneten Zusammensetzungen ist derart, dass eine wirksame Dosis erhalten werden wird. Die Wirkverbindungen können auch intranasal verabreicht werden, wie zum Beispiel durch Flüssigkeitstropfen oder Spray.

[0064] Die Tabletten, Pillen, Kapseln und dergleichen können auch ein Bindemittel, wie z.B. Tragantgummi, Akaziengummi, Maisstärke oder Gelatine; Hilfsstoffe, wie z.B. Dicalciumphosphat; ein Sprengmittel, wie z.B. Maisstärke, Kartoffelstärke, Alginsäure; ein Gleitmittel, wie z.B. Magnesiumstearat; und ein Süßmittel, wie z.B. Saccharose, Lactose oder Saccharin, enthalten. Wenn eine Dosis-einheitsform eine Kapsel ist, kann sie, zusätzlich zu den Materialien des obigen Typs, einen flüssigen Träger, wie z.B. ein Fettöl, enthalten.

[0065] Verschiedene andere Materialien können als Beschichtungen oder zur Modifizierung der physikalischen Form der Dosis-einheit vorliegen. Zum Beispiel können Tabletten mit Schellack, Zucker oder beidem überzogen sein. Ein Sirup oder Elixier kann, zusätzlich zu dem Wirkstoff, Saccharose als Süßmittel, Methyl- und Propylparabene als Konservierungsmittel, einen Farbstoff und einen Aromastoff, wie z.B. Kirsch- oder Orangenaroma, enthalten.

[0066] Die Verbindungen der Strukturformel I können auch parenteral verabreicht werden. Lösungen oder Suspension dieser Wirkverbindungen können in Wasser, das geeigneterweise mit einem Tensid, wie z.B. Hy-

droxypropylcellulose, vermischt ist, hergestellt werden. Dispersionen können auch in Glycerin, flüssigen Polyethylenglycolen und Mischungen davon in Ölen hergestellt werden. Unter gewöhnlichen Lagerungs- und Gebrauchsbedingungen enthalten diese Präparate ein Konservierungsmittel, um das Wachstum von Mikroorganismen zu verhindern.

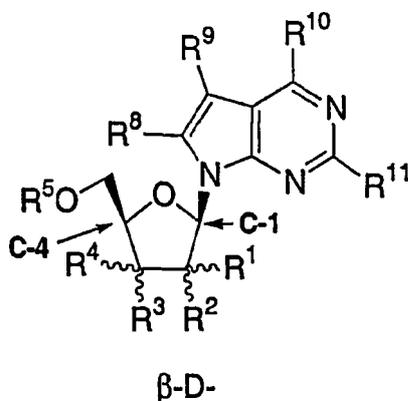
[0067] Die für eine Injektionsverwendung geeigneten pharmazeutischen Formen sind u.a. sterile wässrige Lösungen oder Dispersionen und sterile Pulver für die unvorbereitete Herstellung steriler injizierbarer Lösungen oder Dispersionen. In allen Fällen muss die Form steril sein und muss in dem Maße fluid sein, dass eine leichte Spritzenanwendung möglich ist. Sie muss unter den Herstellungs- und Lagerungsbedingungen stabil sein und muss gegen die kontaminierende Wirkung von Mikroorganismen, wie z.B. Bakterien und Pilzen, geschützt werden. Der Träger kann ein Lösungsmittel oder ein Dispersionsmittel sein, das zum Beispiel Wasser, Ethanol, Polyol (z.B. Glycerin, Propylenglycol und flüssiges Polyethylenglycol), geeignete Mischungen davon und Pflanzenöle enthält.

[0068] Jeder beliebige geeignete Verabreichungsweg kann eingesetzt werden, um einem Säuger, insbesondere einem Menschen, eine wirksame Dosis einer Verbindung der vorliegenden Erfindung zu verabreichen. Zum Beispiel kann eine orale, rektale, topische, parenterale, okulare, pulmonale, nasale Verabreichung und dergleichen eingesetzt werden. Dosisformen sind u.a. Tabletten, Pastillen, Dispersionen, Suspensionen, Lösungen, Kapseln, Cremes, Salben, Aerosole und dergleichen. Bevorzugte Verbindungen der Strukturformel I werden oral verabreicht.

[0069] Zur oralen Verabreichung an Menschen beträgt der Dosisbereich 0,01 bis 1000 mg/kg Körpergewicht in Teildosen. Bei einer Ausführungsform beträgt der Dosisbereich 0,1 bis 100 mg/kg Körpergewicht in Teildosen. Bei einer weiteren Ausführungsform beträgt der Dosisbereich 0,5 bis 20 mg/kg Körpergewicht in Teildosen. Zur oralen Verabreichung werden die Zusammensetzungen vorzugsweise in Form von Tabletten oder Kapseln zur Verfügung gestellt, welche 1,0 bis 1000 Milligramm des Wirkstoffs enthalten, speziell 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600, 750, 800, 900 und 1000 Milligramm des Wirkstoffs zur symptomatischen Einstellung der Dosis auf den zu behandelnden Patienten.

[0070] Die wirksame Dosis eines eingesetzten Wirkstoffs kann in Abhängigkeit von der speziellen eingesetzten Verbindung, dem Verabreichungsweg, dem zu behandelnden Zustand und der Schwere des zu behandelnden Zustandes variieren. Eine solche Dosis kann von einem Fachmann leicht ermittelt werden. Das Dosisregime kann eingestellt werden, um die optimale therapeutische Reaktion zu ergeben.

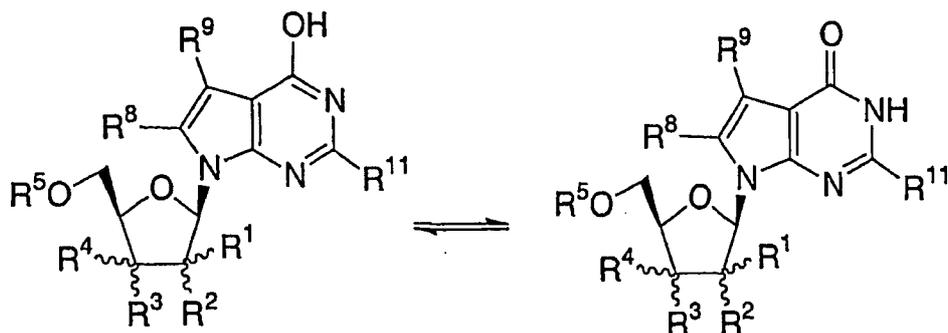
[0071] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung können ein oder mehrere Asymmetriezentren enthalten und somit als Racemate und racemische Mischungen, einzelne Enantiomere, Diastereomerenmischungen und einzelne Diastereomere vorkommen. Die vorliegende Erfindung soll Nucleosid-Verbindungen mit der β -D-stereochemischen Konfiguration für den fünfgliedrigen Furanosering umfassen, wie sie in der nachstehenden Strukturformel gezeigt ist, d.h., Nucleosid-Verbindungen, bei denen die Substituenten an C-1 und C-4 des fünfgliedrigen Furanoserings die β -stereochemische Konfiguration besitzen (Orientierung "nach oben", wie es durch eine fette Linie angedeutet ist).



[0072] Einige der hierin beschriebenen Verbindungen enthalten olefinische Doppelbindungen und sollen, sofern nichts anderes angegeben ist, sowohl E- als auch Z-Strukturisomere umfassen.

[0073] Einige der hierin beschriebenen Verbindungen existieren als Tautomere, wie z.B. als Keto-Enol-Tautomere. Die einzelnen Tautomere sowie Mischungen davon sind von den Verbindungen der Strukturformel I um-

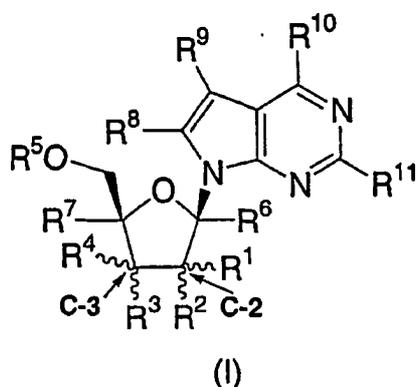
fasst. Ein Beispiel für Keto-Enol-Tautomere, die von den Verbindungen der vorliegenden Erfindung umfasst sein sollen, ist nachstehend veranschaulicht:



[0074] Die Verbindungen der Strukturformel I können zum Beispiel durch fraktionierte Kristallisation aus einem geeigneten Lösungsmittel, zum Beispiel aus Methanol oder Ethylacetat oder einer Mischung davon, oder durch chirale Chromatographie unter Verwendung einer optisch aktiven stationären Phase in ihre einzelnen Diastereomere aufgetrennt werden.

[0075] Alternativ kann jedes Stereoisomer einer Verbindung der Strukturformel I durch stereospezifische Synthese unter Verwendung optisch reiner Ausgangsmaterialien oder Reagenzien bekannter Konfiguration erhalten werden.

[0076] Die Stereochemie der Substituenten in den C-2- und C-3-Positionen des Furanoseringes der Verbindungen der vorliegenden Erfindung der Strukturformel I ist durch Wellenlinien dargestellt, was bedeutet, dass die Substituenten R¹, R², R³ und R⁴ unabhängig von einander entweder die α-(Substituent "nach unten") oder die β-Konfiguration (Substituent "nach oben") besitzen können. Die Darstellung der Stereochemie durch eine fette Linie wie bei C-1 und C-4 des Furanoseringes bedeutet, dass der Substituent die β-Konfiguration (Substituent "nach oben") besitzt.



[0077] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung können in Form eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes verabreicht werden. Der Ausdruck "pharmazeutisch annehmbares Salz" bedeutet Salze, die aus pharmazeutisch annehmbaren nichttoxischen Basen oder Säuren, einschließlich anorganischer oder organischer Basen und anorganischer oder organischer Säuren, hergestellt sind. Salze von basischen Verbindungen, welche von dem Ausdruck "pharmazeutisch annehmbares Salz" umfasst sind, bezeichnen nichttoxische Salze der Verbindungen dieser Erfindung, die im Allgemeinen durch Umsetzung der freien Base mit einer geeigneten organischen oder anorganischen Säure hergestellt werden. Repräsentative Salze basischer Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind u.a., ohne jedoch darauf beschränkt zu sein, die folgenden: Acetat, Benzolsulfonat, Benzoat, Hydrogencarbonat, Hydrogensulfat, Bitartrat, Borat, Bromid, Camsylat, Carbonat, Chlorid, Clavulanat, Citrat, Dihydrochlorid, Edetat, Edisylat, Estolat, Esylat, Fumarat, Gluceptat, Gluconat, Glutamat, Glycyllysylsarcosinat, Hexylresorcinat, Hydrabamin, Hydrobromid, Hydrochlorid, Hydroxynaphthoat, Iodid, Isothionat, Lactat, Lactobionat, Laurat, Malat, Maleat, Mandelat, Mesylat, Methylbromid, Methylnitrat, Methylsulfat, Mucat, Napsylat, Nitrat, N-Methylglucamin-Ammoniumsalz, Oleat, Oxalat, Pamoat (Embonat), Palmitat, Pantothenat, Phosphat/Diphosphat, Polygalacturonat, Salicylat, Stearat, Sulfat, Subacetat, Succinct, Tannat, Tartrat, Teoclat, Tosylat, Triethiodid und Valerat. Darüber hinaus sind, wenn die Verbindungen der Erfindung einen sauren Rest tragen, geeignete pharmazeutisch annehmbare Salze davon u.a., ohne jedoch darauf beschränkt zu sein, Salze, die aus anorganischen Basen hergeleitet werden, einschließlich Aluminium, Ammonium, Calcium, Kupfer, Eisen(II), Eisen(III), Lithium, Magnesium, Mangan(III), Mangan(II), Kalium, Natrium, Zink und dergleichen.

Besonders bevorzugt sind die Ammonium-, Calcium-, Magnesium-, Kalium- und Natriumsalze. Salze, die aus pharmazeutisch annehmbaren organischen nichttoxischen Basen hergeleitet sind, sind u.a. Salze von primären, sekundären und tertiären Aminen, cyclischen Aminen und basischen Ionenaustauschharzen, wie z.B. Arginin, Betain, Coffein, Cholin, N,N-Dibenzylethylendiamin, Diethylamin, 2-Diethylaminoethanol, 2-Dimethylaminoethanol, Ethanolamin, Ethylendiamin, N-Ethylmorpholin, N-Ethylpiperidin, Glucamin, Glucosamin, Histidin, Hydrabamin, Isopropylamin, Lysin, Methylglucymin, Morpholin, Piperazin, Piperidin, Polyaminharze, Procain, Purine, Theobromin, Triethylamin, Trimethylamin, Tripropylamin, Tromethamin und dergleichen.

[0078] Wenn eine Carbonsäure(-COOH) oder Alkoholgruppe in den Verbindungen der vorliegenden Erfindung vorliegt, können auch pharmazeutisch annehmbare Ester von Carbonsäurederivaten, wie z.B. Methyl, Ethyl oder Pivaloyloxymethyl, oder Acylderivate von Alkoholen, wie z.B. Acetat oder Maleat, eingesetzt werden. Umfasst sind diejenigen Ester- und Acylgruppen, die im Fachgebiet dafür bekannt sind, die Löslichkeits- oder Hydrolyseeigenschaften zu modifizieren, um in Formulierungen mit verzögerter Freisetzung oder in Prodrug-Formulierungen verwendet zu werden.

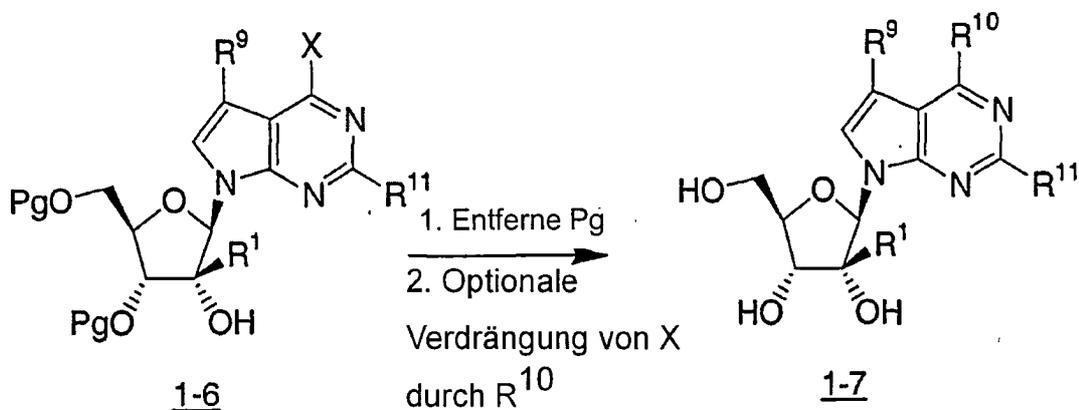
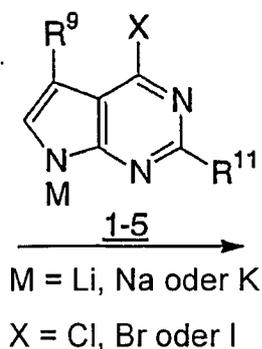
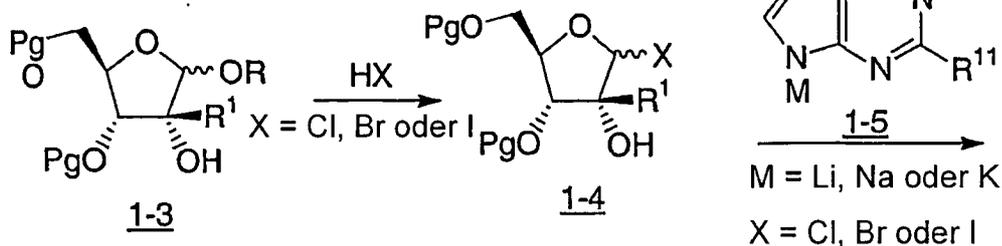
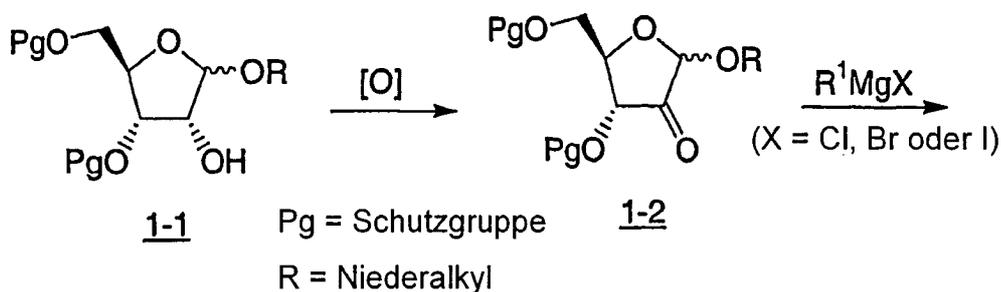
Herstellung der erfindungsgemäßen Nucleosid-Verbindungen und Derivate

[0079] Die Nucleosid-Verbindungen und die Derivate davon der vorliegenden Erfindung können durch Nacharbeiten der folgenden Syntheseverfahren, die in der Praxis der Nucleosid- und Nucleotid-Chemie gut bekannt sind, hergestellt werden. Für eine Beschreibung von Syntheseverfahren, die bei der Herstellung der Verbindungen der vorliegenden Erfindung verwendet werden, wird Bezug genommen auf die folgende Schrift: "Chemistry of Nucleosides and Nucleotides," L.B. Townsend, Hrsg., Bände 1-3, Plenum Press, 1988, die hierin durch Bezugnahme in ihrer Gesamtheit aufgenommen ist.

[0080] Ein repräsentatives allgemeines Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der vorliegenden Erfindung ist in dem nachstehenden Schema 1 skizziert. Dieses Schema veranschaulicht die Synthese von Verbindungen der vorliegenden Erfindung der Strukturformel 1-7, wobei der Furanosering die β -D-Ribo-Konfiguration besitzt. Das Ausgangsmaterial ist ein 3,5-Bis-O-geschütztes Alkylfuranosid, wie z.B. Methylfuranosid, der Strukturformel 1-1. Die C-2-Hydroxylgruppe wird anschließend mit einem geeigneten Oxidationsmittel, wie z.B. einem Chromtrioxid oder Chromatreagenz, Dess-Martin-Periodinan oder durch Swern-Oxidation, oxidiert, um ein C-2-Keton der Strukturformel 1-2 zu ergeben. Die Addition eines Grignard-Reagenzes, wie z.B. eines Alkyl-, Alkenyl- oder Alkylmagnesiumhalogenids (zum Beispiel MeMgBr, EtMgBr, VinylMgBr, AllylMgBr und EthynylMgBr) oder eines Alkyl-, Alkenyl- oder Alkylolithiums, wie z.B. MeLi, an die Carbonyl-Doppelbindung von 1-2 in einem geeigneten organischen Lösungsmittel, wie z.B. Tetrahydrofuran, Diethylether und dergleichen, ergibt den C-2-tert.-Alkohol der Strukturformel 1-3. Eine gute Abgangsgruppe (wie z.B. Cl, Br und I) wird anschließend an der (anomeren) C-1-Position des Furanose-Zuckerderivats durch Behandlung des Furanosids der Formel 1-3 mit einem Halogenwasserstoff in einem geeigneten organischen Lösungsmittel, wie z.B. Bromwasserstoff in Essigsäure, eingeführt, um das intermediäre Furanosylhalogenid 1-4 zu ergeben. Ein C-1-Sulfonat, wie z.B. Methansulfonat (MeSO₂O-), Trifluormethansulfonat (CF₃SO₂O-) oder p-Toluolsulfonat (-OTs) kann ebenfalls als geeignete Abgangsgruppe in der nachfolgenden Reaktion dienen, um die glycosidische (nucleoside) Verknüpfung zu erzeugen. Die nucleoside Verknüpfung wird durch Behandlung des Zwischenprodukts der Strukturformel 1-4 mit dem Metallsalz (wie z.B. Lithium, Natrium oder Kalium) eines geeignet substituierten 1H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidins 1-5, wie z.B. eines geeignet substituierten 4-Halogen-1H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidins, gebildet, das in situ durch Behandlung mit einem Alkalihydrid (wie z.B. Natriumhydrid), einem Alkalihydroxid (wie z.B. Kaliumhydroxid), einem Alkalicarbonat (wie z.B. Kaliumcarbonat) oder einem Alkalihexamethyldisilazid (wie z.B. NaHMDS) in einem geeigneten wasserfreien organischen Lösungsmittel, wie z.B. Acetonitril, Tetrahydrofuran, 1-Methyl-2-pyrrolidinon oder N,N-Dimethylformamid (DMF), erzeugt. Die Verdrängungsreaktion kann durch Verwendung eines Phasentransferkatalysators, wie z.B. TDA-1 oder Triethylbenzylammoniumchlorid, in einem Zwei-Phasen-System (Fest-Flüssig oder Flüssig-Flüssig) katalysiert werden. Die optionalen Schutzgruppen in dem geschützten Nucleosid der Strukturformel 1-6 werden dann mittels etablierter Verfahren zur Entfernung von Schutzgruppen abgespalten, wie z.B. durch diejenigen, die bei T.W. Greene und P.G.M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis," 3. Aufl., John Wiley & Sons, 1999, beschrieben sind. Die optionale Einführung einer Aminogruppe an der 4-Position des Pyrrolo[2,3-d]pyrimidinkerns erfolgt durch Behandlung des 4-Halogen-Zwischenprodukts 1-6 mit dem passenden Amin, wie z.B. mit alkoholischem Ammoniak oder flüssigem Ammoniak, um an der C-4-Position ein primäres Amin zu erzeugen (-NH₂), ein Alkylamin, um ein sekundäres Amin zu erzeugen (-NHR), oder ein Dialkylamin, um ein tertiäres Amin zu erzeugen (-NRR'). Eine 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on-Verbindung kann durch Hydrolyse von 1-6 mit wässriger Base, wie z.B. wässrigem Natriumhydroxid, hergeleitet werden. Die Alkohololyse (wie z.B. die Methanololyse) von 1-6 ergibt ein C-4-Alkoxid (-OR), wohingegen die Behandlung mit einem Alkylmercaptid ein C-4-Alkylthioderivat (-SR) ergibt. Anschließend können chemische Manipulationen notwendig sein, die den

Fachleuten auf dem Gebiet der organischen/medizinischen Chemie gut bekannt sind, um die erwünschten Verbindungen der vorliegenden Erfindung zu erhalten.

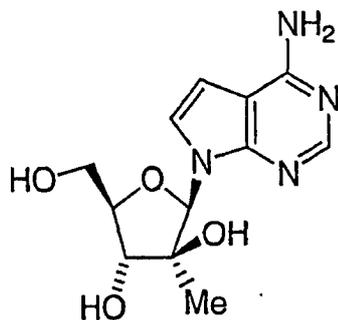
Schema 1



[0081] Die nachstehenden Beispiele geben Literaturstellen an, die Details zur Herstellung der Endverbindungen oder der bei der Herstellung von Endverbindungen der vorliegenden Erfindung verwendeten Zwischenprodukte enthalten. Die Nucleosid-Verbindungen der vorliegenden Erfindung wurden gemäß Verfahren hergestellt, die in den folgenden Beispielen detailliert beschrieben sind. Die Beispiele sollen keinesfalls Einschränkungen des Umfangs der vorliegenden Erfindung darstellen und sollen nicht derart aufgefasst werden. Die Fachleute auf dem Gebiet der Nucleosid- und Nucleotid-Synthese werden sofort erkennen, dass bekannte Variationen der Bedingungen und Verfahren der folgenden Herstellungsverfahren durchgeführt werden können, um diese und andere Verbindungen der vorliegenden Erfindung herzustellen. Alle Temperaturen sind, sofern nichts anderes vermerkt ist, in Grad Celsius angegeben.

BEISPIEL 1

4-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-arabinofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

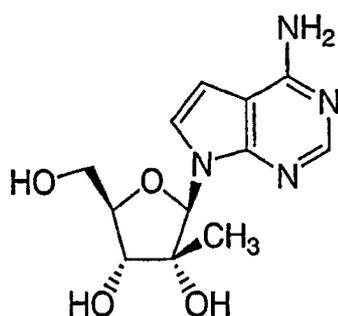


[0082] Zu Chromtrioxid (1,57 g, 1,57 mmol) in Dichlormethan (DCM) (10 ml) bei 0°C wurde Essigsäureanhydrid (145 mg, 1,41 mmol) und anschließend Pyridin (245 mg, 3,10 mmol) zugegeben. Die Mischung wurde 15 Minuten gerührt, dann mit einer Lösung von 7-[3,5-O-[1,1,3,3-Tetrakis(1-methylethyl)-1,3-disiloxandiyl]-β-D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin [für die Herstellung siehe J. Am. Chem. Soc. 105: 4059 (1983)] (508 mg, 1,00 mmol) in DCM (3 ml) versetzt. Die resultierende Lösung wurde 2 Stunden gerührt und anschließend in Ethylacetat (10 ml) gegossen und dann durch Kieselgel mit Ethylacetat als Elutionsmittel filtriert. Die vereinten Filtrate wurden im Vakuum eingedampft, in Diethylether/THF (1:1) (20 ml) aufgenommen, auf -78°C abgekühlt und tropfenweise mit Methylmagnesiumbromid (3M, in THF) (3,30 ml, 10 mmol) versetzt. Die Mischung wurde 10 Minuten bei -78°C gerührt, dann ließ man sie auf Raumtemperatur (RT) erwärmen, und sie wurde durch Zugabe von gesättigtem wässrigem Ammoniumchlorid (10 ml) gequenchet und mit DCM (20 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde im Vakuum eingedampft und das Rohprodukt auf Kieselgel mit 5% Methanol in Dichlormethan als Elutionsmittel gereinigt. Die produkthaltigen Fraktionen wurden gesammelt und im Vakuum eingedampft. Das resultierende Öl wurde in THF (5 ml) aufgenommen und mit Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) auf Kieselgel (1,1 mmol/g auf Kieselgel) (156 mg) versetzt. Die Mischung wurde 30 Minuten bei RT gerührt, filtriert und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt wurde auf Kieselgel mit 10% Methanol in Dichlormethan als Elutionsmittel gereinigt. Die produkthaltigen Fraktionen wurden gesammelt und im Vakuum eingedampft, um die erwünschte Verbindung (49 mg) als einen farblosen Feststoff zu ergeben.

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1,08 (s, 3H), 3,67 (m, 2H), 3,74 (m, 1H), 3,83 (m, 1H), 5,19 (m, 1H), 5,23 (m, 1H), 5,48 (m, 1H), 6,08 (1H, s), 6,50 (m, 1H), 6,93 (br. 2H), 7,33 (m, 1H), 8,02 (s, 1H).

BEISPIEL 2

4-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin



Schritt A: 3,5-Bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-1-O-methyl-α-D-ribofuranose

[0083] Eine Mischung aus 2-O-Acetyl-3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-1-O-methyl-α-D-ribofuranose [für die Herstellung siehe: Helv. Chim. Acta 78: 486 (1995)] (52,4 g, 0,10 mol) in methanolischem K₂CO₃ (500 ml, gesättigt bei RT) wurde bei Raumtemperatur 45 Minuten gerührt und dann unter vermindertem Druck eingengt. Der ölige Rückstand wurde in CH₂Cl₂ (500 ml) suspendiert, mit Wasser (300 ml + 5 × 200 ml) und Salzlösung (200 ml) gewaschen, getrocknet (Na₂SO₄), filtriert und eingengt, um die Titelverbindung (49,0 g) als ein farbloses Öl zu ergeben, das in dem nachstehenden Schritt B ohne weitere Reinigung verwendet wurde.

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 3,28 (s, 3H, OCH₃), 3,53 (d, 2H, J_{5,4} = 4,5 Hz, H-5a, H-5b), 3,72 (dd, 1H, J_{3,4} = 3,6 Hz,

$J_{3,2} = 6,6$ Hz, H-3), 3,99 (ddd, 1H, $J_{2,1} = 4,5$ Hz, $J_{2,OH-2} = 9,6$ Hz, H-2), 4,07 (m, 1H, J-4), 4,50 (s, 2H, CH₂Ph), 4,52, 4,60 (2H, 2H, $J_{gem} = 13,6$ Hz, CH₂Ph), 4,54 (d, 1H, OH-2), 4,75 (d, 1H, H-1), 7,32-7,45, 7,52-7,57 (2H, 10H, 2Ph).

¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ 55,40, 69,05, 69,74, 71,02, 71,29, 78,41, 81,45, 103,44, 127,83, 127,95, 129,05, 129,28, 131,27, 131,30, 133,22, 133,26, 133,55, 133,67, 135,45, 135,92.

Schritt B: 3,5-Bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-1-O-methyl- α -D-erythro-pentofuranos-2-ulose

[0084] Zu einer eiskalten Suspension von Dess-Martin-Periodinan (50,0 g, 118 mmol) in wasserfreiem CH₂Cl₂ (350 ml) unter Argon (Ar) wurde eine Lösung der Verbindung von Schritt A (36,2 g, 75 mmol) in wasserfreiem CH₂Cl₂ (200 ml) tropfenweise innerhalb von 0,5 Stunden zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 0,5 Stunden bei 0°C und anschließend 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wurde mit wasserfreiem Et₂O (600 ml) verdünnt und in eine eiskalte Mischung aus Na₂S₂O₃·5H₂O (180 g) in gesättigtem wässrigem NaHCO₃ (1400 ml) gegossen. Die Schichten wurden getrennt und die organische Schicht mit gesättigtem wässrigem NaHCO₃ (600 ml), Wasser (800 ml) und Salzlösung (600 ml) gewaschen, getrocknet (MgSO₄), filtriert und eingedampft, um die Titelverbindung (34,2 g) als ein farbloses Öl zu ergeben, das ohne weitere Reinigung im nachstehenden Schritt C verwendet wurde.

¹H-NMR (CDCl₃): δ 3,50 (s, 3H, OCH₃), 3,79 (dd, 1H, $J_{5a,5b} = 11,3$ Hz, $J_{5a,4} = 3,5$ Hz, H-5a), 3,94 (dd, 1H, $J_{5b,4} = 2,3$ Hz, H-5b), 4,20 (dd, 1H, $J_{3,1} = 1,3$ Hz, $J_{3,4} = 8,4$ Hz, H-3), 4,37 (ddd, 1H, H-4), 4,58, 4,69 (2d, 2H, $J_{gem} = 13,0$ Hz, CH₂Ph), 4,87 (d, 1H, H-1), 4,78, 5,03 (2d, 2H, $J_{gem} = 12,5$ Hz, CH₂Ph), 7,19-7,26, 7,31-7,42 (2m, 10H, 2Ph).

¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ 55,72, 69,41, 69,81, 69,98, 77,49, 78,00, 98,54, 127,99, 128,06, 129,33, 129,38, 131,36, 131,72, 133,61, 133,63, 133,85, 133,97, 134,72, 135,32, 208,21.

Schritt C: 3,5-Bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C-methyl-1-O-methyl- α -D-ribofuranose

[0085] Zu einer Lösung von MeMgBr in wasserfreiem Et₂O (0,48M, 300 ml) bei -55°C wurde tropfenweise eine Lösung der Verbindung von Schritt B (17,40 g, 36,2 mmol) in wasserfreiem Et₂O (125 ml) zugegeben. Man ließ die Reaktionsmischung auf -30°C erwärmen und 7 Stunden bei -30°C bis -15°C rühren, dann wurde sie in eiskaltes Wasser (500 ml) gegossen und die Mischung bei Raumtemperatur 0,5 Stunden kräftig gerührt. Die Mischung wurde durch ein Celitekissen (10 × 5 cm) filtriert, das gründlich mit Et₂O gewaschen wurde. Die organische Schicht wurde getrocknet (MgSO₄), filtriert und eingeeengt. Der Rückstand wurde in Hexanen gelöst (~30 ml), auf eine Kieselgelsäule (10 × 7 cm, vorgepackt in Hexanen) aufgetragen und mit Hexanen und Hexanen/EtOAc (9/1) eluiert, um die Titelverbindung (16,7 g) als einen farblosen Sirup zu ergeben.

¹H-NMR (CDCl₃): δ 1,36 (d, 3H, $J_{Me,OH} = 0,9$ Hz, 2C-Me), 3,33 (q, 1H, OH), 3,41 (d, 1H, $J_{3,4} = 3,3$ Hz), 3,46 (s, 3H, OCH₃), 3,66 (d, 2H, $J_{5,4} = 3,7$ Hz, H-5a, H-5b), 4,18 (scheinbares q, 1H, H-4), 4,52 (s, 1H, H-1), 4,60 (s, 2H, CH₂Ph), 4,63, 4,81 (2d, 2H, $J_{gem} = 13,2$ Hz, CH₂Ph), 7,19-7,26, 7,34-7,43 (2H, 10H, 2Ph).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 24,88, 55,45, 69,95, 70,24, 70,88, 77,06, 82,18, 83,01, 107,63, 127,32, 129,36, 130,01, 130,32, 133,68, 133,78, 134,13, 134,18, 134,45, 134,58.

Schritt D: 4-Chlor-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2C-methyl- β -D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0086] Zu einer Lösung der Verbindung von Schritt C (9,42 g, 19 mmol) in wasserfreiem Dichlormethan (285 ml) bei 0°C wurde HBr (5,7M in Essigsäure, 20 ml, 114 mmol) tropfenweise zugegeben. Die resultierende Lösung wurde 1 Stunde bei 0°C und anschließend 3 Stunden bei RT gerührt, im Vakuum eingedampft und zusammen mit wasserfreiem Toluol eingedampft (3 × 40 ml). Der ölige Rückstand wurde in wasserfreiem Acetonitril (50 ml) gelöst und zu einer Lösung des Natriumsalzes von 4-Chlor-1H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin in Acetonitril [erzeugt in situ aus 4-Chlor-1H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin [für die Herstellung siehe: J. Chem. Soc.: 131 (1960)] (8,76 g, 57 mmol) in wasserfreiem Acetonitril (1000 ml) und NaH (60%ig in Mineralöl, 2,28 g, 57 mmol) nach 4-stündigem kräftigem Rühren bei RT] gegeben. Die vereinte Mischung wurde 24 Stunden bei RT gerührt und anschließend zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde in Wasser (250 ml) suspendiert und mit EtOAc (2 × 500 ml) extrahiert. Die vereinten Extrakte wurden mit Salzlösung (300 ml) gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingedampft. Das Rohprodukt wurde auf einer Kieselgelsäule (10 cm × 10 cm) mit Ethylacetat/Hexan (1:3 und 1:2) als Elutionsmittel gereinigt. Die produkthaltigen Fraktionen wurden vereint und im Vakuum eingeeengt, um das erwünschte Produkt (5,05 g) als einen farblosen Schaum zu ergeben.

¹H-NMR (CDCl₃): δ 0,93 (s, 3H, CH₃), 3,09 (s, 1H, OH), 3,78 (dd, 1H, $J_{5',5''} = 10,9$ Hz, $J_{5',4} = 2,5$ Hz, H-5'), 3,99 (dd, 1H, $J_{5'',4} = 2,2$ Hz, H-5''), 4,23-4,34 (m, 2H, H-3', H-4'), 4,63, 4,70 (2d, 2H, $J_{gem} = 12,7$ Hz, CH₂Ph), 4,71, 4,80 (2d, 2H, $J_{gem} = 12,1$ Hz, CH₂Ph), 6,54 (d, 1H, $J_{5,6} = 3,8$ Hz, H-5), 7,23-7,44 (m, 10H, 2Ph).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 21,31, 69,10, 70,41, 70,77, 79,56, 80,41, 81,05, 91,11, 100,57, 118,21, 127,04, 127,46,

127,57, 129,73, 129,77, 130,57, 130,99, 133,51, 133,99, 134,33, 134,38, 134,74, 135,21, 151,07, 151,15, 152,47.

Schritt E: 4-Chlor-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0087] Zu einer Lösung der Verbindung von Schritt D (5,42 g, 8,8 mmol) in Dichlormethan (175 ml) bei -78°C wurde Bortrichlorid (1M in Dichlormethan, 88 ml, 88 mmol) tropfenweise zugegeben. Die Mischung wurde 2,5 Stunden bei -78°C, dann 3 Stunden bei -30°C bis -20°C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Methanol/Dichlormethan (1:1) (90 ml) gequench und die resultierende Mischung 30 Minuten bei -15°C gerührt, dann mit wässrigem Ammoniak bei 0°C neutralisiert und 15 Minuten bei RT gerührt. Der Feststoff wurde filtriert und mit CH₂Cl₂/MeOH (1/1, 250 ml) gewaschen. Das vereinte Filtrat wurde eingedampft und der Rückstand durch Flashchromatographie über Kieselgel unter Verwendung von CH₂Cl₂ und CH₂Cl₂:MeOH-Gradienten (99:1, 98:2, 95:5 und 90:10) als Elutionsmittel gereinigt, um die erwünschte Verbindung (1,73 g) als einen farblosen Schaum zu ergeben, der nach der Behandlung mit MeCN zu einem amorphen Feststoff wurde.

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 0,64 (s, 3H, CH₃), 3,61-3,71 (m, 1H, H-5'), 3,79-3,88 (m, 1H, H-5''), 3,89-4,01 (m, 2H, H-3', H-4'), 5,15-5,23 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 6,24 (s, 1H, H-1'), 6,72 (d, 1H, J_{5,6} = 3,8 Hz, H-5), 8,13 (d, 1H, H-6), 8,65 (s, 1H, H-2).

¹³C-NMR (DMSO-d₆): 20,20, 59,95, 72,29, 79,37, 83,16, 91,53, 100,17, 117,63, 128,86, 151,13, 151,19, 151,45.

Schritt F: 4-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0088] Zu der Verbindung von Schritt E (1,54 g, 5,1 mmol) wurde methanolischer Ammoniak (gesättigt bei 0°C, 150 ml) zugegeben. Die Mischung wurde in einem Edelstahl-Autoklaven bei 85°C 14 Stunden erwärmt, dann abgekühlt und im Vakuum eingedampft. Die rohe Mischung wurde auf einer Kieselgelsäule mit CH₂Cl₂/MeOH (9/1) als Elutionsmittel gereinigt, um die Titelverbindung als einen farblosen Schaum (0,8 g) zu ergeben, der sich nach der Behandlung mit MeCN als amorpher Feststoff abschied. Der amorphe Feststoff wurde aus Methanol/Acetonitril umkristallisiert; Schmp. 222°C.

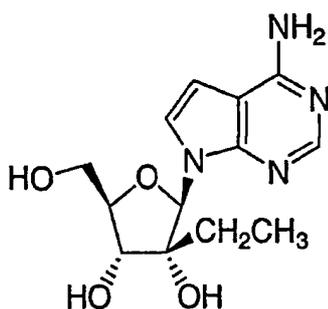
¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 0,62 (s, 3H, CH₃), 3,57-3,67 (m, 1H, H-5'), 3,75-3,97 (m, 3H, H-5'', H-4', H-3'), 5,00 (s, 1H, 2'-OH), 5,04 (d, 1H, J_{3'OH,3'} = 6,8 Hz, 3'-OH), 5,06 (t, 1H, J_{5'OH,5',5''} = 5,1 Hz, 5'-OH), 6,11 (s, 1H, H-1'), 6,54 (d, 1H, J_{5,6} = 3,6 Hz, H-5), 6,97 (br. s, 2H, NH₂), 7,44 (d, 1H, H-6), 8,02 (s, 1H, H-2).

¹³C-NMR (DMSO-d₆) δ 20,26, 60,42, 72,72, 79,30, 82,75, 91,20, 100,13, 103,08, 121,96, 150, 37, 152,33, 158,15.

LC-MS: Gefunden: 279,10 (M-H⁺), berechn. für C₁₂H₁₆N₄O₄+H⁺: 279,11.

BEISPIEL 3

4-Amino-7-(2-C-ethyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin



Schritt A: 3,5-Bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2C-ethyl-1-O-methyl-α-D-ribofuranose

[0089] Zu Diethylether (300 ml) bei -78°C wurde langsam EtMgBr (3,0M, 16,6 ml) und dann tropfenweise die Verbindung aus Schritt B von Beispiel 2 (4,80 g, 10,0 mmol) in wasserfreiem Et₂O (100 ml) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 15 Minuten bei -78°C gerührt, man ließ sie auf -15°C erwärmen und weitere 2 Stunden rühren, und anschließend wurde sie in eine gerührte Mischung aus Wasser (300 ml) und Et₂O (600 ml) gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt, getrocknet (MgSO₄) und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt wurde auf Kieselgel unter Verwendung von Ethylacetat/Hexan (1:2) als Elutionsmittel gereinigt. Die produkthaltigen Fraktionen wurden gesammelt und im Vakuum eingedampft, um das erwünschte Produkt (3,87 g) als ein farbloses Öl zu ergeben.

Schritt B: 4-Chlor-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C-ethyl-β-D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0090] Zu einer Lösung der Verbindung von Schritt A (1,02 mg, 2,0 mmol) in Dichlormethan (40 ml) wurde HBr (5,7M in Essigsäure) (1,75 ml, 10,0 mmol) tropfenweise bei 0°C zugegeben. Die resultierende Lösung wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, im Vakuum eingedampft und zweimal zusammen mit Toluol (10 ml) eingedampft. Der ölige Rückstand wurde in Acetonitril (10 ml) gelöst und zu einer kräftig gerührten Mischung aus 4-Chlor-1H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (307 mg, 2,0 mmol), Kaliumhydroxid (337 mg, 6,0 mmol) und Tris[2-(2-methoxyethoxy)ethyl]amin (130 mg, 0,4 mmol) in Acetonitril (10 ml) zugegeben. Die resultierende Mischung wurde bei RT über Nacht gerührt und anschließend in eine gerührte Mischung aus gesättigtem Ammoniumchlorid (100 ml) und Ethylacetat (100 ml) gegossen. Die organische Schicht wurde abgetrennt, mit Salzlösung (100 ml) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt wurde auf Kieselgel mit Ethylacetat/Hexan (1:2) als Elutionsmittel gereinigt, um das erwünschte Produkt (307 mg) als einen farblosen Schaum zu ergeben.

Schritt C: 4-Chlor-7-(2-C-ethyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0091] Zu einer Lösung der Verbindung von Schritt B (307 mg, 0,45 mmol) in Dichlormethan (8 ml) wurde Bortrichlorid (1M in Dichlormethan) (4,50 ml, 4,50 mmol) bei -78°C zugegeben. Die Mischung wurde 1 Stunde bei -78°C, dann 3 Stunden bei -10°C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Methanol/Dichlormethan (1:1) (10 ml) gequench, 30 Minuten bei -15°C gerührt und durch Zugabe von wässrigem Ammoniumhydroxid neutralisiert. Die Mischung wurde unter vermindertem Druck eingedampft und das resultierende Öl auf Kieselgel unter Verwendung von Methanol/Dichlormethan (1:9) als Elutionsmittel gereinigt. Die produkthaltigen Fraktionen wurden gesammelt und im Vakuum eingedampft, um das erwünschte Produkt (112 mg) als einen farblosen Schaum zu ergeben.

Schritt D: 4-Amino-7-(2-C-ethyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

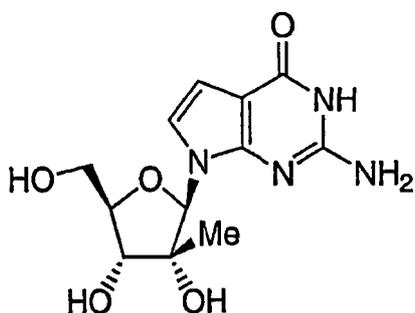
[0092] Zu der Verbindung von Schritt C (50 mg, 0,16 mmol) wurde gesättigter Ammoniak in Methanol (4 ml) zugegeben. Die Mischung wurde 72 Stunden bei 75°C in einem geschlossenen Behälter gerührt, abgekühlt und im Vakuum eingedampft. Die rohe Mischung wurde auf Kieselgel unter Verwendung von Methanol/Dichlormethan (1:9) als Elutionsmittel gereinigt. Die produkthaltigen Fraktionen wurden gesammelt und im Vakuum eingedampft, um das erwünschte Produkt (29 mg) als ein farblores Pulver zu ergeben.

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): δ 0,52 (t, 3H), 1,02 (m, 2H), 4,01-3,24 (m, 6H), 5,06 (m, 1H), 6,01 (s, 1H), 6,51 (d, 1H), 6,95 (s, br. 2H), 6,70 (d, 1H), 7,99 (s, 1H).

LC-MS: Gefunden: 295,2 (M+H⁺); berechn. für C₁₃H₁₈N₄O₄+H⁺: 295,14.

BEISPIEL 4

2-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on



Schritt A: 2-Amino-4-chlor-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0093] Zu einer eiskalten Lösung des Produkts aus Schritt C von Beispiel 2 (1,27 g, 2,57 mmol) in CH₂Cl₂ (30 ml) wurde HBr (5,7M in Essigsäure, 3 ml) tropfenweise zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, unter vermindertem Druck eingengt und zusammen mit Toluol eingedampft (2 × 15 ml). Das resultierende Öl wurde in Acetonitril (MeCN) (15 ml) gelöst und tropfenweise in eine gut gerührte Mischung aus 2-Amino-4-chlor-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin [für die Herstellung siehe Heterocycles 35: 825 (1993)] (433 mg, 2,57 mmol), KOH (85%, pulverförmig) (0,51 g, 7,7 mmol), Tris-[2-(2-methoxyethoxy-

xyethyl]amin (165 µl, 0,51 mmol) in Acetonitril (30 ml) gegeben. Die resultierende Mischung wurde 1 Stunde bei RT gerührt und eingedampft. Der Rückstand wurde auf einer Kieselgelsäule unter Verwendung von Hexanen/EtOAc, 5/1, 3/1 und 2/1, als Elutionsmittel gereinigt, um die Titelverbindung als einen farblosen Schaum zu ergeben (0,65 g).

Schritt B: 2-Amino-4-chlor-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0094] Zu einer Lösung des Produkts von Schritt A (630 mg, 1,0 mmol) in CH₂Cl₂ (20 ml) bei -78°C wurde Bortrichlorid (1M in CH₂Cl₂) (10 ml, 10 mmol) zugegeben. Die Mischung wurde 2 Stunden bei -78°C, dann 2,5 Stunden bei -20°C gerührt. Die Reaktion wurde mit CH₂Cl₂/MeOH (1:1) (10 ml) gequench, 0,5 Stunden bei -20°C gerührt und mit wässrigem Ammoniak bei 0°C neutralisiert. Der Feststoff wurde abfiltriert, mit CH₂Cl₂/MeOH (1:1) gewaschen und das vereinte Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde auf einer Kieselgelsäule mit CH₂Cl₂/MeOH, 50/1 und 20/1, als Elutionsmittel gereinigt, um die Titelverbindung als einen farblosen Schaum (250 mg) zu ergeben.

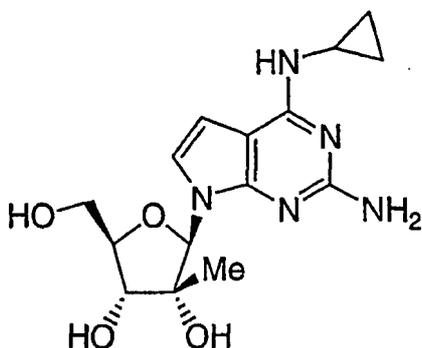
Schritt C: 2-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on

[0095] Eine Mischung aus dem Produkt von Schritt B (90 mg, 0,3 mmol) in wasserfreiem NaOH (2N, 9 ml) wurde 5 Stunden zur Rückflusstemperatur erhitzt, dann bei 0°C mit 2N wässriger HCl neutralisiert und zur Trockene eingedampft. Die Reinigung auf einer Kieselgelsäule mit CH₂Cl₂/MeOH, 5/1, als Elutionsmittel ergab die Titelverbindung als einen weißen Feststoff (70 mg).

¹H-NMR (200 MHz, CD₃OD): δ 0,86 (s, 3H), 3,79 (m, 1H), 3,90-4,05 (m, 3H), 6,06 (s, 1H), 6,42 (d, J = 3,7 Hz, 1H), 7,05 (d, J = 3,7 Hz, 1H).

BEISPIEL 5

2-Amino-4-cyclopropylamino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

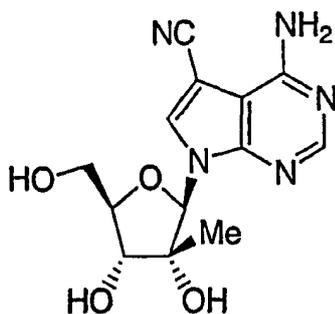


[0096] Eine Lösung von 2-Amino-4-chlor-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (Beispiel 4, Schritt B) (21 mg, 0,07 mmol) in Cyclopropylamin (0,5 ml) wurde 2 Tage auf 70°C erwärmt, dann zu einem öligen Rückstand eingedampft und auf einer Kieselgelsäule mit CH₂Cl₂/MeOH, 20/1, als Elutionsmittel gereinigt, um die Titelverbindung als einen weißen Feststoff zu ergeben (17 mg).

¹H-NMR (200 MHz, CD₃CN): δ 0,61 (m, 2H), 0,81 (m, 2H), 0,85 (s, 3H), 2,83 (m, 1H), 3,74-3,86 (m, 1H), 3,93-4,03 (m, 2H), 4,11 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 6,02 (s, 1H), 6,49 (d, J = 3,7 Hz, 1H), 7,00 (d, J = 3,7 Hz, 1H).

BEISPIEL 6

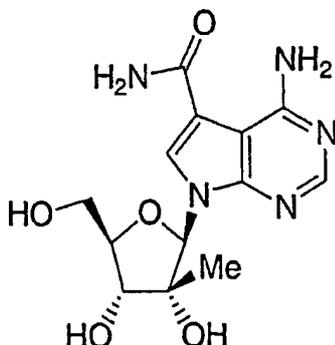
4-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-5-carbonitril



[0097] Diese Verbindung wurde durch Nacharbeiten der von Y. Murai et al. in Heterocycles 33: 391-404 (1992), beschriebenen Verfahren hergestellt.

BEISPIEL 7

4-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-5-carboxamid



[0098] Diese Verbindung wurde durch Nacharbeiten der von Y. Murai et al. in Heterocycles 33: 391-404 (1992), beschriebenen Verfahren hergestellt.

BEISPIEL 8

Allgemeines Verfahren für die SATE-Produktgruppe

[0099] S-Acyl-2-thioethyl(SATE)-Pronucleotide werden bei C.R. Wagner, V.V. Iyer und E.J. McIntee, "Pronucleotides: Toward the In Vivo Delivery of Antiviral and Anticancer Nucleotides," Med. Res. Rev., 20: 1-35 (2000), erörtert, welches durch Bezugnahme hierin in seiner Gesamtheit aufgenommen ist. SATE-Derivate von Nucleosiden sind auch in den US-Patenten NR. 5 770 725, 5 849 905 und 6 020 482 offenbart, deren Inhalte jeweils durch Bezugnahme hierin in ihrer Gesamtheit aufgenommen sind.

Bis(S-acetyl-2-thioethyl)-N,N-diisopropylphosphoramidit

[0100] 2-Mercaptoethanol (5 g, 64 mmol) wurde in CH₂Cl₂ (50 ml) gelöst. Zu dieser Lösung wurde Triethylamin (7,67 ml, 57,6 mmol) zugegeben und die Reaktionsmischung in einem Eisbad auf 0°C abgekühlt. Essigsäureanhydrid (4,54 ml, 48 mmol) wurde tropfenweise innerhalb von 10 Minuten zugegeben und die Reaktionsmischung 1 Stunde bei 0°C gerührt. Die Reaktionsmischung ließ man anschließend innerhalb eines Zeitraums von 2 Stunden auf Raumtemperatur erwärmen. Die Reaktionsmischung wurde mit CH₂Cl₂ (50 ml) verdünnt, mit Wasser (75 ml), 5%igem wässrigem NaHCO₃ (75 ml) und Salzlösung (75 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingedunstet, um ein Öl zu ergeben. Das Öl wurde anschließend in wasserfreiem THF (40 ml) gelöst und mit wasserfreiem Triethylamin (7,76 ml) versetzt. Diese Mischung wurde mit aktivierten Molekularsieben (4Å) versetzt und 10 Minuten bei Raumtemperatur gehalten. Die Reaktionsmischung wurde in einem Eisbad auf 0°C abgekühlt und mit Diisopropylphosphoramididchlorid (6,47 g, 32,03 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 2 Stunden bei 0°C unter einer inerten Atmosphäre gerührt. Hexan (40 ml) wurde zu der Reaktionsmischung zugegeben und der gebildete Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat wurde auf ein Viertel seines Volumens eingedunstet, durch Kieselgelsäulenchromatographie gereinigt und mit Hexan, das 3% Triethylamin und eine inkrementelle Menge Ethylacetat (0 bis 7%) enthielt, eluiert, um die Titelverbindung als ein Öl zu ergeben (2,36 g).

¹H-NMR (CDCl₃): δ 1,17 (s, 6H), 1,21 (s, 6H), 2,36 (s, 6H), 3,14 (t, J = 6,44 Hz), 3,51-3,84 (m, 6H); ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 24,47, 24,61, 30,48, 42,85, 43,1, 61,88, 62,23, 195,26; ³¹P-NMR (CDCl₃): δ 146,96.

BEISPIEL 9

5'-Triphosphat-Derivate

[0101] Die Nucleosid-5'-triphosphate der vorliegenden Erfindung wurden durch Nacharbeiten der in Chem. Rev. 100:2047 (2000), beschriebenen allgemeinen Verfahren hergestellt.

BEISPIEL 10

Reinigung und Reinheitsanalyse von 5'-Triphosphat-Derivaten

[0102] Die Triphosphat-Derivate wurden durch Anionenaustausch(AX)-Chromatographie unter Verwendung einer 30 × 100-mm-Mono-Q-Säule (Pharmacia) mit einem Puffersystem aus 50 mM Tris, pH 8, gereinigt. Die Elutionsgradienten reichten typischerweise von 40 mM NaCl bis 0,8M NaCl in zwei Säulenvolumen bei 6,5 ml/Minute. Geeignete Fraktionen aus der Anionenaustauschchromatographie wurden gesammelt und durch Umkehrphasen(RP)-Chromatographie unter Verwendung einer Luna-C18-250 × 21-mm-Säule (Phenomenex) mit einer Fließgeschwindigkeit von 10 ml/Minute entsalzt. Die Elutionsgradienten reichten im Allgemeinen von 1% bis 95% Methanol in 14 Minuten bei einer konstanten Konzentration von 5 mM Triethylammoniumacetat (TEAA).

[0103] Die Massenspektren der gereinigten Triphosphate wurden mittels On-Line-HPLC-Massenspektrometrie auf einem MSD 1100 von Hewlett-Packard (Palo Alto, CA) aufgenommen. Für die RP-HPLC wurde eine Phenomenex-Luna(C18(2)), 150 × 2 mm, plus 30 × 2 mm Guard-Säule, 3 µm Teilchengröße, verwendet. Ein linearer Gradient (15 Minuten) von 0 bis 50% Acetonitril in 20 mM TEAA (Triethylammoniumacetat) pH 7 wurde parallel zur Massenspektrenaufnahme im negativen Ionisationsmodus durchgeführt. Stickstoffgas und ein pneumatischer Zerstäuber wurden zur Erzeugung des Elektrosprays verwendet. Der Massenbereich von 150-900 wurde untersucht. Molekulargewichte wurden mittels des HP-Chemstation-Analysepakets ermittelt.

[0104] Die Reinheit der gereinigten Triphosphate wurde durch analytische RP- und AX-HPLC ermittelt. Die RP-HPLC mit einer Phenomenex-Luna- oder -Jupiter-Säule (250 × 4,6 mm), 5 µm Teilchengröße, wurde typischerweise mit einem Gradienten von 2–70% Acetonitril in 100 mM TEAA, pH 7, innerhalb von 15 Minuten durchgeführt. Die AX-HPLC erfolgte an einer 1,6 × 5-mm-Mono-Q-Säule (Pharmacia). Triphosphate wurden mit einem Gradienten von 0 bis 0,4M NaCl bei einer konstanten Konzentration von 50 mM Tris, pH 8, eluiert. Die Reinheit der Triphosphate lag im Allgemeinen bei >80%.

BEISPIEL 11

5'-Monophosphat-Derivate

[0105] Die Nucleosid-5'-Monophosphate der vorliegenden Erfindung wurden durch Nacharbeiten der in Tetrahedron Lett. 50: 5065 (1967), beschriebenen allgemeinen Verfahren hergestellt.

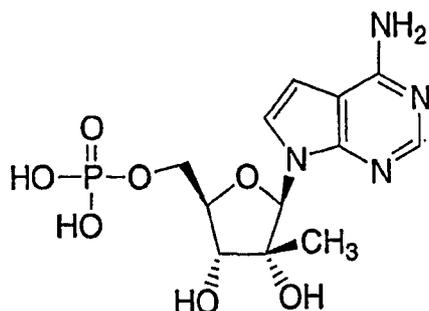
BEISPIEL 12

Massenspektrometrische Charakterisierung von 5'-Triphosphat-Derivaten

[0106] Die Massenspektren von 5'-Triphosphaten der Verbindungen der vorliegenden Erfindung wurden wie in Beispiel 10 beschrieben aufgenommen. In der folgenden Tabelle aufgeführt sind die berechneten und experimentellen Massen für repräsentative 5'-Triphosphate, die gemäß den Verfahren von Beispiel 9 hergestellt wurden. Die Beispielnummern entsprechen der Stammverbindung des 5'-Triphosphats.

Beispiel	Berechnet	Gefunden
1	520,0	519,9
2	520,0	520,0
3	534,0	534,0
4	536,0	536,0

BEISPIEL 13 [4-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-5'-monophosphat

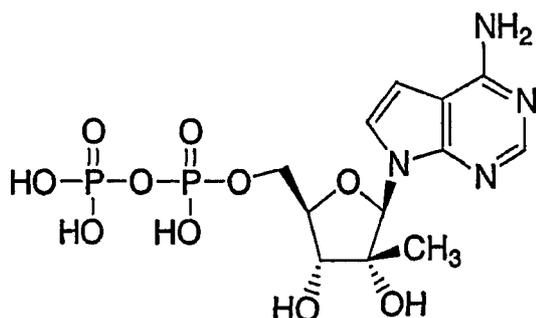


[0107] Zu der Verbindung aus Schritt F von Beispiel 2 (14 mg, 0,05 mmol) (getrocknet durch gemeinsames Eindampfen mit Pyridin und mehrere Male mit Toluol) wurde Trimethylphosphat (0,5 ml) zugegeben. Die Mischung wurde über Nacht in einem verschlossenen Behälter gerührt. Anschließend wurde sie auf 0°C abgekühlt und mittels einer Spritze mit Phosphoroxchlorid (0,0070 ml, 0,075 mmol) versetzt. Die Mischung wurde 3 Stunden bei 0°C gerührt, dann wurde die Reaktion durch Zugabe von Tetraethylammoniumhydrogencarbonat (TEAB) (1M) (0,5 ml) und Wasser (5 ml) gequencht. Die Reaktionsmischung wurde gereinigt und gemäß dem in Beispiel 10 beschriebenen Verfahren analysiert.

Elektronenspray-Massenspektrum (ES-MS): Gefunden: 359,2 (M-H⁺), berechn. für C₁₂H₁₇N₄O₇P-H⁺: 359,1.

BEISPIEL 14

[4-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin]-5'-diphosphat

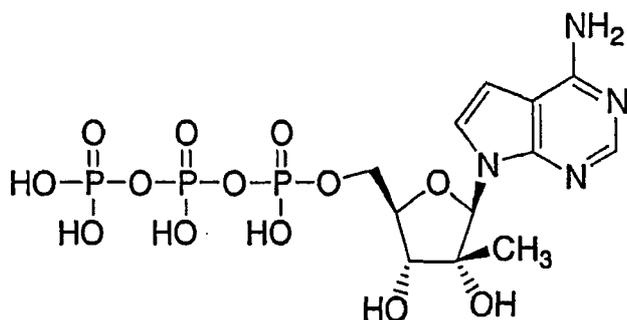


[0108] Zu der Verbindung aus Schritt F von Beispiel 2 (56 mg, 0,20 mmol) (getrocknet durch gemeinsames Eindampfen mit Pyridin und mehrere Male mit Toluol) wurde Trimethylphosphat (über Sieben aufbewahrt) (1,0 ml) zugegeben. Die Mischung wurde über Nacht in einem verschlossenen Gefäß gerührt. Anschließend wurde sie auf 0°C abgekühlt und mittels einer Spritze mit Phosphoroxchlorid (0,023 ml, 0,25 mmol) versetzt. Die Mischung wurde 2 Stunden bei 0°C gerührt, dann wurden Tributylamin (0,238 ml, 1,00 mmol) und Tributylammoniumphosphat (erzeugt aus Phosphorsäure und Tributylamin in Pyridin, gefolgt von wiederholtem azeotropem Eindampfen mit Pyridin und Acetonitril) (1,0 mmol in 3,30 ml Acetonitril) zugegeben. Die Mischung wurde weitere 30 Minuten bei 0°C gerührt, das verschlossene Röhrchen wurde anschließend geöffnet und die Reaktion durch Zugabe von TEAB (1M) (1,0 ml) und Wasser (5 ml) gequencht. Die Reaktionsmischung wurde gemäß dem in Beispiel 10 beschriebenen Verfahren gereinigt und analysiert.

ES-MS: Gefunden: 439,0 (M-H⁺), berechn. für C₁₂H₁₈N₄O₁₀P₂-H⁺: 439,04.

BEISPIEL 15

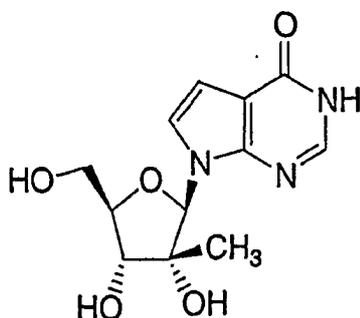
[4-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin]-5'-triphosphat



[0109] Zu der Verbindung aus Schritt F von Beispiel 2 (20 mg, 0,07 mmol) (getrocknet durch gemeinsames Verdampfen mit Pyridin und mehrere Male mit Toluol) wurde Trimethylphosphat (über Sieben aufbewahrt) (0,4 ml) zugegeben. Die Mischung wurde über Nacht in einem verschlossenen Gefäß gerührt. Anschließend wurde sie auf 0°C abgekühlt und mittels einer Spritze mit Phosphoroxychlorid (0,0070 ml, 0,075 mmol) versetzt. Die Mischung wurde 3 Stunden bei 0°C gerührt und anschließend mit Tributylamin (0,083 ml, 0,35 mmol), Tributylammoniumpyrophosphat (127 mg, 0,35 mmol) und Acetonitril (über Sieben aufbewahrt) (0,25 ml) versetzt. Die Mischung wurde weitere 30 Minuten bei 0°C gerührt, das verschlossene Röhrchen wurde anschließend geöffnet und die Reaktion durch Zugabe von TEAB (1M) (0,5 ml) und Wasser (5 ml) gequencht. Die Reaktionsmischung wurde gemäß dem in Beispiel 10 beschriebenen Verfahren gereinigt und analysiert. ES-MS: Gefunden: 519,0 (M-H⁺), berechn. für C₁₂H₁₉N₄O₁₃P₃H⁺: 519,01.

BEISPIEL 16

7-(2-C-Methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on

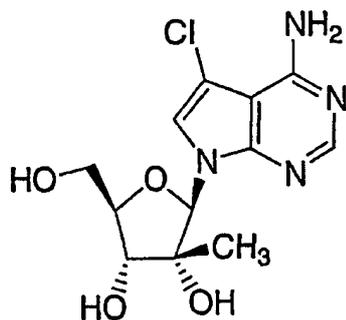


[0110] Zu der Verbindung aus Schritt E von Beispiel 2 (59 mg, 0,18 mmol) wurde wässriges Natriumhydroxid (1M) zugegeben. Die Mischung wurde 1 Stunde zum Rückfluss erhitzt, abgekühlt, mit wässriger HCl (2M) neutralisiert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde auf Kieselgel unter Verwendung von Dichlormethan/Methanol (4:1) als Elutionsmittel gereinigt. Die produkthaltigen Fraktionen wurden gesammelt und im Vakuum eingedampft, um das erwünschte Produkt (53 mg) als ein farbloses Öl zu ergeben.

¹H-NMR (CD₃CN): δ 0,70 (s, 3H), 3,34-4,15 (überlappendes m, 7H), 6,16 (s, 1H), 6,57 (d, 3,6 Hz, 1H), 7,37 (d, 3,6 Hz, 1H), 8,83 (s, 1H).

BEISPIEL 17

4-Amino-5-chlor-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin



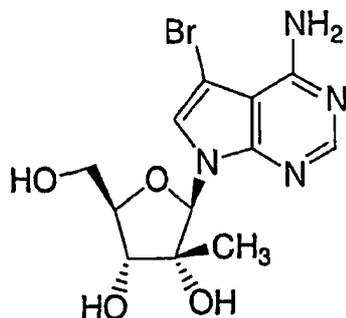
[0111] Zu einer vorgekühlten Lösung (0°C) der Verbindung aus Schritt F von Beispiel 2 (140 mg, 0,50 mmol) in DMF (2,5 ml) wurde N-Chlorsuccinimid (0,075 g, 0,55 mmol) in DMF (0,5 ml) tropfenweise zugegeben. Die Lösung wurde 1 Stunde bei RT gerührt und die Reaktion durch Zugabe von Methanol (4 ml) gequencht und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt wurde auf Kieselgel unter Verwendung von Methanol/Dichlormethan (1:9) als Elutionsmittel gereinigt. Die produkthaltigen Fraktionen wurden gesammelt und im Vakuum eingedampft, um das erwünschte Produkt (55 mg) als einen farblosen Feststoff zu ergeben.

¹H-NMR (CD₃CN): δ 0,80 (s, 3H), 3,65-4,14 (überlappendes m, 7H), 5,97 (s, br. 2H), 6,17 (s, 1H), 7,51 (s, 1H), 8,16 (s, 1H).

ES-MS: Gefunden: 315,0 (M+H⁺), berechn. für C₁₂H₁₅ClN₄O₄ + H⁺: 315,09.

Beispiel 18

4-Amino-5-brom-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin



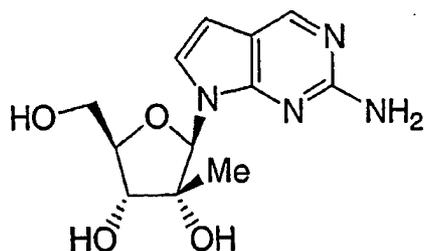
[0112] Zu einer vorgekühlten Lösung (0°C) der Verbindung aus Schritt F von Beispiel 2 (28 mg, 0,10 mmol) in DMF (0,5 ml) wurde N-Bromsuccinimid (0,018 g, 0,10 mmol) in DMF (0,5 ml) tropfenweise zugegeben. Die Lösung wurde 20 Minuten bei 0°C, dann 10 Minuten bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Methanol (4 ml) gequencht und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt wurde auf Kieselgel unter Verwendung von Methanol/Dichlormethan (1:9) als Elutionsmittel gereinigt. Die produkthaltigen Fraktionen wurden gesammelt und im Vakuum eingedampft, um das erwünschte Produkt (13,0 mg) als einen farblosen Feststoff zu ergeben.

¹H-NMR (CD₃CN): δ 0,69 (s, 3H), 3,46-4,00 (überlappendes m, 7H), 5,83 (s, br., 2H), 6,06 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 8,05 (s, 1H).

ES-MS: Gefunden: 359,1 (M+H⁺), berechn. für C₁₂H₁₅BrN₄O₄ + H⁺: 359,04.

BEISPIEL 19

2-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

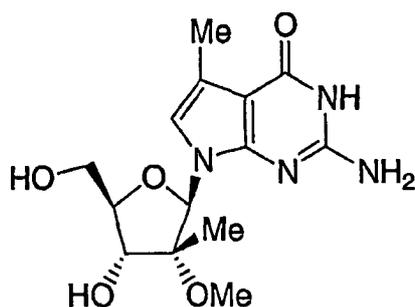


[0113] Eine Mischung von 2-Amino-4-chlor-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (Beispiel 4, Schritt B) (20 mg, 0,07 mmol) in EtOH (1,0 ml), Pyridin (0,1 ml) und 10% Pd/C (6 mg) unter H₂ (Atmosphärendruck) wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wurde durch ein Celitekissen filtriert, welches gründlich mit EtOH gewaschen wurde. Das vereinte Filtrat wurde eingedampft und auf einer Kieselgelsäule mit CH₂Cl₂/MeOH, 20/1 und 10/1 als Elutionsmittel gereinigt, um die Titelverbindung als einen weißen Feststoff zu ergeben (16 mg).

¹H-NMR (200 MHz, CD₃OD): δ 0,86 (s, 3H, 2'-C-Me), 3,82 (dd, J_{5,4'} = 3,6 Hz, J_{5,5''} = 12,7 Hz, 1H, H-5'), 3,94-4,03 (m, 2H, H-5', H-4'), 4,10 (d, J_{3,4'} = 8,8 Hz, 1H, H-3'), 6,02 (s, 1H, H-1'), 6,41 (d, J_{5,6} = 3,8 Hz, 1H, H-5), 7,39 (d, 1H, H-6), 8,43 (s, 1H, H-4). ES-MS: 281,4 (MH⁺).

BEISPIEL 20

2-Amino-5-methyl-7-(2-C,2-O-dimethyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on



Schritt A: 2-Amino-4-chlor-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl]-5-methyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0114] Zu einer eiskalten Lösung des Produkt aus Schritt C von Beispiel 2 (1,57 g, 3,16 mmol) in CH₂Cl₂ (50 ml) wurde HBr (5,7M in Essigsäure, 3,3 ml) tropfenweise zugegeben.

[0115] Die Reaktionsmischung wurde 1 Stunde bei 0°C und anschließend 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, im Vakuum eingeengt und zusammen mit Toluol (2 × 20 ml) eingedampft. Das resultierende Öl wurde in MeCN (20 ml) gelöst und tropfenweise zu einer Lösung des Natriumsalzes von 2-Amino-4-chlor-5-methyl-1H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin in Acetonitril [erzeugt in situ aus 2-Amino-4-chlor-5-methyl-1H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin [für die Herstellung siehe Liebigs Ann. Chem. 1984: 708-721] (1,13 g, 6,2 mmol) in wasserfreiem Acetonitril (150 ml) und NaH (60%ig in Mineralöl, 248 mg, 6,2 mmol) nach 2-stündigem kräftigem Rühren bei RT] gegeben. Die vereinte Mischung wurde 24 Stunden bei RT gerührt und anschließend zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde in Wasser (100 ml) suspendiert und mit EtOAc (300 + 150 ml) extrahiert. Die vereinten Extrakte wurden mit Salzlösung (100 ml) gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingedampft. Das Rohprodukt wurde auf einer Kieselgelsäule (5 × 7 cm) unter Verwendung von Ethylacetat/Hexan (0 bis 30% EtOAc in 5%-Gradientenschritten) als Elutionsmittel gereinigt. Die produktthaltigen Fraktionen wurden vereint und im Vakuum eingedampft, um das erwünschte Produkt (0,96 g) als einen farblosen Schaum zu ergeben.

Schritt B: 2-Amino-4-chlor-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C,2-O-dimethyl-β-D-ribofuranosyl]-5-methyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0116] Zu einer eiskalten Mischung aus dem Produkt von Schritt A (475 mg, 0,7 mmol) in THF (7 ml) wurde NaH (60%ig in Mineralöl, 29 mg) zugegeben und bei 0°C 0,5 Stunden gerührt. Anschließend wurde Mel (48 µl) zugegeben und die Reaktionsmischung 24 Stunden bei RT gerührt. Die Reaktion wurde mit MeOH gequenchet und die Mischung eingedampft. Das Rohprodukt wurde auf einer Kieselgelsäule (5 × 3,5 cm) unter Verwendung von Hexan/Ethylacetat (9/1, 7/1, 5/1 und 3/1) als Elutionsmittel gereinigt. Die produkthaltigen Fraktionen wurden vereint und eingedampft, um die erwünschte Verbindung (200 mg) als einen farblosen Schaum zu ergeben.

Schritt C: 2-Amino-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C,2-O-dimethyl-β-D-ribofuranosyl]-5-methyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on

[0117] Eine Mischung aus dem Produkt von Schritt B (200 mg, 0,3 mmol) in 1,4-Dioxan (15 ml) und wässriger NaOH (2N, 15 ml) in einer Druckflasche wurde über Nacht auf 135°C erhitzt. Anschließend wurde die Mischung auf 0°C abgekühlt, mit 2N wässriger HCl neutralisiert und zur Trockene eingedampft. Das Rohprodukt wurde in MeOH suspendiert, filtriert und der Feststoff gründlich mit MeOH gewaschen. Das vereinte Filtrat wurde eingeeengt und der Rückstand auf einer Kieselgelsäule (5 × 5 cm) gereinigt, wobei CH₂Cl₂/MeOH (40/1, 30/1 und 20/1) als Elutionsmittel verwendet wurde, um die erwünschte Verbindung (150 mg) als einen farblosen Schaum zu ergeben.

Schritt D: 2-Amino-5-methyl-7-(2-C,2-O-dimethyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on

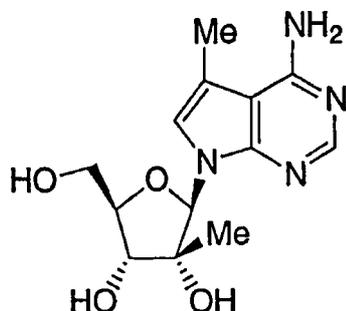
[0118] Eine Mischung aus dem Produkt von Schritt C (64 mg, 0,1 mmol) in MeOH (5 ml) und Et₃N (0,2 ml) und 10% Pd/C (24 mg) wurde 1,5 Tage an einer Parr-Hydrierapparatur bei 50 psi bei RT hydriert, dann durch ein Celitekissen filtriert, das gründlich mit MeOH gewaschen wurde. Das vereinte Filtrat wurde eingedampft und der Rückstand auf einer Kieselgelsäule (3 × 4 cm) mit CH₂Cl₂/MeOH (30/1, 20/1) als Elutionsmittel gereinigt, um 2-Amino-5-methyl-7-(5-O-benzyl-2-C,2-O-dimethyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on zu ergeben. Die Verbindung (37 mg) wurde weiter in EtOH (2 ml) mit 10% Pd/C und unter Wasserstoff bei Atmosphärendruck hydriert. Nach 2-tägigem Rühren bei RT wurde die Reaktionsmischung durch Celite filtriert, das Filtrat eingedampft und das Rohprodukt auf einer Kieselgelsäule (1 × 7 cm) mit CH₂Cl₂/MeOH (30/1, 20/1 und 10/1) als Elutionsmittel gereinigt, um nach dem Gefriertrocknen die Titelverbindung (12 mg) zu ergeben.

¹H-NMR (200 MHz, CD₃OD): δ 0,81 (s, 3H, 2'-C-Me), 2,16 (d, J_{H-6,C5-Me} = 1,3 Hz, 3H, C5-Me), 3,41 (s, 3H, 2'-OMe), 3,67 (dd, J_{5',4'} = 3,4 Hz, J_{5',5''} = 12,6 Hz, 1H, H-5'), 3,81-3,91 (m, 3H, H-5'', H-4', H-3'), 6,10 (s, 1H, H-1'), 6,66 (d, 1H, H-6).

ES MS: 323,3 (M-H)⁺.

BEISPIEL 21

4-Amino-5-methyl-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin



Schritt A: 4-Chlor-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl]-5-methyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0119] Zu einer eiskalten Lösung des Produkts aus Schritt C von Beispiel 2 (1,06 g, 2,1 mmol) in CH₂Cl₂ (30 ml) wurde HBr (5,7M in Essigsäure, 2,2 ml) tropfenweise zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1 Stunde bei 0°C und anschließend 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, im Vakuum eingeeengt und zusammen mit Toluol (2 × 15 ml) eingedampft. Das resultierende Öl wurde in MeCN (10 ml) gelöst und tropfenweise in einer

Lösung des Natriumsalzes von 4-Chlor-5-methyl-1H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin in Acetonitril [erzeugt in situ aus 4-Chlor-5-methyl-1H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin [für die Herstellung siehe J. Med. Chem. 33:1984 (1990)] (0,62 g, 3,7 mmol) in wasserfreiem Acetonitril (70 ml) und NaH (60%ig in Mineralöl, 148 mg, 3,7 mmol) nach 2-stündigem kräftigem Rühren bei RT] gegeben. Die vereinte Mischung wurde 24 Stunden bei RT gerührt und anschließend zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde in Wasser (100 ml) suspendiert und mit EtOAc (250 + 100 ml) extrahiert. Die vereinten Extrakte wurden mit Salzlösung (50 ml) gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingedampft. Das Rohprodukt wurde auf einer Kieselgelsäule (5 × 5 cm) unter Verwendung eines Hexan/Ethylacetat-(9/1, 5/1, 3/1)-Gradienten als Elutionsmittel gereinigt. Die produkthaltigen Fraktionen wurden vereint und im Vakuum eingedampft, um das erwünschte Produkt (0,87 g) als einen farblosen Schaum zu ergeben.

Schritt B: 4-Chlor-5-methyl-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]-pyrimidin

[0120] Zu einer Lösung der Verbindung von Schritt A (0,87 g, 0,9 mmol) in Dichlormethan (30 ml) bei -78°C wurde Bortrichlorid (1M in Dichlormethan, 9,0 ml, 9,0 mmol) tropfenweise zugegeben. Die Mischung wurde 2,5 Stunden bei -78°C gerührt, dann 3 Stunden bei -30°C bis -20°C. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Methanol/Dichlormethan (1:1) (9 ml) gequench und die resultierende Mischung bei -15°C 30 Minuten gerührt, anschließend mit wässrigem Ammoniak bei 0°C neutralisiert und bei RT 15 Minuten gerührt. Der Feststoff wurde filtriert und mit CH₂Cl₂/MeOH (1/1, 50 ml) gewaschen. Das vereinte Filtrat wurde eingedampft und der Rückstand auf einer Kieselgelsäule (5 × 5 cm) unter Verwendung von CH₂Cl₂ und eines CH₂Cl₂/MeOH-(40/1 und 30/1)-Gradienten als Elutionsmittel gereinigt, um die erwünschte Verbindung (0,22 g) als einen farblosen Schaum zu ergeben.

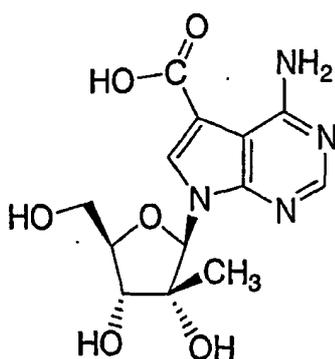
Schritt C: 4-Amino-5-methyl-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]-pyrimidin

[0121] Zu der Verbindung von Schritt B (0,2 g, 0,64 mmol) wurde methanolischer Ammoniak (gesättigt bei 0°C, 40 ml) zugegeben. Die Mischung wurde in einem Edelstahl-Autoklaven 14 Stunden auf 100°C erhitzt, dann abgekühlt und im Vakuum eingedampft. Die rohe Mischung wurde auf einer Kieselgelsäule (5 × 5 cm) mit einem CH₂Cl₂/MeOH-(50/1, 30/1, 20/1)-Gradienten als Elutionsmittel gereinigt, um die Titelverbindung als einen weißen Feststoff zu ergeben (0,12 g).

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 0,60 (s, 3H, 2'-C-Me), 2,26 (s, 3H, 5C-Me), 3,52-3,61 (m, 1H, H-5'), 3,70-3,88 (m, 3H, H-5'', H-4', H-3'), 5,00 (s, 1H, 2'-OH), 4,91-4,99 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 6,04 (s, 1H, H-1'), 6,48 (br. s, 2H, NH₂), 7,12 (s, 1H, H-6), 7,94 (s, 1H, H-2). ES-MS: 295,2 (MH⁺).

BEISPIEL 22

4-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-5-carbonsäure

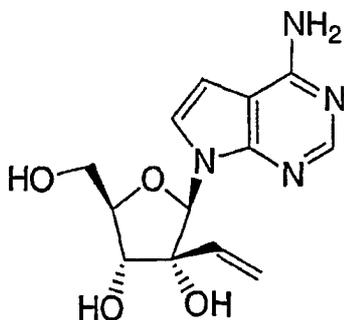


[0122] Die Verbindung von Beispiel 6 (0,035 g, 0,11 mmol) wurde in einer Mischung aus wässrigem Ammoniak (4 ml, 30 Gew.-%) und gesättigtem methanolischem Ammoniak (2 ml) gelöst und mit einer Lösung von H₂O₂ in Wasser (2 ml, 35 Gew.-%) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene Rückstand durch HPLC an einer Umkehrphasensäule (Altech Altima C-18, 10 × 299 mm, A = Wasser, B = Acetonitril, 10 bis 60% B in 50 Minuten, Fluss 2 ml/Minute) gereinigt, um die Titelverbindung (0,015 g, 41%) als einen weißen Feststoff zu ergeben.

¹H-NMR (CD₃OD): δ 0,85 (s, 3H, Me), 3,61 (m, 1H), 3,82 (m, 1H), 3,99-4,86 (m, 2H), 6,26 (s, 1H), 8,10 (s, 2H), 8,22 (s, 1H); ¹³C-NMR (CD₃OD): 20,13, 61,37, 73,79, 80,42, 84,01, 93,00, 102,66, 112,07, 130,07, 151,40, 152,74, 159,12, 169,30.

HRMS (FAB) Berechn. für $C_{13}H_{17}N_4O_6^+$ 325,1148, gefunden 325,1143.

BEISPIEL 23

4-Amino-7-(2-C-vinyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidinSchritt A: 3,5-Bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C-vinyl-1-O-methyl- α -D-ribofuranose

[0123] Cerchlorid-Heptahydrat (50 g, 134,2 mmol) wurde in einem vorgeheizten Mörser fein zerstoßen und in einen Rundkolben überführt, der mit einem mechanischen Rührer ausgestattet war. Der Kolben wurde über Nacht unter Hochvakuum auf 160°C erhitzt. Das Vakuum wurde unter Argon entfernt und der Kolben auf Raumtemperatur abgekühlt. Wasserfreies THF (300 ml) wurde mittels einer Kanüle in den Kolben gegeben. Die resultierende Suspension wurde 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, dann auf -78°C abgekühlt. Vinylmagnesiumbromid (1M in THF, 120 ml, 120 mmol) wurde zugegeben und das Rühren 2 Stunden bei -78°C fortgesetzt. Zu dieser Suspension wurde eine Lösung von 3,5-Bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-1-O-methyl- α -D-erythropentofuranose-2-ulose (14 g, 30 mmol) [von Beispiel 2, Schritt B] in wasserfreiem THF (100 ml) tropfenweise unter konstantem Rühren zugegeben. Die Reaktion wurde 4 Stunden bei -78°C gerührt. Die Reaktion wurde mit gesättigter Ammoniumchloridlösung gequenchet, und man ließ sie auf Raumtemperatur erwärmen. Die Mischung wurde durch ein Celitekissen filtriert und der Rückstand mit Et₂O (2 × 500 ml) gewaschen. Die organische Schicht wurde abgetrennt und die wässrige Schicht mit Et₂O (2 × 200 ml) extrahiert. Die vereinten organischen Schichten wurden über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet und zu einem viskosen gelben Öl eingeeengt. Das Öl wurde durch Flashchromatographie (SiO₂, 10% EtOAc in Hexanen) gereinigt. Die Titelverbindung (6,7 g, 13,2 mmol) wurde als ein hellgelbes Öl erhalten.

Schritt B: 4-Chlor-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C-vinyl- β -D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0124] Zu einer Lösung der Verbindung von Schritt A (6,4 g, 12,6 mmol) in wasserfreiem Dichlormethan (150 ml) bei -20°C wurde HBr (30%ige Lösung in AcOH, 20 ml, 75,6 mmol) tropfenweise zugegeben. Die resultierende Lösung wurde 4 Stunden zwischen -10°C und 0°C gerührt, im Vakuum eingedampft und zusammen mit wasserfreiem Toluol (3 × 40 ml) eingedampft. Der ölige Rückstand wurde in wasserfreiem Acetonitril (100 ml) gelöst und zu einer Lösung des Natriumsalzes von 4-Chlor-1H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (5,8 g, 37,8 mmol) in Acetonitril (erzeugt in situ wie in Beispiel 2 beschrieben) bei -20°C zugegeben. Man ließ die resultierende Mischung auf Raumtemperatur erwärmen und 24 Stunden bei Raumtemperatur rühren. Anschließend wurde die Mischung zur Trockene eingedampft, in Wasser aufgenommen und mit EtOAc (2 × 300 ml) extrahiert. Die vereinten Extrakte wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingedampft. Die rohe Mischung wurde durch Flashchromatographie (SiO₂, 10% EtOAc in Hexane) gereinigt und die Titelverbindung (1,75 g) als weißer Schaum isoliert.

Schritt C: 4-Amino-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C-vinyl- β -D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0125] Die Verbindung von Schritt B (80 mg) wurde in der minimalen Menge 1,4-Dioxan gelöst und in eine Edelstahlbombe gegeben. Die Bombe wurde auf -78°C abgekühlt und mit flüssigem Ammoniak versetzt. Die Bombe wurde verschlossen und 24 Stunden auf 90°C erwärmt. Man ließ das Ammoniak verdampfen und engte den Rückstand zu einem weißen Feststoff ein, der im nächsten Schritt ohne weitere Reinigung verwendet wurde.

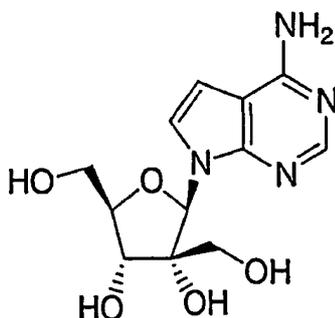
Schritt D: 4-Amino-7-(2-C-vinyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0126] Zu einer Lösung der Verbindung von Schritt C (60 mg) in Dichlormethan bei -78°C wurde tropfenweise Bortrichlorid (1M in Dichlormethan) zugegeben. Die Mischung wurde 2,5 Stunden bei -78°C, dann 3 Stunden bei -30°C bis -20°C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Methanol/Dichlormethan (1:1) gequench und die resultierende Mischung 0,5 Stunden bei -15°C gerührt, dann mit wässrigem Ammoniak bei 0°C neutralisiert und 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Der Feststoff wurde abfiltriert und mit Methanol/Dichlormethan (1:1) gewaschen. Das vereinte Filtrat wurde eingedampft und der Rückstand durch Flashchromatographie (SiO₂, 10% Methanol in EtOAc, das 0,1% Triethylamin enthielt) gereinigt. Die produktthaltigen Fraktionen wurden eingedampft, um die Titelverbindung als einen weißen Feststoff zu ergeben (10 mg).

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 3,6 (m, 1H, H-5'), 3,8 (m, 1H, H-5''), 3,9 (m d, 1-H, H-4'), 4,3 (t, 1H, H-3'), 4,8-5,3 (m, 6H, CH=CH₂, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 6,12 (s, 1H, H-1'), 6,59 (d, 1H, H-5), 7,1 (br. s, 1H, NH₂), 7,43 (d, 1H, H-6), 8,01 (s, 1H, H-2). ES-MS: Gefunden: 291,1 (M-H⁺); berechn. für C₁₃H₁₆N₄O₄ - H⁺: 291,2.

BEISPIEL 24

4-Amino-7-(2-C-hydroxymethyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin



Schritt A: 4-Chlor-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C-hydroxymethyl-β-D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0127] Zu einer Lösung der Verbindung von Beispiel 23, Schritt B, (300 mg, 0,48 mmol) in 1,4-Dioxan (5 ml) wurden N-Methylmorpholin-N-oxid (300 mg, 2,56 mmol) und Osmiumtetroxid (4%ige Lösung in Wasser, 0,3 ml) zugegeben. Die Mischung wurde 14 Stunden im Dunkeln gerührt. Der Niederschlag wurde durch Filtration durch einen Celitepfropfen entfernt, man verdünnte mit Wasser (3 ×) und extrahierte mit EtOAc. Die EtOAc-Schicht wurde über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Der ölige Rückstand wurde in Dichlormethan (5 ml) aufgenommen und über NaIO₄ auf Kieselgel (3 g, 10% NaIO₄) 12 Stunden gerührt. Das Kieselgel wurde durch Filtration entfernt und der Rückstand eingedampft und in absolutem Ethanol (5 ml) aufgenommen. Die Lösung wurde in einem Eisbad abkühlt und in kleinen Portionen mit Natriumborhydrid (300 mg, 8 mmol) versetzt. Die resultierende Mischung wurde 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit EtOAc verdünnt. Die organische Schicht wurde mit Wasser (2 × 20 ml), Salzlösung (20 ml) gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abgedampft und der Rückstand durch Flashchromatographie (SiO₂, 2,1 Hexane/EtOAc) gereinigt, um die Titelverbindung (160 mg, 0,25 mmol) als weiße Flocken zu ergeben.

Schritt B: 4-Amino-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C-hydroxymethyl-β-D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0128] Die Verbindung von Schritt A (150 mg, 0,23 mmol) wurde in der minimalen Menge 1,4-Dioxan (10 ml) gelöst und in eine Edelstahlbombe gegeben. Die Bombe wurde auf -78°C abgekühlt und mit flüssigem Ammoniak versetzt. Die Bombe wurde verschlossen und 24 Stunden auf 90°C erwärmt. Man ließ den Ammoniak abdampfen und engte den Rückstand zu einem weißen Feststoff ein, der ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt verwendet wurde.

Schritt C: 4-Amino-7-(2-C-hydroxymethyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]-pyrimidin

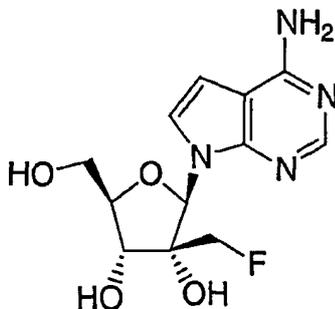
[0129] Die Verbindung von Schritt B (120 mg, 0,2 mmol) wurde in 1:1 Methanol/Dichlormethan, 10% Pd-C versetzt und die Suspension unter einer H₂-Atmosphäre 12 Stunden gerührt. Der Katalysator wurde durch Filtration durch ein Celitekissen filtriert und mit reichlichen Mengen Methanol gewaschen. Das vereinte Filtrat wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand durch Flashchromatographie (SiO₂, 10% Methanol in

EtOAc, das 0,1% Triethylamin enthält) gereinigt, um die Titelverbindung (50 mg) als ein weißes Pulver zu ergeben.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 3,12 (d, 1H, CH_2'), 3,33 (d, 1H, CH_2''), 3,82 (m, 1H, H-5'), 3,99-4,1 (m, 2H, H-4', H-5''), 4,3 (d, 1H, H-3'), 6,2 (s, 1H, H-1'), 6,58 (d, 1H, H-5), 7,45 (d, 1H, H-6), 8,05 (s, 1H, H-2).

LC-MS: Gefunden: 297,2 ($\text{M}+\text{H}^+$), berechn. für $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_5 + \text{H}^+$: 297,3.

BEISPIEL 25

4-Amino-7-(2-C-fluormethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidinSchritt A: 4-Chlor-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C-fluormethyl- β -D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0130] Zu einer Lösung der Verbindung von Beispiel 24, Schritt A, (63 mg, 0,1 mmol) in wasserfreiem Dichlormethan (5 ml) unter Argon wurden 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) (2 mg, 0,015 mmol) und Triethylamin (62 μl , 0,45 mmol) zugegeben. Die Lösung wurde in einem Eisbad abgekühlt und mit p-Toluolsulfonylchlorid (30 mg, 0,15 mmol) versetzt. Die Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit NaHCO_3 (2×10 ml), Wasser (10 ml), Salzlösung (10 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum zu einem rosa-roten Feststoff eingeeengt. Der Feststoff wurde in wasserfreiem THF (5 ml) gelöst und in einem Eisbad abgekühlt. Tetrabutylammoniumfluorid (1M Lösung in THF, 1 ml, 1 mmol) wurde zugegeben und die Mischung 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und mit NaHCO_3 (2×10 ml), Wasser (10 ml) und Salzlösung (10 ml) gewaschen. Die Dichlormethanschicht wurde über wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet, im Vakuum eingeeengt und durch Flashchromatographie (SiO_2 , 2:1 Hexane/EtOAc) gereinigt, um die Titelverbindung (20 mg) als weißen Feststoff zu ergeben.

Schritt B: 4-Amino-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C-fluormethyl- β -D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0131] Die Verbindung von Schritt A (18 mg, 0,03 mmol) wurde in der minimalen Menge 1,4-Dioxan gelöst und in eine Edelstahlbombe gegeben. Die Bombe wurde auf -78°C abgekühlt und mit flüssigem Ammoniak versetzt. Die Bombe wurde verschlossen und 24 Stunden auf 90°C erwärmt. Man ließ den Ammoniak abdampfen und engte den Rückstand zu einem weißen Feststoff ein, der ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt verwendet wurde.

Schritt C: 4-Amino-7-(2-C-fluormethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0132] Die Verbindung von Schritt B (16 mg) wurde in 1:1 Methanol/Dichlormethan gelöst, mit 10% Pd-C versetzt und die Suspension 12 Stunden unter einer H_2 -Atmosphäre gerührt. Der Katalysator wurde durch Filtration durch ein Celitekissen entfernt und mit reichlichen Mengen Methanol gewaschen. Das vereinte Filtrat wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand durch Flashchromatographie (SiO_2 , 10% Methanol in EtOAc, das 0,1% Triethylamin enthält) gereinigt, um die Titelverbindung (8 mg) als ein weißes Pulver zu ergeben.

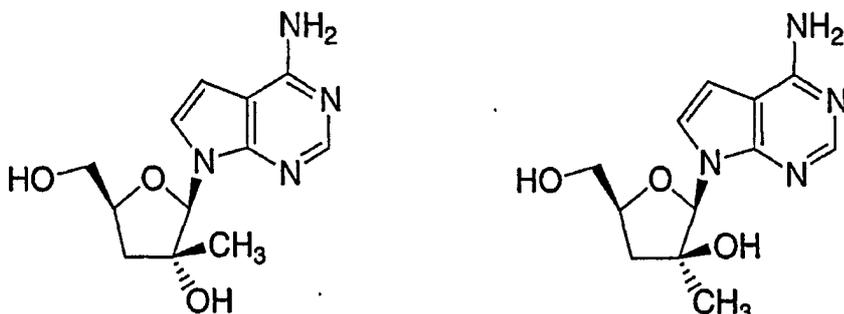
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6): δ 3,6-3,7 (m, 1H, H-5'), 3,8-4,3 (m, 5H, H-5'', H-4', H-3', CH_2), 5,12 (t, 1H, 5'-OH), 5,35 (d, 1H, 3'-OH), 5,48 (s, 1H, 2'-OH), 6,21 (s, 1H, H-1'), 6,52 (d, 1H, H-5), 6,98 (br. s, 2H, NH_2), 7,44 (d, 1H, H-6), 8,02 (s, 1H, H-2).

$^{19}\text{F-NMR}$ (DMSO-d_6): δ -230,2 (t).

ES-MR: Gefunden: 299,1 ($\text{M}+\text{H}^+$), berechn. für $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{FN}_4\text{O}_4 + \text{H}^+$: 299,27.

BEISPIELE 26 UND 27

4-Amino-7-(3-desoxy-2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin und 4-Amino-7-(3-desoxy-2-C-methyl-β-D-arabinofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin



Schritt A: 7-[2,5-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl)-β-D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]-pyrimidin und 7-[3,5-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl)-β-D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0133] Zu einer gerührten Lösung von Tubercidin (5,0 g, 18,7 mmol) in einer Mischung aus Pyridin (7,5 ml) und DMF (18,5 ml) wurde Silbernitrat (6,36 g, 38,8 mmol) zugegeben. Diese Mischung wurde bei Raumtemperatur 2 Stunden gerührt. Sie wurde in einem Eisbad abgekühlt und mit THF (37,4 ml) und tert.-Butyldimethylsilylchlorid (5,6 g, 37 mmol) versetzt und die Mischung bei Raumtemperatur 2 Stunden gerührt. Anschließend wurde die Mischung durch ein Celitekissen filtriert und mit THF gewaschen. Das Filtrat und die Waschlösungen wurden mit Ether, das eine kleine Menge Chloroform enthielt, verdünnt. Die organische Schicht wurde der Reihe nach mit Natriumhydrogencarbonat und Wasser (3 × 50 ml) gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und eingeeengt. Das Pyridin wurde durch gemeinsames Eindampfen mit Toluol entfernt und der Rückstand durch Flashchromatographie auf Kieselgel unter Verwendung von 5-7% MeOH in CH₂Cl₂ als Elutionsmittel gereinigt; Ausbeute 3,0 g.

Schritt B:

7-[2,5-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl)-β-D-ribofuranosyl]-4-[di-(4-methoxyphenyl)phenylmethylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin und 7-[3,5-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl)-β-D-ribofuranosyl]-4-[di-(4-methoxyphenyl)phenylmethyl]amino-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0134] Zu einer Lösung der Mischung aus den Verbindungen von Schritt A (3,0 g, 6,0 mmol) in wasserfreiem Pyridin (30 ml) wurde 4,4'-Dimethoxytritylchlorid (2,8 g, 8,2 mmol) zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wurde anschließend mit wässrigem Pyridin verrieben und mit Ether extrahiert. Die organische Schicht wurde mit Wasser gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und zu einem gelben Schaum (5,6 g) eingeeengt. Der Rückstand wurde durch Flashchromatographie über Kieselgel unter Verwendung von 20-25% EtOAc in Hexanen als Elutionsmittel gereinigt. Die passenden Fraktionen wurden gesammelt und eingeeengt, um mit 2',5'-Bis-O-(tert.-Butyldimethylsilyl)- und 3',5'-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl) geschützte Nucleoside als farblose Schäume (2,2 g bzw. 1,0 g) zu ergeben.

Schritt C:

7-[2,5-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl)-3-O-tosyl-β-D-ribofuranosyl]-4-[di-(4-methoxyphenyl)phenylmethyl]amino-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0135] Zu einer eiskalten Lösung von mit 2',5'-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl) geschütztem Nucleosid aus Schritt B (2,0 g, 2,5 mmol) in Pyridin (22 ml) wurde p-Toluolsulfonylchlorid (1,9 g, 9,8 mmol) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei Raumtemperatur vier Tage gerührt. Anschließend wurde sie mit wässrigem Pyridin (50%ig, 10 ml) verrieben und mit Ether (3 × 50 ml), das eine kleine Menge CH₂Cl₂ (10 ml) enthielt, extrahiert. Die organische Schicht wurde mit Natriumhydrogencarbonat und Wasser (3 × 30 ml) gewaschen. Die organische Schicht wurde über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt. Pyridin wurde durch gemeinsames Eindampfen mit Toluol (3 × 25 ml) entfernt. Das verbliebene Öl wurde durch ein Kieselgelkissen filtriert, wobei Hexan:Ethylacetat (70:30) als Elutionsmittel verwendet wurde; Ausbeute 1,4 g.

Schritt D: 4-[Di-(4-methoxyphenyl)phenylmethyl]amino-7-[3-O-tosyl- β -D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0136] Eine Lösung der Verbindung von Schritt C (1,0 g, 1,1 mmol) und THF (10 ml) wurde mit Tetrabutylammoniumfluorid (1M Lösung in THF, 2,5 ml) 0,5 Stunden gerührt. Die Mischung wurde abgekühlt und mit Ether (50 ml) verdünnt. Die Lösung wurde mit Wasser (3 \times 50 ml) gewaschen, über wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet und zu einem Öl eingengt. Der Rückstand wurde gereinigt, indem er unter Verwendung von Hexan: Ethylacetat (1:1) als Elutionsmittel durch ein Kieselgelkissen geleitet wurde; Ausbeute 780 mg.

Schritt E: 4-Amino-7-(3-desoxy-2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]-pyrimidin und 4-Amino-7-(3-desoxy-2-C-methyl- β -D-arabinofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0137] Eine Lösung von CH_3MgI (3,0M Lösung in Ether, 3,0 ml) in wasserfreiem Toluol (3,75 ml) wurde in einem Eisbad abgekühlt. Dazu wurde eine Lösung der Verbindung von Schritt D (500 mg, 0,8 mmol) in wasserfreiem Toluol (3,7 ml) gegeben. Die resultierende Mischung wurde bei Raumtemperatur 3,5 Stunden gerührt. Sie wurde abgekühlt und mit wässriger NH_4Cl -Lösung behandelt und mit Ether (50 ml, die 10 ml CH_2Cl_2 enthielten) extrahiert. Die organische Schicht wurde abgetrennt und mit Salzlösung (2 \times 30 ml) und Wasser (2 \times 25 ml) gewaschen, über wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet und zu einem Öl eingengt, welches durch Flashchromatographie auf Kieselgel unter Verwendung von 4% MeOH in CH_2Cl_2 gereinigt wurde, um die 2-C- α -Methylverbindung (149 mg) und die 2-C- β -Methylverbindung (34 mg) zu ergeben. Diese Derivate wurden getrennt mit 80%iger Essigsäure behandelt und die Reaktionsmischung bei Raumtemperatur 2,5 Stunden gerührt. Die Essigsäure wurde durch wiederholtes gemeinsames Verdampfen mit Ethanol und Toluol entfernt. Der Rückstand wurde zwischen Chloroform und Wasser aufgetrennt. Die wässrige Schicht wurde mit Chloroform gewaschen und eingengt. Der eingedampfte Rückstand wurde auf Kieselgel unter Verwendung von 5-10% MeOH in CH_2Cl_2 als Elutionsmittel gereinigt, um die erwünschten Verbindungen als weiße Feststoffe zu ergeben.

4-Amino-7-(3-desoxy-2-C-methyl- β -ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (9,0 mg):

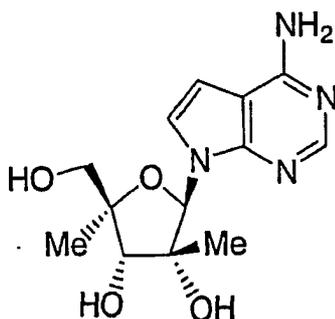
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6): δ 0,74 (s, 3H, CH_3), 1,77 (dd, 1H, H-3'), 2,08 (t, 1H, H-3''), 3,59 (m, 1H, H-5'), 3,73 (m, 1H, H-5''), 4,15 (m, 1H, H-4'), 5,02 (t, 1H, OH-5'), 5,33 (s, 1H, OH-2'), 6,00 (s, 1H, H-1'), 6,54 (d, 1H, H-7), 6,95 (br. s, 2H, NH_2), 7,47 (d, 1H, H-8), 8,00 (s, 1H, H-2); ES-MS: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

4-Amino-7-(3-desoxy-2-C-methyl- β -D-arabinofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (15 mg):

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

BEISPIEL 28

4-Amino-7-(2,4-C-dimethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin



Schritt A: 5-Desoxy-1,2-O-isopropyliden-D-xylofuranose

[0138] 1,2-O-Isopropyliden-D-xylofuranose (38,4 g, 0,2 mol), 4-Dimethylaminopyridin (5 g), Triethylamin (55,7 ml, 0,4 mol) wurden in Dichlormethan (300 ml) gelöst. p-Toluolsulfonylchlorid (38,13 g, 0,2 mol) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde anschließend in gesättigtes wässriges Natriumhydrogencarbonat (500 ml) gegossen und die zwei Schichten getrennt. Die organische Schicht wurde mit wässriger Citronensäurelösung (20%ig, 200 ml) gewaschen, getrocknet (Na_2SO_4) und eingedampft, um einen Feststoff zu ergeben (70,0 g). Der Feststoff wurde in trockenem THF (300 ml) gelöst und portionsweise innerhalb von 30 Minuten mit LiAlH_4 (16,0 g, 0,42 mol) versetzt. Die Mischung wurde 15 bei Raumtemperatur gerührt. Ethylacetat (100 ml) wurde tropfenweise innerhalb von 30 Minuten zugegeben und die Mischung durch ein Kieselgelbett filtriert. Das Filtrat wurde eingengt und das resultierende Öl auf Kieselgel (EtOAc/Hexan 1/4) chromatographiert, um das Produkt als einen Feststoff zu

ergeben (32,5 g).

Schritt B: 3,5-Bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-1-O-methyl-4-methyl- α -D-ribofuranose

[0139] Chromoxid (50 g, 0,5 mol), Essigsäure (50 ml, 0,53 mol) und Pyridin (100 ml, 1,24 mol) wurden zu Dichlormethan (1 l) in einem Eis-Wasser-Bad zugegeben und die Mischung 15 Minuten gerührt. 5-Desoxy-1,2-O-isopropyliden-D-xylofuranose (32 g, 0,18 mol) in Dichlormethan (200 ml) wurde zugegeben und die Mischung bei derselben Temperatur 30 Minuten gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit Ethylacetat (1 l) verdünnt und durch ein Kieselgelbett filtriert. Das Filtrat wurde eingeeengt, um ein gelbes Öl zu ergeben. Das Öl wurde in 1,4-Dioxan (1 l) und Formaldehyd (37%ig, 200 ml) gelöst. Die Lösung wurde auf 0°C abgekühlt und mit festem KOH (50 g) versetzt. Die Mischung wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt und dann mit Ethylacetat (6 × 200 ml) extrahiert. Nach dem Einengen wurde der Rückstand auf Kieselgel (EtOAc) chromatographiert (EtOAc), um das Produkt als ein Öl zu ergeben (1,5 g). Das Öl wurde in 1-Methyl-2-pyrrolidinon (20 ml) gelöst und mit 2,4-Dichlorphenylmethylchlorid (4 g, 20,5 mmol) und NaH (60%ig, 0,8 g) versetzt. Die Mischung wurde über Nacht gerührt und mit Toluol (100 ml) verdünnt. Die Mischung wurde anschließend mit gesättigtem wässrigem Natriumhydrogencarbonat (3 × 50 ml) gewaschen, getrocknet (Na₂SO₄) und eingedampft. Der Rückstand wurde in Methanol (50 ml) gelöst und mit HCl in Dioxan (4M, 2 ml) versetzt. Die Lösung wurde über Nacht gerührt und eingedampft. Der Rückstand wurde auf Kieselgel (EtOAc/Hexan: 1/4) chromatographiert, um das erwünschte Produkt als ein Öl zu ergeben (2,01 g).

Schritt C: 3,5-Bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2,4-di-C-methyl-1-O-methyl- α -D-ribofuranose

[0140] Das Produkt (2,0 g, 4,0 mmol) aus Schritt B und Dess-Martin-Periodinan (2,0 g) in Dichlormethan (30 ml) wurden über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde mit Ether (50 ml) verrieben und filtriert. Das Filtrat wurde mit einer Lösung von Na₂S₂O₃·5H₂O (2,5 g) in gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (50 ml) gewaschen, getrocknet (MgSO₄), filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde in wasserfreiem Et₂O (20 ml) gelöst und tropfenweise zu einer Lösung von MeMgBr in Et₂O (3M, 10 ml) bei -78°C zugegeben. Man ließ die Reaktionsmischung auf -30°C erwärmen und bei -30°C bis -15°C 5 Stunden rühren, anschließend wurde sie in gesättigtes wässriges Ammoniumchlorid (50 ml) gegossen. Die zwei Schichten wurden getrennt und die organische Schicht getrocknet (MgSO₄), filtriert und eingeeengt. Der Rückstand wurde auf Kieselgel chromatographiert (EtOAc/Hexan: 1/9), um die Titelverbindung als einen Sirup zu ergeben (1,40 g).

Schritt D: 4-Chlor-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2,4-di-C-methyl- β -D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0141] Zu der Verbindung von Schritt C (0,70 g, 1,3 mmol) wurde HBr (5,7M in Essigsäure, 2 ml) zugegeben. Die resultierende Lösung wurde bei Raumtemperatur 1 Stunde gerührt, im Vakuum eingedampft und zusammen mit wasserfreiem Toluol (3 × 10 ml) eingedampft. 4-Chlor-1H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (0,5 g, 3,3 mmol) und pulverförmiges KOH (85%, 150 mg, 2,3 mmol) wurden in 1-Methyl-2-pyrrolidinon (5 ml) 30 Minuten gerührt und die Mischung zusammen mit Toluol (10 ml) eingedampft. Die resultierende Lösung wurde in den obigen Bromzuckerrest gegossen und die Mischung über Nacht gerührt. Die Mischung wurde mit Toluol (50 ml) verdünnt, mit Wasser (3 × 50 ml) gewaschen und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde auf Kieselgel mit EtOAc/Hexan (15/85) als Elutionsmittel gereinigt, um einen Feststoff (270 mg) zu ergeben.

Schritt E: 4-Amino-7-(2,4-C-dimethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0142] Die Verbindung von Schritt D (270 mg) wurde in Dioxan (2 ml) und flüssigem Ammoniak (20 g) gelöst und in einen Edelstahl-Autoklaven gegeben. Die Mischung wurde 15 auf 100°C erhitzt, dann abgekühlt und eingedampft. Der Rückstand wurde auf Kieselgel (EtOAc) chromatographiert, um einen Feststoff (200 mg) zu ergeben. Der Feststoff (150 mg) und Pd/C (10%, 150 mg) in Methanol (20 ml) wurden 3 Stunden unter H₂ (30 psi) geschüttelt, filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde auf Kieselgel (MeOH/CH₂Cl₂: 1/9) chromatographiert, um das erwünschte Produkt als einen Feststoff (35 mg) zu ergeben.

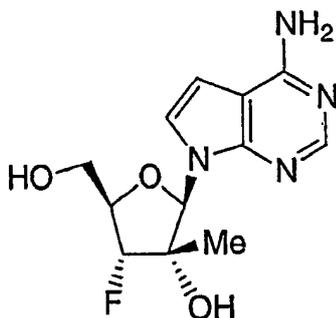
¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 0,65 (s, 3H), 1,18 (s, 3H), 3,43 (m, 2H), 4,06 (d, 1H, J 6,3 Hz), 4,87 (s, 1H), 5,26 (br., 1H), 5,08 (d, 1H, J 6,3 Hz), 5,25 (t, 1H, J 3,0 Hz), 6,17 (s, 1H), 6,54 (d, 1H, J 3,5 Hz), 6,97 (s, br., 2H), 7,54 (d, 1H, J 3,4 Hz), 8,02 (s, 1H).

¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ 18,19, 21,32, 65,38, 73,00, 79,33, 84,80, 90,66, 99,09, 102,41, 121,90, 149,58, 151,48, 157,38.

LC-MS: Gefunden: 295,1 (M+H⁺); berechnet für C₁₃H₁₈N₄O₄+H⁺: 295,1.

BEISPIEL 29

4-Amino-7-(3-desoxy-3-fluor-2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin



Schritt A: 3-Desoxy-3-fluor-1-O-methyl-5-O-toluoyl-α-D-ribofuranose

[0143] 1,2-O-Isopropyliden-D-xylofuranose (9,0 g, 50 mmol) und p-Toluoylchlorid (7,0 ml, 50 mmol) in Pyridin (50 ml) wurden 30 Minuten gerührt. Wasser (10 ml) wurde zugegeben und die Mischung unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde in Toluol (500 ml) gelöst und die Lösung mit Wasser (200 ml) und gesättigtem wässrigem Natriumhydrogencarbonat (200 ml) gewaschen. Die zwei Schichten wurden getrennt und die organische Schicht eingedampft. Der Rückstand wurde in Methanol (100 ml) gelöst und mit HCl in Dioxan (4M, 10 ml) versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend unter vermindertem Druck eingedampft. Das resultierende Öl wurde auf Kieselgel (EtOAc/Hexan: 1/1) chromatographiert, um ein Öl (10,1 g) zu ergeben. Das Öl wurde in Dichlormethan (100 ml) gelöst und mit Diethylamino-schwefeltrifluorid (DAST) (5,7 ml) versetzt. Die Mischung wurde über Nacht gerührt und dann in gesättigte wässrige Natriumhydrogencarbonatlösung (100 ml) gegossen. Die Mischung wurde mit Toluol (2 × 50 ml) extrahiert, und die vereinten organischen Schichten wurden eingeeengt. Der Rückstand wurde auf Kieselgel (EtOAc/Hexan: 15/85) chromatographiert, um die Titelverbindung als ein Öl zu ergeben (1,50 g).

Schritt B: 3-Desoxy-3-fluor-2-C-methyl-1-O-methyl-S-O-toluoyl-α-D-ribofuranose

[0144] Das Produkt von Schritt A (1,0 g, 3,5 mmol) und Dess-Martin-Periodinan (2,5 g) in Dichlormethan (20 ml) wurden über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und dann unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde mit Diethylether (50 ml) verrieben und filtriert. Das Filtrat wurde mit einer Lösung von $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (12,5 g) in gesättigtem wässrigem Natriumhydrogencarbonat (100 ml) gewaschen, getrocknet (MgSO_4), filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde in wasserfreiem THF (50 ml) gelöst. TiCl_4 (3 ml) und Methylmagnesiumbromid in Ethylether (3M, 10 ml) wurden bei -78°C zugegeben und die Mischung 2 Stunden bei -50 bis -30°C gerührt. Die Mischung wurde in gesättigte wässrige Natriumhydrogencarbonatlösung (100 ml) gegossen und durch Celite filtriert. Das Filtrat wurde mit Toluol (100 ml) extrahiert und eingedampft. Der Rückstand wurde auf Kieselgel (EtOAc/Hexan: 15/85) chromatographiert, um die Titelverbindung als ein Öl zu ergeben (150 mg).

Schritt C: 4-Amino-7-(3-desoxy-3-fluor-2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0145] Das Produkt von Schritt B (150 mg, 0,5 mmol) wurde in HBr (30%) in Essigsäure (2 ml) gelöst. Nach einer Stunde wurde die Mischung unter vermindertem Druck eingedampft und zusammen mit Toluol (10 ml) eingedampft. 4-Chlor-1H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (0,5 g, 3,3 mmol) und pulverförmiges KOH (85%, 150 mg, 2,3 mmol) wurden in DMF (3 ml) 30 Minuten gerührt und die Mischung zusammen mit Toluol (2 ml) eingedampft. Die resultierende Lösung wurde in den obigen Bromzucker gegossen und die Mischung über Nacht gerührt. Die Mischung wurde mit Toluol (50 ml) verdünnt, mit Wasser (3 × 50 ml) gewaschen und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde auf Kieselgel (EtOAc/Hexan: 15/85) chromatographiert, um ein Öl (60 mg) zu ergeben. Das Öl wurde in Dioxan (2 ml) gelöst und in einem Edelstahl-Autoklaven mit flüssigem Ammoniak (20 g) versetzt. Die Mischung wurde 18 Stunden auf 85°C erwärmt, dann abgekühlt und eingedampft. Der Rückstand wurde auf Kieselgel chromatographiert (Methanol/Dichlormethan: 1/9), um die Titelverbindung als einen Feststoff zu ergeben (29 mg).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6): δ 0,81 (s, 3H), 3,75 (m, 2H), 4,16 (m, 1H), 5,09 (dd, 1H, J 53,2, 7,8 Hz), 5,26 (br., 1H), 5,77 (s, 1H), 6,15 (d, 1H, J 2,9 Hz), 6,59 (d, 1H, J 3,4 Hz), 7,02 (s, br., 2H), 7,39 (d, 1H, J 3,4 Hz), 8,06 (s, 1H).

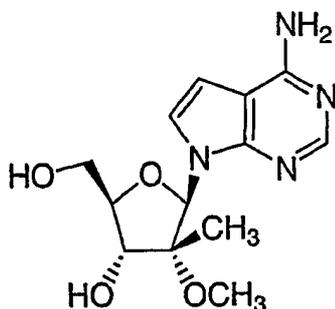
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6): 19,40, 59,56, 77,24, 79,29, 90,15, 91,92, 99,88, 102,39, 121,17, 149,80, 151,77, 157,47.

$^{19}\text{F-NMR}$ (DMSO-d_6): δ 14,66 (m).

ES-MS: Gefunden: 283,1 (M+H⁺); berechnet für C₁₂H₁₅FN₄O₃+H⁺: 283,1.

BEISPIEL 30

4-Amino-7-(2-C,2-O-dimethyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin



Schritt A: 4-Chlor-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C,2-O-dimethyl-β-D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0146] Zu einer vorgekühlten (0°C) Lösung der Verbindung von Beispiel 2, Schritt D (618 mg, 1,0 mmol) in THF (8 ml) wurde Methyljodid (709 mg, 5,0 mmol) und NaH (60%ig in Mineralöl) (44 mg, 1,1 mmol) zugegeben. Die resultierende Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend in eine gerührte Mischung aus gesättigtem wässrigem Ammoniumchlorid (50 ml) und Dichlormethan (50 ml) gegossen. Die organische Schicht wurde mit Wasser (50 ml) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und im Vakuum eingedampft. Das resultierende Rohprodukt wurde auf Kieselgel unter Verwendung von Ethylacetat/Hexan als Elutionsmittel gereinigt. Die produkthaltigen Fraktionen wurden gesammelt und im Vakuum eingedampft, um das erwünschte Produkt (735 mg) als einen farblosen Schaum zu ergeben.

Schritt B: 4-Amino-7-[3,5-bis-O-(2,4-dichlorphenylmethyl)-2-C,2-O-dimethyl-β-D-ribofuranosyl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0147] Zu der Verbindung von Schritt A (735 mg, 1,16 mmol) wurde methanolischer Ammoniak (gesättigt bei 0°C) (20 ml) zugegeben. Die Mischung wurde in einem Edelstahl-Autoklaven bei 80°C über Nacht gerührt, dann abgekühlt und der Inhalt im Vakuum eingedampft. Die rohe Mischung wurde auf Kieselgel gereinigt, wobei Ethylacetat/Hexan als das Elutionsmittel verwendet wurde. Die produkthaltigen Fraktionen wurden gesammelt und im Vakuum eingedampft, um das erwünschte Produkt (504 mg) als einen farblosen Schaum zu ergeben.

Schritt C: 4-Amino-7-(2-C,2-O-dimethyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

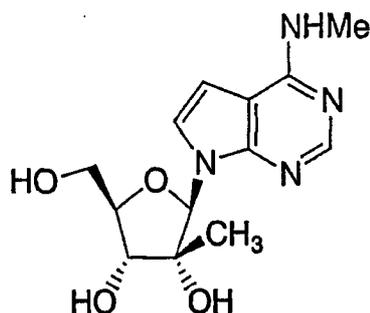
[0148] Eine Mischung aus dem Produkt von Schritt C (64 mg, 0,1 mmol), MeOH (5 ml), Et₃N (0,2 ml) und 10% Pd/C (61 mg) wurde auf einer Parr-Hydrierapparatur bei 50 psi bei Raumtemperatur über Nacht hydriert. Die Mischung wurde durch Celite filtriert, im Vakuum eingedampft und durch ein Kieselgelkissen filtriert, wobei 2% Methanol in Dichlormethan als Elutionsmittel verwendet wurden. Das erwünschte Produkt wurde gesammelt und im Vakuum eingedampft. Die Verbindung wurde wieder in Methanol (10 ml) gelöst und mit 10% Pd/C (61 mg) versetzt. Die Mischung wurde an einer Parr-Hydrierapparatur bei 55 psi bei Raumtemperatur zwei Wochen hydriert. Die Mischung wurde durch Celite filtriert, im Vakuum eingedampft und auf Kieselgel unter Verwendung von 10% Methanol in Dichlormethan als Elutionsmittel gereinigt. Die produkthaltigen Fraktionen wurden gesammelt und im Vakuum eingedampft, um das erwünschte Produkt (110 mg) als farblosen Schaum zu ergeben.

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 0,68 (s, 3H), 3,40 (s, 3H), 3,52-3,99 (überlappendes m, 4H), 4,92 (d, 1H), 5,07 (t, 1H), 6,26 (s, 1H), 6,55 (d, 1H), 7,00 (s, br, 2H), 7,46 (d, 1H), 8,05 (s, 1H).

LC-MS: Gefunden: 293,1 (M-H⁺); berechn. für C₁₂H₁₆N₄O₄-H⁺: 293,12.

BEISPIEL 31

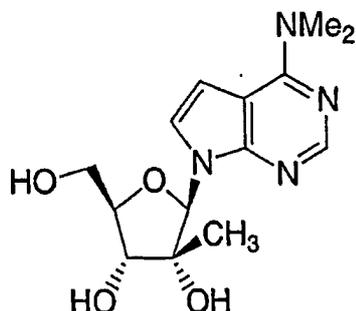
4-Methylamino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin



[0149] Die Verbindung aus Schritt E von Beispiel 2 (200 mg, 0,67 mmol) wurde zu Methylamin (5 ml, kondensiert in einem kleinen Edelstahl-Autoklaven) gegeben und 48 Stunden auf 85°C erwärmt, dann abgekühlt und im Vakuum eingedampft. Die rohe Mischung wurde auf Kieselgel mit Ethanol als Elutionsmittel gereinigt, um die Titelverbindung zu ergeben, die sich nach der Behandlung mit MeCN als amorpher Feststoff abschied. Der amorphe Feststoff wurde in Wasser gelöst und gefriergetrocknet, um ein farbloses Pulver zu ergeben (144 mg). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 0,63 (s, 3H, CH₃), 3,32 (s, 3H, N CH₃), 3,58-3,67 (m, 1H, H-5'), 3,79-3,39 (m, 3H, H-5, H-4', H-3'), 5,03 (s, 1H, 2'-OH), 5,04-5,11 (1H, 3'-OH, 1H, 5'-OH), 6,14 (s, 1H, H-1'), 6,58 (d, 1H, J_{5,6} = 3,6 Hz, H-5), 7,46 (d, 1H, H-6), 7,70 (br. s, 1H, NH), 8,14 (s, 1H, H-2). LC-MS: Gefunden: 295,1 (M-H⁺); berechn. für C₁₃H₁₈N₄O₄+H⁺: 294,3.

BEISPIEL 32

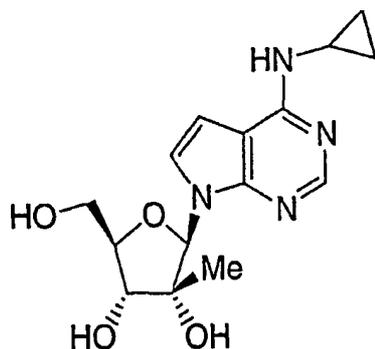
4-Dimethylamino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin



[0150] Die Verbindung aus Schritt E von Beispiel 2 (200 mg, 0,67 mmol) wurde zu Dimethylamin (5 ml, kondensiert in einem kleinen Edelstahl-Autoklaven) gegeben und 48 Stunden auf 85°C erwärmt, dann abgekühlt und im Vakuum eingedampft. Die rohe Mischung wurde auf Kieselgel mit Ethanol als Elutionsmittel gereinigt, um die Titelverbindung zu ergeben, die sich nach der Behandlung mit MeCN als amorpher Feststoff abschied. Der amorphe Feststoff wurde in Wasser gelöst und gefriergetrocknet, um ein farbloses Pulver zu ergeben (164 mg). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 0,64 (s, 3H, CH₃), 3,29 (s, 3H, N CH₃), 3,32 (s, 3H, N CH₃), 3,60-3,66 (m, 1H, H-5'), 3,77-3,97 (m, 3H, N-5'', H-4', H-3'), 5,04 (s, 1H, 2'-OH), 5,06-5,11 (1H, 3'-OH, 1H, 5'-OH), 6,21 (s, 1H, H-1'), 6,69 (d, 1H, J_{5,6} = 3,6 Hz, H-5), 7,55 (d, 1H, H-6), 8,13 (s, 1H, H-2). LC-MS: Gefunden: 309,3 (M-H⁺); berechn. für C₁₄H₂₀N₄O₄+H⁺: 308,33.

BEISPIEL 33

4-Cyclopropylamino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin



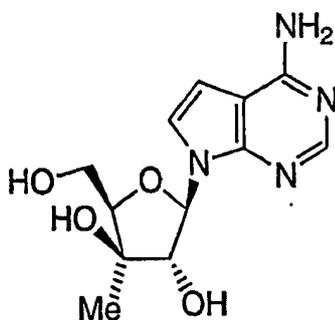
[0151] Die Verbindung aus Schritt E von Beispiel 2 (200 mg, 0,67 mmol) wurde zu Cyclopropylamin (5 ml, kondensiert in einem kleinen Edelstahl-Autoklaven) gegeben und 48 Stunden auf 85°C erwärmt, dann abgekühlt und im Vakuum eingedampft. Die rohe Mischung wurde auf Kieselgel mit Ethanol als Elutionsmittel gereinigt, um die Titelverbindung zu ergeben, die sich nach der Behandlung mit MeCN als amorpher Feststoff abschied. Der amorphe Feststoff wurde in Wasser gelöst und gefriergetrocknet, um ein farbloses Pulver zu ergeben (148 mg).

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 0,51-0,58 (m, 2H), 0,64 (s, 3H, CH₃), 0,74-0,076 (m, 2H), 3,62-3,67 (m, 1H, H-5'), 3,79-3,82 (m, 3H, H-5''), 3,92-3,96 (m, H-4', H-3'), 5,03 (s, 1H, 2'-OH), 5,05-5,10 (1H, 3'-OH, 1H, 5'-OH), 6,15 (s, 1H, H-1'), 7,48 (d, 1H, J_{5,6} = 3,6 Hz, H-5), 7,59 (d, 1H, H-6), 8,13 (s, 1H, H-2).

LC-MS: Gefunden: 321,1 (M-H⁺); berechnet für C₁₅H₂₀N₄O₄+H⁺: 320,3.

REFERENZBEISPIEL 34

4-Amino-7-(3-C-methyl-β-D-xylofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin



Schritt A: 7-[2,5-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl)-β-D-ribofuranosyl]-4-[(4-methoxyphenyl)diphenylmethyl]amino-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin und 7-[3,5-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl)-β-D-ribofuranosyl]-4-[(4-methoxyphenyl)diphenylmethyl]amino-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0152] Zu einer Lösung der Mischung aus den Verbindungen von Schritt A der Beispiele 26 und 27 (0,32 g, 0,65 mmol) in wasserfreiem Pyridin (6 ml) wurde Monomethoxytritylchlorid (0,30 g, 0,98 mmol) zugegeben und die Reaktionsmischung bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Anschließend wurde die Mischung eingeeengt und der Rückstand zwischen CH₂Cl₂ (70 ml) und Wasser (20 ml) aufgetrennt. Die organische Schicht wurde mit Wasser und Salzlösung gewaschen, getrocknet (Na₂SO₄) und eingeeengt. Der Rückstand wurde auf einer Kieselgelsäule unter Verwendung von 5-13% EtOAc in Hexanen als Elutionsmittel gereinigt. Die passenden Fraktionen wurden gesammelt und eingeeengt, um mit 2',5'-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl)- und 3',5'-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl) geschützte Nucleoside als farblose Schäume (343 mg bzw. 84 mg) zu ergeben.

Schritt B:

7-[2,5-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl)-β-D-erythro-pentofuranos-3-ulosyl]-4-[(4-methoxyphenyl)diphenylmethyl]amino-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0153] Zu einer gut gerührten Suspension von Chromtrioxid (91 mg, 0,91 mmol) in CH₂Cl₂ (4 ml) bei 0°C wur-

de Pyridin (147 μ l, 1,82 mmol) und anschließend Essigsäureanhydrid (86 μ l, 0,91 mmol) zugegeben. Die Mischung wurde 0,5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde das mit 2',5'-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl) geschützte Nucleosid von Schritt A (343 mg, 0,45 mmol) in CH_2Cl_2 (2,5 ml) zugegeben und die Mischung bei Raumtemperatur 2 Stunden gerührt. Die Mischung wurde anschließend in eiskaltes EtOAc (10 ml) gegossen und durch eine kurze Kieselgelsäule filtriert, wobei EtOAc als Elutionsmittel verwendet wurde. Das Filtrat wurde eingedampft und der Rückstand auf einer Kieselgelsäule mit Hexanen und Hexanen/EtOAc (7/1) als Elutionsmittel gereinigt, um die Titelverbindung (180 mg) zu ergeben.

Schritt C:

7-[2,5-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl)-3-C-methyl- β -D-ribofuranosyl]-4-[(4-methoxyphenyl)diphenylmethyl]amino-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin und
7-[2,5-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl)-3-C-methyl- β -D-xylofuranosyl]-4-[(4-methoxyphenyl)diphenylmethyl]amino-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

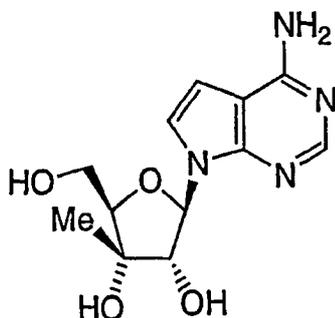
[0154] Zu einer Mischung aus MeMgBr (3,0M Lösung in Ether, 0,17 ml, 0,5 mmol) in wasserfreien Hexanen (1,5 ml) bei Raumtemperatur wurde tropfenweise eine Lösung der Verbindung von Schritt B (78 mg, 0,1 mmol) in wasserfreien Hexanen (0,5 ml) zugegeben. Nach 2-stündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung in eiskaltes Wasser (10 ml) gegossen und mit EtOAc (20 ml) verdünnt, dann durch Celite filtriert, das anschließend gründlich mit EtOAc gewaschen wurde. Die Schichten wurden getrennt und die organische Schicht mit Salzlösung gewaschen, getrocknet (Na_2SO_4) und eingeeengt. Der Rückstand wurde auf einer Kieselgelsäule unter Verwendung von 8 bis 25% EtOAc in Hexanen als Elutionsmittel gereinigt, um das 3-C-Methylxylo- (60 mg) und das 3-C-Methylribo-Isomer (20 mg) zu ergeben.

Schritt D: 4-Amino-7-(3-C-methyl- β -D-xylofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0155] Zu einer eiskalten Lösung des 3-C-Methylxylo-Isomers von Schritt C (60 mg, 0,08 mmol) in THF (2 ml) wurde TBAF (1M in THF, 0,32 ml, 0,32 mmol) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde bei Raumtemperatur 5 Stunden gerührt, dann mit CH_2Cl_2 (50 ml) verdünnt, mit Wasser (3×15 ml) gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde in Dioxan (0,3 ml) gelöst und mit 80%iger Essigsäure (3 ml) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde bei Raumtemperatur 1 Tag gerührt und anschließend eingeeengt. Der Rückstand wurde zusammen mit Dioxan eingedampft, in Wasser (50 ml) aufgenommen und mit CH_2Cl_2 (2×10 ml) gewaschen. Die wässrige Schicht wurde eingeeengt und anschließend gefriergetrocknet. Der Rückstand wurde auf einer Kieselgelsäule mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (20/1 und 10/1) als Elutionsmittel gereinigt, um die Titelverbindung nach dem Gefrier-trocknen als einen weißen flockigen Feststoff (10 mg) zu ergeben.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN): δ 1,28 (s, 3H, CH_3), 3,56 (br. s, 1H, OH), 3,78 (m, 3H, H-4', H-5', H-5''), 4,10 (br. s, 1H, OH), 4,44 (d, 1H, $J_{2,1'} = 3,9$ Hz, H-2'), 5,58 (d, 1H, H-1'), 5,85 (br. s, 2H, NH_2), 6,15 (br. s, 1H, OH), 6,48 (d, 1H, $J_{5,6} = 3,7$ Hz, H-5), 7,23 (d, 1H, H-6), 8,11 (s, 1H, H-2). ES-MS: 281 $[\text{MH}]^+$.

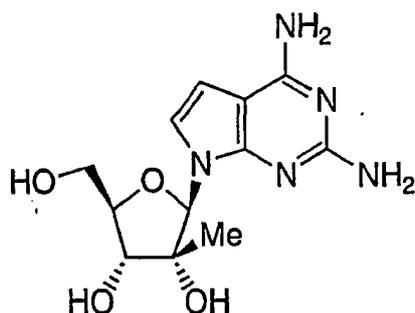
REFERENZBEISPIEL 35

4-Amino-7-(3-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0156] Das Ribo-Isomer (20 mg) aus Schritt C von Beispiel 32 wurde durch Anwendung des in Schritt D von Beispiel 32 beschriebenen Verfahrens von der Schutzgruppe befreit, um die Titelverbindung (4 mg) zu ergeben.

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

BEISPIEL 36

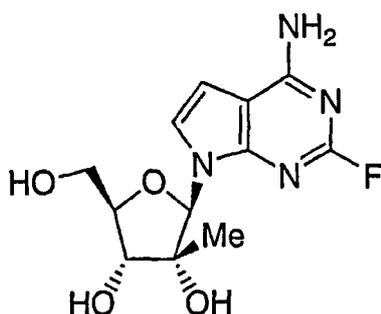
2,4-Diamino-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0157] Eine Mischung aus dem Produkt von Schritt B von Beispiel 4 (24 mg) in wässrigem Ammoniak (30%, 10 ml) wurde in einem Edelstahl-Autoklaven über Nacht auf 100°C erhitzt, dann abgekühlt und eingedampft. Der Rückstand wurde auf einer Kieselgelsäule mit CH₂Cl₂/MeOH (10/1 und 5/1) als Elutionsmittel gereinigt, um die Titelverbindung (15 mg) zu ergeben.

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 0,68 (s, 3H, CH₃), 3,48-3,58 (m, 1H, H-5'), 3,68-3,73 (m, 2H, H-5'', H-4'), 3,84 (m, 1H, H-3'), 4,72 (s, 1H, 2'-OH), 4,97-5,03 (m, 2H, 3'-OH, 5'-OH), 5,45 (br. s, 2H, NH₂), 6,00 (s, 1H, H-1'), 6,28 (d, 1H, J = 3,7 Hz, H-5), 6,44 (br. s, 2H, NH₂), 6,92 (d, 1H, J = 3,7 Hz, H-6).

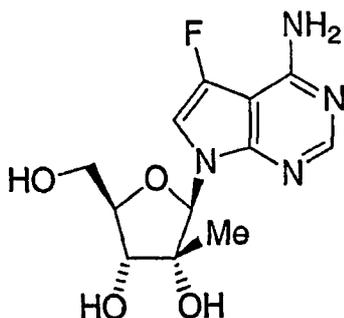
ES-MS: 294,1 (M-H⁺).

BEISPIEL 37

4-Amino-2-fluor-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0158] Zu einer Lösung von HF/Pyridin (70%, 2 ml), verdünnt mit Pyridin (1 ml), bei -30°C wird die Verbindung von Beispiel 36 (60 mg, 0,2 mmol) in 0,5 ml Pyridin zugegeben, gefolgt von tert.-Butylnitrit (36 μ l, 0,3 mmol). Das Rühren wird 5 Minuten bei -25°C fortgesetzt. Anschließend wird die Lösung in Eiswasser (5 ml) gegossen, mit 2N wässrigem NaOH neutralisiert und zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird auf einer Kieselgelsäule mit CH₂Cl₂/MeOH (20/1 und 10/1) als Elutionsmittel gereinigt, um die Titelverbindung zu ergeben.

BEISPIEL 38

4-Amino-5-fluor-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

Schritt A: 4-Acetylamino-7-(2,3,5-tri-O-acetyl-2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0159] Zu einer Lösung der Verbindung aus Schritt F von Beispiel 2 (280 mg, 1,00 mmol) in Pyridin wird Essigsäureanhydrid (613 mg, 6,0 mmol) zugegeben. Die resultierende Lösung wird über Nacht bei Umgebungstemperatur gerührt, im Vakuum eingedampft und die resultierende rohe Mischung auf Kieselgel mit Ethylacetat/Hexan als Elutionsmittel gereinigt. Die produktthaltigen Fraktionen werden gesammelt und im Vakuum eingedampft, um das erwünschte Produkt zu ergeben.

Schritt B: 4-Acetylamino-5-brom-7-(2,3,5-tri-O-acetyl-2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

[0160] Zu einer vorgekühlten (0°C) Lösung der Verbindung von Schritt A (460 mg, 1,00 mmol) in DMF wird N-Bromsuccinimid (178 mg, 1,0 mmol) in DMF zugegeben. Die resultierende Lösung wird 30 Minuten bei 0°C, dann weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von Methanol gequenchet und im Vakuum eingeeengt. Die resultierende rohe Mischung wird auf Kieselgel mit Ethylacetat/Hexan als Elutionsmittel gereinigt. Die produktthaltigen Fraktionen werden gesammelt und im Vakuum eingeeengt, um das erwünschte Produkt zu ergeben.

Schritt C: 4-Amino-5-fluor-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]-pyrimidin

[0161] Zu einer vorgekühlten (-78°C) Lösung der Verbindung von Schritt B (529 mg, 1,00 mmol) in THF wird Butyllithium (2M in Hexanen) (0,5 ml, 1,00 mmol) zugegeben. Die resultierende Lösung wird 30 Minuten bei -78°C gerührt und anschließend mit N-Fluorbenzolsulfonimid (315 mg, 1,00 mmol) in THF gequenchet. Die resultierende Lösung lässt man sehr langsam auf Umgebungstemperatur erwärmen und wird anschließend in eine gerührte Mischung aus gesättigtem wässrigem Ammoniumchlorid und Dichlormethan gegossen. Die organische Phase wird im Vakuum eingedampft und in einem geschlossenen Behälter über Nacht mit Ammoniumhydroxid bei 55°C behandelt. Die resultierende rohe Mischung wird auf Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol als Elutionsmittel gereinigt. Die produktthaltigen Fraktionen werden gesammelt und im Vakuum eingedampft, um das erwünschte Produkt zu ergeben.

BIOLOGISCHE TESTS

[0162] Die zur Messung der Inhibierung von HCV-NS5B-Polymerase und der HCV-Replikation verwendeten Tests sind nachstehend beschrieben.

[0163] Die Wirksamkeit der Verbindungen der vorliegenden Erfindung als Inhibitoren der RNA-abhängigen HCV-NS5B-RNA-Polymerase (RdRp) wurde in dem folgenden Test gemessen.

A. Test zur Inhibierung von HCV-NS5B-Polymerase:

[0164] Dieser Test wurde verwendet, um die Fähigkeit der Nucleosid-Derivate der vorliegenden Erfindung zur Inhibierung der enzymatischen Aktivität der RNA-abhängigen RNA-Polymerase (NS5B) des Hepatitis-C-Virus (HCV) an einem heteromeren RNA-Template zu messen.

Verfahren:

Testpufferbedingungen: (insgesamt 50 μ l/Reaktion)

20 mM Tris, pH 7,5

50 μ M EDTA

5 mM DTT

2 mM MgCl₂

80 mM KCl

0,4 U/ μ l RNAsin (Promega, Stammlösung hat 40 Einheiten/ μ l)

0,75 μ g t500 (eine 500-nt-RNA, hergestellt durch Verwendung von T7-Runoff-Transkription mit einer Sequenz aus dem NS2/3-Bereich des Hepatitis-C-Genoms)

1,6 μ g gereinigtes Hepatitis-C-NS5B (Form mit 21 Aminosäuren, C-terminal trunziert)

1 μ M A,C,U,GTP (Nucleosid-Triphosphat-Mix)

[alpha ³²P]-GTP oder [alpha ³³P]-GTP

[0165] Die Verbindungen wurden bei verschiedenen Konzentrationen bis zu einer Endkonzentration von 100

µM getestet.

[0166] Ein geeignetes Reaktionspuffervolumen wurde hergestellt, das Enzym und Template t500 enthielt. Nucleosidderivate der vorliegenden Erfindung wurde in die Vertiefungen einer 96-Well-Platte pipettiert. Eine Mischung aus Nucleosid-Triphosphaten (NTPs), einschließlich des radiomarkierten GTP, wurde hergestellt und in die Vertiefungen einer 96-Well-Platte pipettiert. Die Reaktion wurde durch Zugabe der Enzym-Template-Reaktionslösung gestartet, und man ließ sie bei Raumtemperatur 1-2 Stunden fortschreiten.

[0167] Die Reaktion wurde durch Zugabe von 20 µl 0,5M EDTA, pH 8,0, gequencht. Leerreaktionen, bei denen die Quenclösung zu den NTPs zugegeben wurde, bevor der Reaktionspuffer zugegeben wurde, waren enthalten.

[0168] 50 µl der gequenchten Reaktion wurden auf DE81-Filterscheiben (Whatman) getüpfelt, und man ließ sie 30 Minuten trocknen. Die Filter wurden mit 0,3M Ammoniumformiat, pH 8, gewaschen (150 ml/Waschvorgang, bis die cpm in 1 ml Waschlösung weniger als 100 betragen, üblicherweise 6 Waschvorgänge). Die Filter wurden in 5 ml Szintillationsflüssigkeit in einem Szintillationszähler gezählt.

[0169] Die prozentuale Inhibierung wurde gemäß der folgenden Gleichung berechnet:

$$\% \text{ Inhibierung} = [1 - (\text{cpm bei Testreaktion} - \text{cpm bei Leerreaktion}) / (\text{cpm bei Kontrollreaktion} - \text{cpm bei Leerreaktion})] \times 100.$$

[0170] Repräsentative Verbindungen, die im HCV-NS5B-Polymerasetest getestet wurden, wiesen IC₅₀-Werte von weniger als 100 Mikromolar auf.

B. Test zur Inhibierung der HCV-RNA-Replikation:

[0171] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung wurden auch auf ihre Fähigkeit hin untersucht, die Replikation von Hepatitis-C-Virus-RNA in kultivierten Hepatoma(HuH-7)-Zellen, die ein subgenomisches HCV-Replikon enthalten, zu beeinflussen. Die Details des Tests sind nachstehend beschrieben. Dieser Replikontest ist eine Modifizierung desjenigen, der in V. Lohmann, F. Korner, J-O. Koch, U. Herian, L. Theilmann und R. Bartenschlager, "Replication of a Sub-genomic Hepatitis C Virus RNAs in a Hepatoma Cell Line," *Science* 285:110 (1999), beschrieben ist.

Protokoll:

[0172] Der Test war ein In-situ-Ribonucleaseschutz-Scintillation-Proximity-Assay (SPA). 10000–40000 Zellen wurden in 100-200 µl Medium, das 0,8 mg/ml G418 enthielt, in 96-Well-Cytostar-Platten (Amersham) ausplatziert. Die Verbindungen wurden zu Zellen in verschiedenen Konzentrationen von bis zu 100 µM in 1% DMSO zur Zeit 0 bis 18 Stunden zugegeben und anschließend 24-96 Stunden kultiviert. Die Zellen wurden fixiert (20 Minuten, 10% Formalin), permeabilisiert (20 Minuten, 0,25% Triton X-100/PBS) und mit einer einzelsträngigen ³³P-RNA-Sonde, komplementär zum (+)-Strang NS5B (oder anderen Genen), der im RNA-Virusgenom enthalten ist, hybridisiert (über Nacht, 50°C). Die Zellen wurden gewaschen, mit RNase behandelt, gewaschen, auf 65°C erwärmt und in einem Top-Count gezählt. Die Inhibierung der Replikation wurde als eine Abnahme der Impulse pro Minute (cpm) registriert.

[0173] Menschliche HuH-7-Heptatomazellen, die ausgewählt wurden, da sie ein subgenomes Replikon enthalten, tragen eine zytoplasmische RNA, die aus einem nichttranslatierten HCV 5'-Bereich (NTR), einem selektierbaren Neomycin-Marker, einer EMCV-IRES (internal ribosome entry site) und nichtstrukturellen HCV-Proteinen NS3 bis NS5B, gefolgt von dem 3' NTR, bestehen.

[0174] Repräsentative Verbindungen, die in dem Replikationstest getestet wurden, wiesen EC₅₀-Werte von weniger als 100 Mikromolar auf.

[0175] Die Nucleosid-Derivate der vorliegenden Erfindung wurde auch auf ihre Zelltoxizität und Anti-Virus-Spezifität in den nachstehend beschriebenen Counterscreens untersucht.

C. COUNTERSCREENS:

[0176] Die Fähigkeit der Nucleosid-Derivate der vorliegenden Erfindung, menschliche DNA-Polymerasen zu

inhibieren, wurde in den folgenden Tests gemessen.

a. Inhibierung der menschlichen DNA-Polymerasen alpha und beta:

Reaktionsbedingungen:

50 µl Reaktionsvolumen

Reaktionspufferkomponenten:

20 mM Tris-HCl, pH 7,5
 200 µg/ml Rinderserumalbumin
 100 mM KCl
 2 mM β-Mercaptoethanol
 10 mM MgCl₂
 1,6 µM dA, dG, dC, dTTP
 α-³³P-dATP

Enzym und Template:

0,05 mg/ml gapped Fischsperma-DNA-Template
 0,01 U/µl DNA-Polymerase-α oder -β

Herstellung von gapped Fischsperma-DNA-Template:

Gib 5 µl 1M MgCl₂ zu 500 µl aktivierter Fischsperma-DNA (USB 70076) zu.
 Erwärme auf 37°C und gib 30 µl 65 U/µl Exonuclease III (GibcoBRL 18013-011) zu.
 Inkubiere 5 Minuten bei 37°C.
 Beende die Reaktion durch 10-minütiges Erwärmen auf 65°C.
 Packe 50-100 µl-Aliquote auf Bio-spin-6-Chromatographiesäulen (Bio-Rad 732-6002), äquilibriert mit 20 mM Tris-HCl, pH 7,5;
 Eluiere durch 4-minütiges Zentrifugieren bei 1000 × g.
 Sammle das Eluat und messe das Absorptionsvermögen bei 260 nm, um die Konzentration zu ermitteln.

[0177] Das DNA-Template wurde in ein geeignetes Volumen von 20 mM Tris-HCl, pH 7,5, verdünnt und das Enzym in ein geeignetes Volumen von 20 mM Tris-HCl, das 2 mM β-Mercaptoethanol enthielt, und 100 mM KCl verdünnt. Template und Enzym wurden in Mikrozentrifugenröhrchen oder eine 96-Well-Platte pipettiert. Leerreaktionen ohne Enzym und Kontrollreaktionen ohne Testverbindung wurden ebenfalls unter Verwendung von Enzymverdünnungspuffer bzw. Testverbindungslösungsmittel hergestellt. Die Reaktion wurde mit Reaktionspuffer mit den oben aufgeführten Bestandteilen initiiert. Die Reaktion wurde 1 Stunde bei 37°C inkubiert. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von 20 µl 0,5M EDTA gequencht. 50 µl der gequenchten Reaktion wurden auf Whatman-DE81-Filterscheiben getüpfelt und an Luft getrocknet. Die Filterscheiben wurden wiederholt mit 150 ml 0,3M Ammoniumformiat, pH 8, gewaschen, bis 1 ml der Waschlösung < 100 cpm besitzt. Die Scheiben wurden zweimal mit 150 ml absolutem Ethanol und einmal mit 150 ml wasserfreiem Ether gewaschen, getrocknet und in 5 ml Szintillationsflüssigkeit gezählt.

[0178] Die prozentuale Inhibierung wurde gemäß der folgenden Gleichung berechnet:

% Inhibierung = $[1 - (\text{cpm bei Testreaktion} - \text{cpm bei Leerreaktion}) / (\text{cpm bei Kontrollreaktion} - \text{cpm bei Leerreaktion})] \times 100$.

b. Inhibierung der menschlichen DNA-Polymerase gamma:

[0179] Das Potential für die Inhibierung von menschlicher DNA-Polymerase gamma wurde in Reaktionen gemessen, die 0,5 ng/µl Enzym; 10 µM dATP, dGTP, dCTP und TTP; 2 µCi/Reaktion [α-³³P]-dATP und 0,4 µg/µl aktivierte Fischsperma-DNA (erworben von US Biochemical) in einem Puffer, der 20 mM Tris pH8, 2 mM β-Mercaptoethanol, 50 mM KCl, 10 mM MgCl₂ und 0,1 µg/µl BSA enthielt, enthielten. Man ließ die Reaktionen 1 Stunde bei 37°C fortschreiten und quenchte sie durch Zugabe von 0,5M EDTA bis zu einer Endkonzentration von 142 mM. Die Produktbildung wurde durch Anionenaustauschfilterbindung und Szintillationszählung quantifiziert. Die Verbindungen wurden bei bis zu 50 µM getestet.

[0180] Die prozentuale Inhibierung wurde gemäß der folgenden Gleichung berechnet:

$$\% \text{ Inhibierung} = [1 - (\text{cpm bei Testreaktion} - \text{cpm bei Leerreaktion}) / (\text{cpm bei Kontrollreaktion} - \text{cpm bei Leerreaktion})] \times 100.$$

[0181] Die Fähigkeit der Nucleosid-Derivate der vorliegenden Erfindung, die HIV-Infektiosität und die HIV-Ausbreitung zu inhibieren, wurde in den folgenden Tests gemessen.

c. HIV-Infektiositätstest

[0182] Die Tests wurden mit einer Variante von HeLa-Magi-Zellen, die sowohl CXCR4 als auch CCR5 exprimieren und die aufgrund ihrer geringen β -Galactosidase(β -Gal)-Hintergrundexpression ausgewählt wurden, durchgeführt. Die Zellen wurde 48 Stunden infiziert, und die β -Gal-Produktion vom integrierten HIV-1-LTR-Promotor wurde mit einem chemilumineszenten Substrat (Galactolight Plus, Tropix, Bedford, MA) quantifiziert. Die Inhibitoren wurden in Zweifach-Reihenverdünnung, beginnend mit 100 μ M, titriert (doppelt); die prozentuale Inhibierung bei jeder Konzentration wurde in Beziehung zur Kontrollinfektion berechnet.

d. Inhibierung der HIV-Ausbreitung

[0183] Die Fähigkeit der Verbindungen der vorliegenden Erfindung, die Ausbreitung des menschlichen Immundefektvirus (HIV) zu inhibieren, wurde durch das in US-Patent Nr. 5 413 999 (9. Mai, 1995) und in J.P. Vacca et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 91:4096-4100 (1994), welche in ihrer Gesamtheit hierin durch Bezugnahme aufgenommen sind, beschriebene Verfahren gemessen.

[0184] Die Nucleosid-Derivate der vorliegenden Erfindung wurden auch auf ihre Cytotoxizität gegen kultivierte Hepatoma(HuH-7)-Zellen, die ein subgenomisches HCV-Replikon enthielten, in einem auf MTS-Zellen basierenden Test wie in dem nachstehenden Test beschrieben gescreent. Die HuH-7-Zelllinie ist in H. Nakabayashi et al., Cancer Res., 42:3858 (1982), beschrieben.

e. Zytotoxizitätstest:

[0185] Zellkulturen wurden in geeignetem Medium in Konzentrationen von etwa $1,5 \times 10^5$ Zellen/ml für Suspensionskulturen in 3-tägigen Inkubationen und von $5,0 \times 10^4$ Zellen/ml für adhärenzte Kulturen in 3-tägigen Inkubationen hergestellt. 99 μ l Zellkultur wurden in die Vertiefungen einer mit Gewebekultur behandelten 96-Well-Platte überführt und mit 1 μ l der 100-fachen Endkonzentration der Testverbindung in DMSO versetzt. Die Platten wurden bei 37°C und 5% CO₂ für einen angegebenen Zeitraum inkubiert. Nach dem Inkubationszeitraum wurden 20 μ l CellTiter 96 Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay-Reagenz (MTS) (Promega) zu jeder Vertiefung zugegeben, und die Platten wurden bei 37°C und 5% CO₂ für einen zusätzlichen Zeitraum von bis zu weiteren 3 Stunden inkubiert. Die Platten wurden zur guten Vermischung gerührt und das Absorptionsvermögen bei 490 nm mittels eines Plattenlesers registriert. Mit bekannten Zellzahlen wurde unmittelbar vor der Zugabe von MTS-Reagenz eine Eichkurve für Suspensionskulturzellen erzeugt. Stoffwechselaktive Zellen reduzieren MTS zu Formazan. Formazan absorbiert bei 490 nm. Das Absorptionsvermögen bei 490 nm in Gegenwart von Verbindung wurde mit dem Absorptionsvermögen in Zellen ohne irgendeine zugegebene Verbindung verglichen.

Literatur: Cory, A. H. et al., "Use of an aqueous soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth assays in culture," Cancer Commun. 3: 207 (1991).

[0186] Die folgenden Tests wurden durchgeführt, um die Wirkung der Verbindungen der vorliegenden Erfindung gegen andere RNA-abhängige RNA-Viren zu messen:

a. Bestimmung der In-Vitro-Antiviruswirkung von Verbindungen gegen Rhinovirus (Test zur Inhibierung des zytopathischen Effekts):

[0187] Die Testverbindungen sind in dem Artikel von Sidwell und Huffman, "Use of disposable microtissue culture plates for antiviral and interferon induction studies," Appl. Microbiol. 22: 797-801 (1971), beschrieben.

Viren:

[0188] Rhinovirus Typ 2 (RV-2), Stamm HGP, wurde verwendet, wobei die KB-Zellen und das Medium (0,1% NaHCO₃, keine Antibiotika) wie bei Sidwell und Huffman angegeben waren. Das von der ATCC erhaltene Virus

stammte von einem Halsabstrich eines erwachsenen Mannes mit einer leichten akuten fiebrigen Erkrankung der oberen Atemwege.

[0189] Rhinovirus Typ 9 (RV-9), Stamm 211, und Rhinovirus Typ 14 (RV-14), Stamm Tow, wurden ebenfalls von der American Type Culture Collection (ATCC) in Rockville, MD, erhalten. RV-9 stammte von menschlichen Halsspülungen, und RV-14 stammte von einem Halsabstrich eines jungen Erwachsenen mit einer Erkrankung der oberen Atemwege. Beide Viren wurden mit HeLa-Ohio-1-Zellen (Dr. Fred Hayden, Univ. of VA) verwendet, welches menschliche epitheloide Halskarzinomzellen waren. MEM (Eagle's Minimum Essential Medium) mit 5%igem fötalem Rinderserum (FBS) und 0,1% NaHCO₃ wurden als das Kulturmedium verwendet. Das Antivirustestmedium für alle drei Virusarten war MEM mit 5% FBS, 0,1% NaHCO₃, 50 µg Gentamicin/ml und 10 mM MgCl₂.

[0190] 2000 µg/ml war die höchste Konzentration, die zum Test der Verbindungen der vorliegenden Erfindung verwendet wurde. Das Virus wurde etwa 5 Minuten nach der Testverbindung zu der Testplatte zugegeben. Geeignete Kontrollen wurden ebenfalls durchgeführt. Die Testplatten wurden mit angefeuchteter Luft und 5% CO₂ bei 37°C inkubiert. Die Zytotoxizität wurde in den Kontrollzellen mikroskopisch auf morphologische Veränderungen untersucht. Die Regressionsanalyse der Virus-CPE-Daten und die Toxizitätskontrolldaten ergaben den ED50-Wert (50% wirksame Dosis) und den CC50-Wert (50% zytotoxische Konzentration). Der Selektivitätsindex (SI) wurde berechnet durch die Formel: $SI = CC50 \div ED50$.

b. Bestimmung der In-Vitro-Antivirusswirkung von Verbindungen gegen Dengue-, Banzi- und Gelbfieber (CPE-Inhibierungsassay)

[0191] Details zum Test werden von Sidwell und Huffman in der obigen Literaturschrift angegeben.

Viren:

[0192] Dengue-Virus Typ 2, Neuguinea-Stamm, wurde vom Center for Disease Control erhalten. Zwei Linien von African-Green-Monkey-Nierenzellen wurden verwendet, um das Virus (Vero) zu kultivieren und einen Antivirustest (MA-104) durchzuführen. Sowohl das Gelbfiebervirus, 17D-Stamm, hergestellt aus infiziertem Mäusehirn, als auch das Banzi-Virus, H-336-Stamm, isoliert aus dem Serum eines fieberigen Jungen in Südafrika, wurden von der ATCC erhalten. Vero-Zellen wurde sowohl mit diesen Viren als auch für den Test verwendet.

Zellen und Medium:

[0193] MA-104-Zellen (BioWhittaker, Inc., Walkersville, MD) und Vero-Zellen (ATCC) wurden in Medium 199 mit 5% FBS und 0,1% NaHCO₃ und ohne Antibiotika verwendet. Das Testmedium für Dengue-, Gelbfieber- und Banzi-Viren war MEM, 2% FBS, 0,18% NaHCO₃ und 50 µg Gentamicin/ml.

[0194] Der Antivirustest der Verbindungen der vorliegenden Erfindung wurde gemäß Sidwell und Huffman in der obigen Literaturschrift und ähnlich dem obigen Rhinovirus-Antivirustest durchgeführt. Geeignete Werte für den zytopathischen Effekt (CPE) wurden nach 5-6 Tagen für jeden dieser Viren erhalten.

c. Bestimmung der In-Vitro-Antivirusswirkung von Verbindungen gegen West-Nil-Virus (CPE-Inhibierungstest)

[0195] Details zum Test werden von Sidwell und Huffman in der obigen Literaturschrift angegeben. West-Nil-Virus, New-York-Isolat, erhalten aus Kuhhirn, wurde vom Center for Disease Control erhalten. Verozellen wurden wie oben beschrieben kultiviert und verwendet. Das Testmedium war MEM, 1% FBS, 0,1% NaHCO₃ und 50 µg Gentamicin/ml.

[0196] Der Antivirustest der Verbindungen der vorliegenden Erfindung wurde durch Nacharbeiten der Verfahren von Sidwell und Huffman durchgeführt, welche ähnlich den zum Test der Rhinoviruswirkung verwendeten Verfahren sind. Geeignete Werte für den zytopathischen Effekt (CPE) wurden nach 5-6 Tagen erhalten.

d. Bestimmung der In-Vitro-Wirkung von Verbindungen gegen Rhino-, Gelbfieber-, Dengue-, Banzi- und West-Nil-Viren (Neutralrot-Aufnahme-Test)

[0197] Nach der Durchführung der obigen CPE-Inhibierungstests wurde ein zusätzliches zytopathisches Nachweisverfahren durchgeführt, welches in "Microtiter Assay for Interferon: Microspectrophotometric Quan-

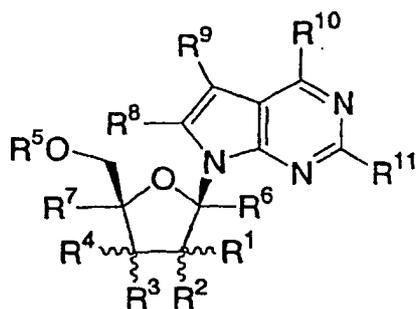
titation of Cytopathic Effect," Appl. Environ. Microbiol. 31:35-38 (1976), beschrieben ist. Ein Modell-EL309-Mirkoplatenlesegerät (Bio-Tek Instruments Inc.) wurde zum Lesen der Testplatte verwendet. Die ED50- und CD50-Werte wurden wie oben berechnet.

BEISPIEL FÜR EINE PHARMAZEUTISCHE FORMULIERUNG

[0198] Als spezielle Ausführungsform einer oralen Zusammensetzung einer Verbindung der vorliegenden Erfindung werden 50 mg der Verbindung von Beispiel 1 oder Beispiel 2 mit ausreichend feinteiliger Lactose formuliert, um eine Gesamtmenge von 580 bis 590 mg zu ergeben, die in eine Hartgelatine kapsel der Größe 0 gefüllt wird.

Patentansprüche

1. Eine Verbindung der Strukturformel I:



(I)

oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon,

wobei R¹ C₂₋₄-Alkenyl, C₂₋₄-Alkynyl oder C₁₋₄-Alkyl ist, wobei das Alkyl unsubstituiert oder mit Hydroxy, Amino, C₁₋₄-Alkoxy, C₁₋₄-Alkylthio oder ein bis drei Fluoratomen substituiert ist;

R² Wasserstoff, Fluor, Hydroxy, Mercapto, C₁₋₄-Alkoxy oder C₁₋₄-Alkyl ist; oder R¹ und R², zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, ein 3- bis 6gliedriges gesättigtes monocyclisches Ringsystem bilden, das gegebenenfalls ein Heteroatom, ausgewählt aus O, S und NC₀₋₄-Alkyl, enthält;

R³ und R⁴ jeweils unabhängig ausgewählt sind aus der Gruppe, bestehend aus Wasserstoff, Cyano, Azido, Halogen, Hydroxy, Mercapto, Amino, C₁₋₄-Alkoxy, C₂₋₄-Alkenyl, C₂₋₄-Alkynyl und C₁₋₄-Alkyl, wobei Alkyl unsubstituiert oder mit Hydroxy, Amino, C₁₋₄-Alkoxy, C₁₋₄-Alkylthio oder ein bis drei Fluoratomen substituiert ist;

R⁵ Wasserstoff, C₁₋₁₀-Alkylcarbonyl, P₃O₉H₄, P₂O₆H₃ oder P(O)R¹³R¹⁴ ist;

R⁶ und R⁷ jeweils unabhängig Wasserstoff, Methyl, Hydroxymethyl oder Fluormethyl sind;

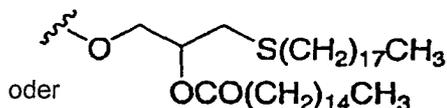
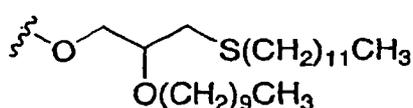
R⁸ Wasserstoff, C₁₋₄-Alkyl, C₂₋₄-Alkynyl, Halogen, Cyano, Carboxy, C₁₋₄-Alkyloxycarbonyl, Azido, Amino, C₁₋₄-Alkylamino, Di(C₁₋₄-alkyl)amino, Hydroxy, C₁₋₆-Alkoxy, C₁₋₆-Alkylthio, C₁₋₆-Alkylsulfonyl, (C₁₋₄-Alkyl)₀₋₂-aminomethyl oder C₄₋₆-Cycloheteroalkyl, unsubstituiert oder substituiert mit ein bis zwei Gruppen, unabhängig ausgewählt aus Halogen, Hydroxy, Amino, C₁₋₄-Alkyl und C₁₋₄-Alkoxy, ist;

R⁹ Wasserstoff, Cyano, Nitro, C₁₋₃-Alkyl, NHCONH₂, CONR¹²R¹², CSNR¹²R¹², COOR¹², C(=NH)NH₂, Hydroxy, C₁₋₃-Alkoxy, Amino, C₁₋₄-Alkylamino, Di(C₁₋₄-alkyl)amino, Halogen, (1,3-Oxazol-2-yl), (1,3-Thiazol-2-yl) oder (Imidazol-2-yl) ist, wobei Alkyl unsubstituiert oder mit ein bis drei Gruppen, unabhängig ausgewählt aus Halogen, Amino, Hydroxy, Carboxy und C₁₋₃-Alkoxy, substituiert ist;

R¹⁰ und R¹¹ jeweils unabhängig Wasserstoff, Hydroxy, Halogen, C₁₋₄-Alkoxy, Amino, C₁₋₄-Alkylamino, Di(C₁₋₄-alkyl)amino, C₃₋₆-Cycloalkylamino, Di(C₃₋₆-cycloalkyl)amino oder C₄₋₆-Cycloheteroalkyl, unsubstituiert oder substituiert mit ein bis zwei Gruppen, unabhängig ausgewählt aus Halogen, Hydroxy, Amino, C₁₋₄-Alkyl und C₁₋₄-Alkoxy, sind;

jedes R¹² unabhängig Wasserstoff oder C₁₋₆-Alkyl ist und

R¹³ und R¹⁴ jeweils unabhängig Hydroxy, OCH₂CH₂SC(=O)C₁₋₄-Alkyl, OCH₂O(C=O)OC₁₋₄-Alkyl, NHCHMeCO₂Me, OCH(C₁₋₄-Alkyl)O(C=O)C₁₋₄-alkyl,

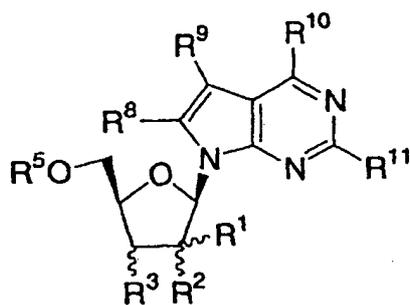


sind;

mit der Maßgabe, daß, wenn R¹ β-Methyl ist und R⁴ Wasserstoff ist oder R⁴ β-Methyl ist und R¹ Wasserstoff ist, R² und R³ α-Hydroxy sind, R¹⁰ Amino ist und R⁵, R⁶, R⁷, R⁸ und R¹¹ Wasserstoff sind, R⁹ dann nicht Cyano oder

CONH₂ ist.

2. Eine Verbindung gemäß Anspruch 1 der Strukturformel II:



(II)

oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon,
wobei

R¹ C₁₋₃-Alkyl ist, wobei Alkyl gegebenenfalls substituiert ist mit Hydroxy, Amino, C₁₋₃-Alkoxy, C₁₋₃-Alkylthio oder ein bis drei Fluoratomen;

R² Hydroxy, Fluor oder C₁₋₄-Alkoxy ist;

R³ Wasserstoff, Halogen, Hydroxy, Amino oder C₁₋₄-Alkoxy ist;

R⁵ Wasserstoff, P₃O₉H₄, P₂O₆H₃ oder PO₃H₂ ist;

R⁸ Wasserstoff, Amino oder C₁₋₄-Alkylamino ist;

R⁹ Wasserstoff, Cyano, Methyl, Halogen oder CONH₂ ist und

R¹⁰ und R¹¹ jeweils unabhängig Wasserstoff, Halogen, Hydroxy, Amino, C₁₋₄-Alkylamino, Di(C₁₋₄-alkyl)amino oder C₃₋₆-Cycloalkylamino sind;

mit der Maßgabe, daß, wenn R¹ β-Methyl ist, R² und R³ α-Hydroxy sind, R¹⁰ Amino ist und R⁵, R⁸ und R¹¹ Wasserstoff sind, R⁹ dann nicht Cyano oder CONH₂ ist.

3. Eine Verbindung gemäß Anspruch 1 oder Anspruch 2, wobei R¹ Methyl, Fluormethyl, Hydroxymethyl, Difluormethyl, Trifluormethyl oder Aminomethyl ist;

R² Hydroxy, Fluor oder Methoxy ist;

R³ Wasserstoff, Fluor, Hydroxy, Amino oder Methoxy ist;

R⁵ Wasserstoff oder P₃O₉H₄ ist;

R⁸ Wasserstoff oder Amino ist;

R⁹ Wasserstoff, Cyano, Methyl, Halogen oder CONH₂ ist und

R¹⁰ und R¹¹ jeweils unabhängig Wasserstoff, Fluor, Hydroxy oder Amino sind;

mit der Maßgabe, daß, wenn R¹ β-Methyl ist, R² und R³ α-Hydroxy sind, R¹⁰ Amino ist und R⁵, R⁸ und R¹¹ Wasserstoff sind, R⁹ dann nicht Cyano oder CONH₂ ist.

4. Die Verbindung, ausgewählt aus:

4-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-arabinofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Methylamino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Dimethylamino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Cyclopropylamino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Amino-7-(2-C-vinyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Amino-7-(2-C-hydroxymethyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Amino-7-(2-C-fluormethyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Amino-5-methyl-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-5-carbonsäure,

4-Amino-5-brom-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Amino-5-chlor-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Amino-5-fluor-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

2,4-Diamino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

2-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

2-Amino-4-cyclopropylamino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

2-Amino-7-(2-C-methyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on,

4-Amino-7-(2-C-ethyl-β-D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,

4-Amino-7-(2-C,2-O-dimethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 7-(2-C-Methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on,
 2-Amino-5-methyl-7-(2-C,2-O-dimethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-on,
 4-Amino-7-(3-desoxy-2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-7-(3-desoxy-2-C-methyl- β -D-arabinofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-2-fluor-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-7-(2,4-di-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin und
 4-Amino-7-(3-desoxy-3-fluor-2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin
 und den entsprechenden 5'-Triphosphaten,
 oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

5. Die Verbindung nach Anspruch 4, ausgewählt aus:

4-Amino-7-(2-C-methyl- β -D-arabinofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-7-(2-C-fluormethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-5-methyl-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-5-brom-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-5-chlor-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin,
 4-Amino-5-fluor-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin und
 4-Amino-7-(2-C,2-O-dimethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin
 und den entsprechenden 5'-Triphosphaten,
 oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

6. Die Verbindung nach Anspruch 5, die 4-Amino-7-(2-C-methyl- β -D-arabinofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

7. Die Verbindung nach Anspruch 5, die 4-Amino-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

8. Die Verbindung nach Anspruch 5, die 4-Amino-7-(2-C-fluormethyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

9. Die Verbindung nach Anspruch 5, die 4-Amino-5-chlor-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

10. Die Verbindung nach Anspruch 5, die 4-Amino-5-brom-7-(2-C-methyl- β -D-ribofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin ist, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

11. Eine pharmazeutische Zusammensetzung, die eine Verbindung gemäß irgendeinem der Ansprüche 1 bis 10 oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon in Verbindung mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger enthält.

12. Eine Kombination aus einer Verbindung gemäß irgendeinem der Ansprüche 1 bis 10 oder einem pharmazeutisch annehmbaren Salz davon und einer therapeutisch wirksamen Menge eines weiteren, gegen HCV wirksamen Mittels zur gleichzeitigen, getrennten oder sequentiellen Verabreichung.

13. Eine Kombination gemäß Anspruch 12, wobei das gegen HCV wirksame Mittel Ribavirin, Levovirin, Thymosin-alpha-1, ein NS3-Serinprotease-Inhibitor, ein Inosinmonophosphatdehydrogenase-Inhibitor, Interferon- α oder pegyliertes Interferon- α , alleine oder in Kombination mit Ribavirin oder Levovirin, ist.

14. Eine Kombination gemäß Anspruch 13, wobei das gegen HCV wirksame Mittel Interferon- α oder pegyliertes Interferon- α , alleine oder in Kombination mit Ribavirin, ist.

15. Eine Verbindung gemäß irgendeinem der Ansprüche 1 bis 10 oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon zur Verwendung bei einem Verfahren zur Behandlung des Menschen- oder Tierkörpers durch Therapie.

16. Die Verwendung einer Verbindung gemäß irgendeinem der Ansprüche 1 bis 10 oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon zur Herstellung eines Medikaments zur Inhibierung von RNA-abhängiger viraler RNA-Polymerase oder zur Inhibierung von RNA-abhängiger viraler RNA-Replikation oder zur Behand-

lung von RNA-abhängiger viraler RNA-Infektion bei einem Säuger.

17. Die Verwendung gemäß Anspruch 16, wobei die RNA-abhängige virale RNA-Polymerase HCV NS5B-Polymerase ist und die RNA-abhängige virale RNA-Replikation eine virale HCV-Replikation ist.

18. Die Verwendung gemäß Anspruch 16, wobei die RNA-abhängige virale RNA-Infektion eine Hepatitis-C-Infektion ist.

19. Eine wie in Anspruch 11 beanspruchte pharmazeutische Zusammensetzung, wobei die Verbindung die Verbindung nach Anspruch 7 ist.

20. Die Verwendung gemäß Anspruch 18, wobei die Verbindung die Verbindung nach Anspruch 7 ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen