



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 272 732**

⑯ Int. Cl.:

**A61K 31/708** (2006.01)

**A61K 31/7076** (2006.01)

**A61K 31/7068** (2006.01)

**A61P 31/14** (2006.01)

⑫

### TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Número de solicitud europea: **02743012 .3**

⑯ Fecha de presentación : **15.05.2002**

⑯ Número de publicación de la solicitud: **1395266**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **10.03.2004**

④ Título: **Uso de derivados de nucleósidos antivirales para la preparación de un medicamento para el tratamiento de infecciones de hepatitis C.**

⑩ Prioridad: **23.05.2001 GB 0112617**

⑦ Titular/es: **F. HOFFMANN-LA ROCHE AG.**  
**Grenzacherstrasse 124**  
**4070 Basel, CH**

⑤ Fecha de publicación de la mención BOP: **01.05.2007**

⑦ Inventor/es: **Devos, Rene, Robert;**  
**Hobbs, Christopher, John;**  
**Jiang, Wen-Rong;**  
**Martin, Joseph, Armstrong;**  
**Merrett, John, Herbert y**  
**Najera, Isabel**

⑤ Fecha de la publicación del folleto de la patente: **01.05.2007**

⑦ Agente: **Isern Jara, Jorge**

**ES 2 272 732 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Uso de derivados de nucleósidos antivirales para la preparación de un medicamento para el tratamiento de infecciones de hepatitis C.

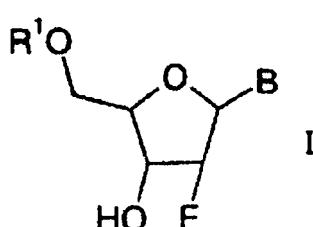
5 La presente invención está relacionada con la utilización de derivados de nucleósidos para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento o la profilaxis de las infecciones por el virus de la hepatitis C. En concreto, la presente invención está relacionada con derivados conocidos de 2'-desoxi-2'-fluoro nucleósidos y su utilización como inhibidores de la replicación del RNA del virus de la hepatitis C (VHC). Los compuestos de esta invención 10 posiblemente se pueden utilizar como agentes terapéuticos para el tratamiento de infecciones por VHC.

El virus de la hepatitis C es la causa principal de las enfermedades hepáticas crónicas de todo el mundo. Los pacientes infectados por el VHC están en riesgo de desarrollar una cirrosis hepática y un posterior carcinoma hepatocelular y, por lo tanto, el VHC es la indicación principal para los transplantes hepáticos. Actualmente solo se dispone de dos 15 tratamientos aprobados para el tratamiento de la infección por VHC (Gish RG. Sem Liver Dis. 1999;19:35). Estos tratamientos son el monotratamiento con interferón- $\alpha$  y, más recientemente, el tratamiento combinado del análogo de nucleósido ribavirina (Virazole), con interfeón- $\alpha$ .

20 El virus de la hepatitis C pertenece a la familia *Flaviridae*. Se trata de un virus de RNA, el genoma del cual codifica una gran poliproteína que una vez procesada produce la maquinaria de replicación necesaria para garantizar la síntesis 25 de nuevos RNA. Se cree que la mayor parte de las proteínas no estructurales codificadas por el genoma de RNA del VHC están implicadas en la replicación de RNA. Lohmann *et al.* [Lohmann V, *et al.* Science. 1999;285:110-113] han descrito la construcción de una línea celular de hepatoma humano (Huh7) en la que se han introducido moléculas de RNA subgenómico de VHC y se ha demostrado que se replican con una elevada eficiencia. Se piensa que el mecanismo de replicación de RNA en estas líneas celulares es idéntico al de la replicación del genoma completo del RNA de VHC en hepatocitos infectados. Los clones subgenómicos de cDNA de VHC utilizados para el aislamiento de estas líneas celulares han constituido el fundamento para el desarrollo de un ensayo basado en células para la identificación de 30 análogos de nucleósidos inhibidores de la replicación del VHC.

35 En WO 99/43691 se describe la utilidad de análogos de 2'-fluoronucleósido para el tratamiento de la infección por hepatitis B, hepatitis C, VIH y de la proliferación celular anómala, incluyendo tumores y cáncer. Los derivados de 2'-desoxi-2'-fluoro ribonucleósidos no se describen de forma específica.

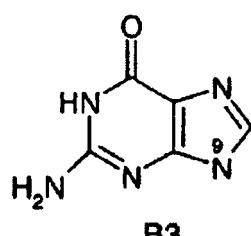
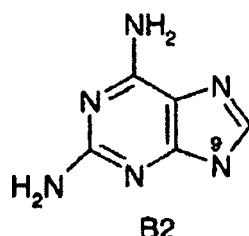
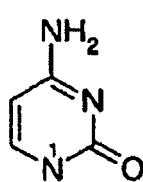
La presente invención describe la utilización de derivados de 2'-desoxi-2'-fluoro nucleósidos de fórmula I:



en la que

50 R¹ es hidrógeno o fosfato y

55 B significa un residuo 1-pirimidinilo o 9-purinilo de fórmulas B1, B2 o B3



65 y de sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para el tratamiento de enfermedades en las que interviene el virus de la hepatitis C (VHC) o para la preparación de medicamentos para un tratamiento de este tipo.

El término "fosfato" tal como aquí se utiliza, denota un grupo monofosfato, difosfato o trifosfato de fórmula  $-[P(=O)(OH)O]_nH$ , en la que n es un número entero seleccionado entre 1, 2 y 3. El fosfato en R¹ es preferiblemente un grupo monofosfato. El término "fosfato" también incluye profármacos monofosfato estabilizados u otros grupos

salientes farmacéuticamente aceptables que, al ser administrados *in vivo*, tienen la capacidad de proporcionar un compuesto en el que R<sup>1</sup> es monofosfato. Estos “pronucleótidos” pueden mejorar las propiedades del nucleótido original como la actividad, biodisponibilidad o estabilidad.

5 En Wagner CR, *et al.* Medicinal Research Reviews. 2000;20(6):417 o en Jones R y Bischofberger N. Antiviral Research. 1995;27:1 se describen ejemplos de grupos sustituyentes que pueden sustituir uno o más de los hidrógenos de la fracción monofosfato. Este tipo de pronucleótidos incluyen: fosfodiésteres de alquilo o arilo, fosfodiésteres esteroideos, fosfotriésteres de alquilo o arilo, fosfotriésteres de alquilo cílicos, fosfotriésteres de ciclosaligenilo (CycloSal), derivados de S-acil-2-tioetilo (SATE), derivados de ditioetil (DTE), fosfoésteres de pivaloiloximetilo, fosfoésteres de para-aciloxibencilo)PAOB), fosfodiésteres glicerolípidos, fosfotriésteres lípidos de glicosilo, fosfodiésteres de dinucleosidilo, fosfotriésteres de dinucleósidos, fosforodiamidatos, fosforamidatos cílicos, monoésteres de fosforamidato y diésteres de fosforamidato.

10

15

10 En las representaciones gráficas de los compuestos presentadas a lo largo de esta solicitud, una línea continua progresivamente más gruesa indica un sustituyente que se encuentra por encima del plano del anillo y una línea discontinua indica un sustituyente que se encuentra por debajo del plano del anillo.

20 Los compuestos de la presente invención muestran estereoisomerismo y por esta razón incluyen compuestos en los que los átomos de carbono presentan la configuración S, R o R,S. Los compuestos de esta invención pueden ser cualquier isómero del compuesto de fórmula I o mezclas de estos isómeros. Los compuestos e intermediarios de la 25 presente invención que presentan uno o más átomos de carbono asimétrico se pueden obtener en forma de mezclas de estereoisómeros. Estas mezclas se pueden separar, en los pasos apropiados del proceso de esta invención, mediante métodos estereoespecíficos conocidos en el campo para obtener un estereoisómero dado o un enantiómero puro que tenga una estereoconfiguración deseada. Alternativamente, los isómeros deseados se pueden sintetizar directamente mediante métodos conocidos en el campo.

En una realización preferida de la invención, el ribofuranósido es un anillo de  $\alpha$ -D,  $\beta$ -D,  $\alpha$ -L o  $\beta$ -L ribofuranosilo, más preferible un anillo de  $\beta$ -D o  $\beta$ -L ribofuranosilo y, aún más preferible un anillo de  $\beta$ -D ribofuranosilo.

30 La configuración relativa preferida de los compuestos de esta invención es la de la fórmula I-a,



en la que

45 R<sup>1</sup> y B son las definidas anteriormente, y de sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Los compuestos de fórmula I muestran tautomerismo (concepto descrito en los libros de texto de química orgánica, p. ej. en March J. Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure. 4th ed. John Wiley & Sons; 1992); esto significa que los compuestos de esta invención pueden estar en forma de dos o más compuestos químicos con capacidad de fácil interconversión. En muchos casos solamente significa el intercambio de un átomo de hidrógeno entre otros dos átomos, con cualquiera de los que forma un enlace covalente. Los compuestos tautoméricos 50 se encuentran en un equilibrio móvil entre ellos, por lo que cuando se pretende preparar las sustancias por separado normalmente da lugar a la formación de una mezcla que muestra todas las propiedades químicas y físicas esperables en relación a las estructuras de los componentes.

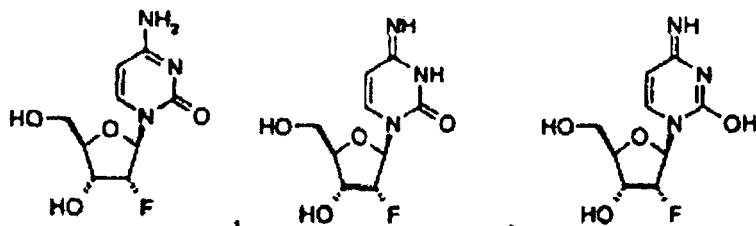
55 La clase más común de tautomerismo es el que implica compuestos carbonilo o ceto y compuestos hidroxilo insaturados o enoles. El cambio estructural es el intercambio de un átomo de hidrógeno entre átomos de carbono y oxígeno, con la reorganización de enlaces.

60 Por ejemplo, en muchos aldehídos y cetonas alifáticos, como el acetaldehído, la forma ceto es la predominante; en los fenoles, la forma enol es el componente principal. Un ejemplo de situación intermedia sería el acetoacetato de etilo, que a temperatura ambiente contiene cerca de un 92,4% de ceto y un 7,6% de enol; a -78°C la interconversión de las dos formas es suficientemente lenta como para que se puedan aislar las sustancias individuales.

65 Se podrá apreciar que dentro de la presente invención los compuestos de fórmula I aparecen en diversas formas tautoméricas y que la presente invención las engloba. Las formas tautoméricas preferidas se ilustran a continuación:

## 2'-Desoxi-2'-fluorocitidina:

5



10

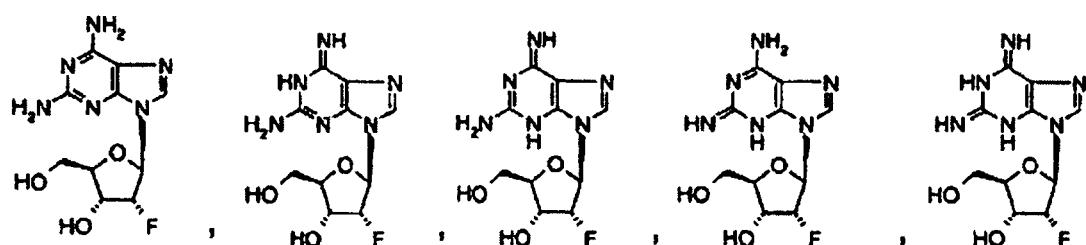
15

## 2-amino-2'-desoxi-2'-fluoroadenosina:

20

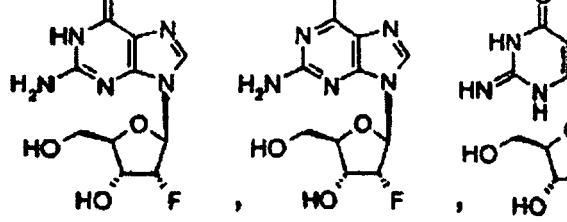
25

30



35

40



Los compuestos arriba ilustrados existen preferiblemente en la forma que aparece en primer lugar.

45

50

55

60

Los compuestos de fórmula I que son básicos, pueden formar sales farmacéuticamente aceptables con ácidos inorgánicos como ácidos halhídricos (p. ej., ácido clorhídrico y ácido bromhídrico), ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, y con ácidos orgánicos (p. ej., con ácido acético, ácido tartárico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido salicílico, ácido cítrico, ácido metanosulfónico, ácido p-tolueno sulfónico y similares). La formación y el aislamiento de estas sales se puede llevar a cabo de acuerdo con métodos conocidos en el campo. Los compuestos de fórmula I que son ácidos pueden formar sales básicas farmacéuticamente aceptables derivadas de bases apropiadas como metales alcalinos (p. ej. litio, sodio o potasio), metales alcalinotérreos (p. ej., calcio, magnesio), amonio o NX<sup>4+</sup> (donde X es alquilo C<sub>1</sub>-4, preferiblemente metilo o etilo y más preferiblemente metilo).

Una realización preferida de la invención es la utilización de los compuestos de fórmula I o I-a antes definidos, en los que

R<sup>1</sup> es como se define anteriormente y B significa 1-pirimidinilo,

y de sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

A continuación se exponen en la Tabla 1 las realizaciones más preferidas de los compuestos de fórmula I para la utilización en el tratamiento de enfermedades en las que interviene el virus de la hepatitis C (VHC) o para la preparación de un medicamento para ese tratamiento.

TABLA 1

Ejemplo	Estructura	Nombre
1		2'-Desoxi-2'-fluorocytidine
2		9-(2-Desoxy-2-fluoro-β-D-ribofuranosyl)-2,6-diaminopurine
3		2'-Desoxi-2'-fluoroguanosine
4		sal de 2'-Desoxi-2'-fluorocytidine 5'-trifosfato de monolitio

*Métodos de ensayo*

50 La actividad de 2'-desoxi-2'-fluorocytidine se determinó mediante una adaptación del método descrito por Lohmann *et al.* [Lohmann V, *et al.* *Science*. 1999;285:110-113].

*Ensayo del Replicón del VHC*

55 Se utilizó la línea celular que contiene el replicón del VHC para demostrar la capacidad de la 2'-desoxi-2'-fluorocytidine de inhibir la replicación de RNA del replicón del VHC en células. Dado que la replicación del RNA del replicón imita la replicación del RNA de VHC en hepatocitos infectados, se piensa que estas pequeñas moléculas que presentan la propiedad antes mencionada son interesantes para su posterior desarrollo como fármacos anti-VHC.

60 La inhibición de la replicación de RNA del replicón de VHC conducirá a un descenso del RNA de replicón en la célula, que se puede medir utilizando un método que cuantifique de forma específica este RNA.

65 El ensayo está basado en la idea de utilizar un indicador como lectura simple del nivel intracelular de RNA de replicón. Con este fin se introdujo el gen de la luciferasa de *Renilla* en el primer marco abierto de lectura de un constructo de replicón NK5.1 (Krieger *et al.* *J Virol.* 75:4614), inmediatamente después de la secuencia del sitio interno de entrada al ribosoma (del inglés, IRES), y se fusionó con el gen de la neomicina fosfotransferasa (NPTII) a través de un péptido 2A de autoescisión proveniente del virus de la fiebre aftosa (Ryan & Drew, *EMBO*. 13:928-933).

# ES 2 272 732 T3

Después de la transcripción *in vitro*, el RNA se transfeció por electroporación en células Huh7 de hepatoma humano, y se aislaron y expandieron colonias resistentes a G418. Se demostró que la línea celular 2209-23 seleccionada de forma estable contenía RNA subgenómico replicativo de VHC, y la actividad de la luciferasa de *Renilla* expresada por el replicón refleja su nivel de RNA en las células.

5 Para realizar el procedimiento del ensayo se dispusieron células con replicón de VHC y luciferasa de *Renilla* (2209-23), cultivadas en MEM de Dulbecco (GibcoBRL, núm. de cat. 31966-021) con suero fetal bovino al 5% (SFB) (GibcoBRL, núm. de cat. 10106-169), sobre placas de 96 pocillos a una concentración de 5000 células por pocillo, y se incubaron durante toda la noche. Veinticuatro horas más tarde se añadieron diferentes diluciones de compuestos 10 química las células en el medio de cultivo, que a continuación se siguieron incubando a 37°C durante tres días. El ensayo se llevó a cabo en duplicados de placas, una en blanco opaco y otro en transparente, con el fin de medir en paralelo la actividad y citotoxicidad de un compuesto químico asegurando de este modo que la actividad observada no se debe a una reducción de la proliferación celular.

15 Al finalizar el tiempo de incubación, las células de la placa blanca se recogieron y se midió la actividad luciferasa utilizando el sistema de ensayo con indicador Dual-Luciferase® (Promega, núm. de cat. E1960). Todos los reactivos descritos en el párrafo siguiente se incluyeron en el equipo del fabricante, y se siguieron las instrucciones del fabricante para la preparación de los reactivos. En resumen, las células, previamente a la incubación a temperatura ambiente durante 20 min, se lavaron dos veces con 200  $\mu$ l de 1x tampón de lisis pasiva. A cada pocillo se le añadieron 100  $\mu$ l 20 de reactivo LAR II. A continuación se insertó la placa en el luminómetro de microplacas LB96V (MicroLumatPlus, Berthold), y el aparato inyectó 100  $\mu$ l de reactivo *Stop & Glo* en cada pocillo midiendo la señal con un programa de medición en 10 segundos con desfase de 2 s. La  $CI_{50}$ , la concentración del fármaco necesaria para reducir el nivel de replicón en un 50% en relación con el valor control de las células no tratadas, se puede calcular a partir del gráfico de la reducción de porcentaje de la actividad luciferasa frente a la concentración de fármaco.

25 Para el ensayo de citotoxicidad se utilizó el reactivo WST-1 de Roche Diagnostics (núm. de cat. 1644807). A cada pocillo, incluidos aquellos blancos que contenían exclusivamente medio de cultivo, se le añadieron 10  $\mu$ l de reactivo WST-1. Entonces se incubaron las células durante 1 a 1,5 horas a 37°C y se midió el valor de DO en un lector de placas de 96 pocillos a 450 nm (filtro de referencia a 650 nm). De nuevo, se puede calcular la  $CI_{50}$ , la concentración 30 del fármaco necesaria para reducir la proliferación celular en un 50% en relación al valor control de células no tratadas, a partir del gráfico de la reducción de porcentaje del valor de WST-1 frente a la concentración de fármaco.

## *Ensayo de la polimerasa NS5B del VHC (ensayo de la proteína no estructural 5B de la RNA polimerasa dependiente de RNA del Virus de la Hepatitis C)*

35 Con la finalidad de establecer el mecanismo de acción de la 2'-desoxi-2'-fluorocitidina se midió la actividad de los 5'-O-trifosfatos frente a la enzima RNA polimerasa dependiente de RNA NS5B del VHC. Para este procedimiento se utilizó la polimerasa NS5B completa con un marcador 6 histidina en el extremo C-terminal (Lohmann V, Herian U y Bartenschlager R. J Virol. 1997;71(11):8416).

40 Las mezclas de reacción con concentraciones finales de ácido N-2-hidroxietilpiracina-N'-2-etanosulfónico (HE-PES) 40 mM a pH 8,0, ditiotreitol (DTT) 4 mM, acetato de magnesio 4 mM, molde Poli(rI):Oligo(dC)<sub>16</sub> (0,1 mg:0,01 mg; hibridado calentando una mezcla de 5 ml de 0,1 g/ml de Poli(rI) y 5 ml de 10 mg/ml de Oligo(dC)<sub>16</sub> a 95°C durante 5 min y enfriando a continuación a 30°C durante 20 min) y [<sup>3</sup>H]-citidina 5'-trifosfato 500 mM ([<sup>3</sup>H]-CTP; actividad específica 740 GB q/mmol) (Amersham Pharmacia Biotech) en un volumen de 35  $\mu$ l se incubaron con soluciones acuosas de 5  $\mu$ l de nucleósido trifosfato y se dejaron durante 5 min a temperatura ambiente. Normalmente 45 se utilizaron diluciones de diez compuestos para cada determinación de CI50. Se añadieron 10  $\mu$ l de una solución de 5  $\mu$ g/ml de polimerasa NS5B de VHC y se incubó la mezcla durante 2 horas a 30°C. En cada ensayo se incluyeron controles positivos sin ningún compuesto y controles positivos sin ninguna enzima.

50 Las reacciones se terminaron mediante la adición de 50  $\mu$ l de ácido tricloroacético al 20% (v/v) seguida de incubación a 4°C durante 30 minutos. Tras la filtración, el lavado con porciones de 200  $\mu$ l de ácido tricloroacético al 10% (v/v) tres veces y con porciones de 200  $\mu$ l de etanol al 70% (v/v) tres veces, y el secado, se cuantificó el producto de reacción mediante la adición de 25  $\mu$ l de cóctel de centelleo (Ecoscint A adquirido de National Diagnostics) seguida 55 del recuento por centelleo.

La concentración de compuesto ( $CI_{50}$ ) necesaria para reducir la incorporación de [<sup>3</sup>H]-CTP en un 50% en relación al control que no contiene ningún compuesto se calculó a partir de un gráfico de la respuesta radiactiva frente a la concentración de nucleósido trifosfato.

60 En el ensayo del Replicón de VHC los compuestos de las fórmulas I presentan un margen de actividad que abarca desde una  $CI_{50}$  de 0,01 aprox. hasta 100  $\mu$ M aprox., siendo los compuestos preferidos aquellos cuyo margen de actividad oscila entre 0,01 aprox. y 50  $\mu$ M aprox., más preferiblemente entre 0,01 aprox. y 30  $\mu$ M aprox. y, especialmente preferidos entre 0,01 aprox. y 15  $\mu$ M aprox.

## Ensayo del Replicón del VHC

Estructura	Nombre	Cl <sub>50</sub> (μM)
	2'-Desoxi-2'-fluorocytidine	0.74
	9-(2-Desoxy-2-fluoro-β-D-ribofuranosyl)-2,6-diaminopurina	10
	2'-Desoxy-2'-fluoroguanosine	62% @ 20

## Ensayo de la RNA polimerasa dependiente de RNA NS5B del VHC

Estructura	Nombre	Cl <sub>50</sub> (μM)
	sal de 2'-desoxi-2'-fluorocitidina 5'-trifosfato de monolito	1.8

Los datos arriba expuestos demuestran que los derivados de 2'-desoxi-2'-fluoro nucleósidos de fórmula I están inhibiendo la replicación subgenómica del virus de la hepatitis C en una línea celular de hepatoma. El modo de acción se ha confirmado mediante experimentos de inhibición *in vitro* con polimerasa NS5B del VHC purificada y el derivado 5'-O-trifosfato de 2'-desoxi-2'-fluorocitidina. Por lo tanto, los compuestos de fórmula I tienen el potencial de ser eficaces como fármacos antivirales para el tratamiento de infecciones del VHC en humanos, o son metabolizados en compuestos que muestran esta actividad.

La administración del compuesto activo (derivados de 2'-desoxi-2'-fluoro nucleósido) proporcionado por la presente invención, así como sus sales farmacéuticamente utilizables, se pueden usar como medicamentos en cualquier tipo de formulación farmacéutica; p. ej. oral, tópica, parenteral (o técnicas de inyección intrasternal o de infusión); p. ej. en forma de soluciones inyectables o nasalmente; p. ej. en forma de vaporizadores nasales o vaporizadores de inhalación, en forma tópica y similares, administración intramuscular, intravenosa, subcutánea, transdérmica (que

puede incluir un agente potenciador de la penetración del fármaco), bucal y en supositorios. La administración puede consistir en desde un goteo intravenoso continuo hasta varias dosis orales por día (por ejemplo, cuatro veces al día). Además, la formulación farmacéutica puede administrarse de forma entérica; tanto por vía oral en forma, p. ej., de comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas, cápsulas de gelatina dura o blanda, soluciones, emulsiones, jarabes o suspensiones; o de forma rectal, p. ej. en forma de supositorios.

Para la fabricación de preparaciones farmacéuticas, los derivados de 2'-desoxi-2'-fluoro nucleósido, así como sus sales farmacéuticamente aceptables, se pueden formular con un excipiente terapéuticamente inerte, inorgánico u orgánico para la producción de comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas, cápsulas de gelatina dura o blanda, soluciones, emulsiones o suspensiones.

A modo de ejemplo, se contempla la posibilidad de formular los compuestos de acuerdo con la presente invención mezclados con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden administrarse por vía oral en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Dado que los compuestos de la presente invención son en su mayor parte hidrosolubles, estos se pueden administrar por vía intravenosa en solución salina fisiológica (p. ej., tamponado a un pH de aprox. entre 7,2 y 7,5). Con esta finalidad es posible utilizar tampones convencionales como fosfatos, bicarbonatos o citratos. Es evidente que un experto en la materia puede modificar las formulaciones dentro de las directrices de la especificación para obtener numerosas formulaciones para una vía de administración en particular sin convertir las composiciones de la presente invención en inestables o comprometer su actividad terapéutica. En concreto, la modificación de los presentes compuestos para convertirlos en más hidrosolubles o más solubles en otro vehículo, por ejemplo, se puede conseguir fácilmente mediante pequeñas modificaciones (formulación de sal, esterificación, etc.) que se encuentran perfectamente dentro de las técnicas habituales en el campo. Lo mismo sucede con la modificación de la vía de administración y el régimen de dosis de un compuesto en particular para controlar la farmacocinética de los presentes compuestos y así conseguir un efecto beneficioso máximo en los pacientes.

En el caso de las formulaciones parenterales, el vehículo normalmente consistirá en agua estéril o solución acuosa de cloruro sódico, aunque se pueden tener en cuenta otros ingredientes, incluidos aquellos que facilitan la dispersión. Es evidente que en los casos en que se deba utilizar agua estéril y se deba mantener esa condición, las composiciones y los vehículos también deben esterilizarse. También es posible preparar suspensiones inyectables, en cuyo caso se pueden utilizar los vehículos líquidos, agentes de suspensión o similares adecuados.

Los excipientes apropiados para comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas y cápsulas de gelatina dura o blanda son, por ejemplo, los siguientes: lactosa, almidón de maíz o derivados del mismo, talco y ácido esteárico o sales del mismo.

Si se desea, los comprimidos o las cápsulas pueden ser de recubrimiento entérico o de liberación sostenida mediante técnicas estándar.

Los excipientes adecuados para cápsulas de gelatina blanda son, por ejemplo, aceites vegetales, ceras, grasas o polioles semisólidos o líquidos.

Los excipientes adecuados para soluciones inyectables son, por ejemplo, agua, solución salina, alcoholes, polioles, glicerina o aceite vegetales.

Los excipientes adecuados para supositorios son, por ejemplo, aceites naturales e hidrogenados, ceras, grasas o polioles semisólidos o líquidos.

Los excipientes adecuados para soluciones y jarabes de uso entérico son, por ejemplo, agua, polioles, sacarosa, azúcar invertido o glucosa.

Las preparaciones farmacéuticas de la presente invención también se pueden proporcionar en forma de formulaciones de liberación sostenida u otras formulaciones apropiadas.

Las preparaciones farmacéuticas también pueden contener conservantes, solubilizantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, edulcorantes, colorantes, aromatizantes, sales para el ajuste de la presión osmótica, tampones, agentes enmascarantes o antioxidantes.

Las preparaciones farmacéuticas también pueden contener otros agentes terapéuticamente activos conocidos en el campo.

La posología puede variar según un gran margen y debe por supuesto ajustarse a las necesidades individuales en cada caso particular. Para la administración oral una dosis apropiada en monotratamiento o en tratamiento combinado sería una dosis diaria de entre unos 0,01 y unos 1000 mg/kg de peso corporal. Una dosis diaria preferida está entre unos 0,1 y unos 500 mg/kg de peso corporal, una más preferida entre 0,1 y unos 100 mg/kg de peso corporal y la más preferida entre 1,0 y unos 100 mg/kg de peso corporal. Una preparación habitual contiene desde un 5% a un 95% de compuesto activo (p/p). La dosis diaria puede administrarse en una dosis única o en dosis fraccionadas, comúnmente entre 1 y 5 dosis al día.

# ES 2 272 732 T3

Debe entenderse que la referencia que aquí se hace al tratamiento son extensibles a la profilaxis y al tratamiento de trastornos existentes, y que el tratamiento de animales incluye el tratamiento de humanos así como de otros mamíferos. Además, el término "tratamiento de una infección por el virus de la hepatitis C (VHC)", tal como aquí se utiliza, incluye el tratamiento o la profilaxis de una enfermedad o un trastorno asociados a una infección por el virus de la hepatitis C (VHC) o en los que éste interviene, o también los síntomas clínicos de los mismos.

Los compuestos de la presente invención son ampliamente conocidos en el campo y se pueden preparar mediante métodos conocidos, especialmente del modo que se describe a continuación:

10 Ejemplo 1

La 2'-Desoxi-2'-fluorocitidina puede adquirirse de Sigma-Aldrich Company Ltd., Núm. de Cat. F8883, o preparada mediante métodos conocidos, como por ejemplo a partir de 2,2'-O-anhidrocitidina del modo descrito por Mengel R y Guschlbauer W. *Angew Chemie Intl Ed.* 1978;17:525.

15 Ejemplo 2

La 9-(2-Desoxi-2-fluoro- $\beta$ -D-ribofuranosil)-2,6-diami-nopurina puede prepararse según el método de Thomas HJ, *et al.* *Nucleosides and Nucleotides.* 1994;13:309.

20 Ejemplo 3

La 2'-Desoxi-2'-fluoroguanosina puede prepararse según el método de Ross BS, *et al.* *Nucleosides and Nucleotides.* 1997;16:1645.

25 Ejemplo 4

El derivado 5'-O-trifosfato de la 2'-desoxi-2'-fluorocitidina puede adquirirse en Trilink BioTechnologies Inc., Núm. de Cat. N-1008-1, o prepararse mediante métodos conocidos como por ejemplo el descrito por Burgess K y Cook D. *Chemical Reviews.* 2000;100:2047.

Slotin LA ha revisado en *Synthesis.* 1977;737, los métodos para la monofosforilación de compuestos orgánicos, incluidos los nucleósidos. Más recientemente se han descrito otros procedimientos de fosforilación nucleosídica: Uchiyama M, *et al.* *J Org Chem.* 1993;58:373; Caputo R, *et al.* *Synlett.* 1997;739 y Taktakishvili M y Nair V. *Tet Lett.* 2000;41:7173. Otros procedimientos de monofosforilación útiles para nucleósidos están descritos por McKenna CE y Schmidhauser J. *J Chem Soc, Chem Commun.* 1979;739 y Stowell JK y Widlanski TS, *Tet Lett.* 1995;1825. La síntesis de derivados di y trifosfato está revisada en Scheit KH. *Nucleotide Analogues.* Wiley Interscience. 1980 y en Burgess K y Cook D. *Chemical Reviews.* 2000;100:2047.

40 Los compuestos representados por la fórmula I pueden prepararse siguiendo cualquiera de los métodos conocidos en el campo para la preparación de derivados similares de 2'-fluoronucleósidos. Véase, por ejemplo, Herdewijn P, *et al.* *Nucleosides and Nucleotides.* 1989;8:65 o Hayakawa H, *et al.* *Chem Pharm Bull.* 1990;38:1136 y en particular Mengel R y Guschlbauer W. *Angew Chemie Intl Ed.* 1978;17:525 o Thomas HJ, *et al.* *Nucleosides and Nucleotides.* 1994;13:309 o Ross BS, *et al.* *Nucleosides and Nucleotides.* 1997;16:1645.

45 Estos métodos pueden adaptarse para la síntesis de los estereoisómeros representados por la fórmula I, por ejemplo L-nucleósidos. La síntesis general de L-nucleósidos está descrita (Wang P, *et al.* *Antiviral Research.* 1998;40:19; Moyroud E y Strazewski P. *Tetrahedron.* 1999;55:1277). Es posible introducir un sustituyente 2'-fluoro mediante los métodos descritos anteriormente para los análogos de D-nucleósido correspondientes en las referencias comentadas.

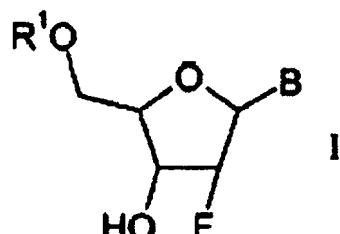
50 En el caso de que la síntesis del compuesto de fórmula I emplee una reacción de condensación de una base púrica o pirimidínica con un derivado de 2-fluoro-furanosa protegido de forma adecuada, como el descrito por Thomas HJ, *et al.* *Nucleosides and Nucleotides.* 1994;13:309, con frecuencia dará lugar a mezclas de derivados de nucleósidos anoméricos. Los nucleósidos  $\alpha$  y  $\beta$  pueden separarse mediante técnicas estándar bien conocidas como son la recristalización, la cromatografía en columna, la cromatografía líquida de alta resolución y la cromatografía fluida supercrítica.

55 A partir de las siguientes referencias es posible obtener información adicional sobre la preparación de los compuestos de fórmula I o I-a: WO 99/43691, WO 98/161184, Wagner CR, *et al.* *Medicinal Research Reviews.* 2000;20 (6):417 o Jones R y Bischofberger N. *Antiviral Research.* 1995;27:1).

## REIVINDICACIONES

1. La utilización de los compuestos de fórmula I

5

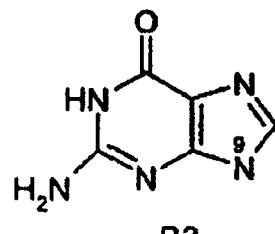
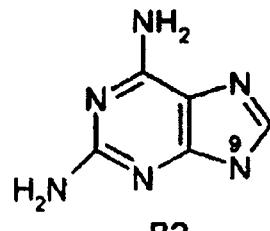
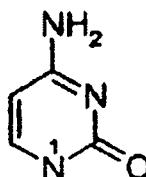


en la que

20 R¹ es hidrógeno o fosfato y

B significa un residuo 1-pirimidinilo o 9-purinilo de fórmulas B1, B2 o B3

25



35

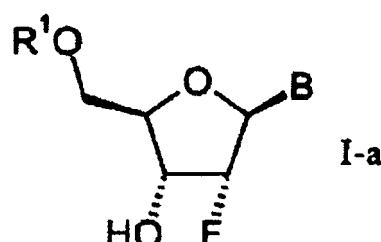
con la condición de que si R¹ es hidrógeno, B no sea B3;

40 y de sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento o la profilaxis de infecciones por el virus de la hepatitis C (VHC).

2. La utilización de compuestos como los descritos en la reivindicación 1, en la que los compuestos son  $\beta$ -D o  $\beta$ -L ribofuranósidos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

45 3. La utilización de los compuestos descritos en las reivindicaciones 1 o 2 de fórmula I-a

50



en la que R¹ y B son los definidos en la reivindicación 1,

60

y de la sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

65 4. La utilización de los compuestos de fórmula I o I-a descritos en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en los que

65

R¹ es como se ha definido anteriormente y B corresponde a 1-pirimidinilo,

y de sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

ES 2 272 732 T3

5. La utilización de un compuesto de fórmula I o I-a descrito en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, siendo el compuesto

2'-desoxi-2'-fluorocitidina,

5 9-(2-desoxi-2-fluoro- $\beta$ -D-ribofuranosil)2,6-diaminopurina,

2'-desoxi-2'-fluoroguanosina

10 o sal de 2'-desoxi-2'-fluorocitidina 5'-O-trifosfato de monolitio.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65