

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-534769

(P2004-534769A)

(43) 公表日 平成16年11月18日(2004. 11. 18)

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 31/7068

A 6 1 K 31/7068

4 C O 5 7

A 6 1 K 31/7076

A 6 1 K 31/7076

4 C O 8 6

A 6 1 K 31/712

A 6 1 K 31/712

A 6 1 P 1/16

A 6 1 P 1/16

A 6 1 P 31/14

A 6 1 P 31/14

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 39 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2002-591006 (P2002-591006)  
 (86) (22) 出願日 平成14年5月15日 (2002. 5. 15)  
 (85) 翻訳文提出日 平成15年11月25日 (2003. 11. 25)  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2002/005340  
 (87) 国際公開番号 W02002/094289  
 (87) 国際公開日 平成14年11月28日 (2002. 11. 28)  
 (31) 優先権主張番号 0112617.6  
 (32) 優先日 平成13年5月23日 (2001. 5. 23)  
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

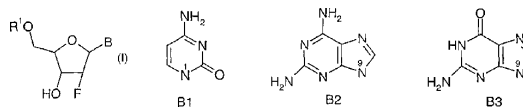
(71) 出願人 591003013  
 エフ. ホフマン-ラ ロシュ アーゲー  
 F. HOFFMANN-LA ROCH  
 E AKTIENGESELLSCHAFT  
 スイス・シーエイチ-4070バーゼル・  
 グレンツアーヘルストラッセ124  
 (74) 代理人 100078662  
 弁理士 津国 肇  
 (74) 代理人 100075225  
 弁理士 篠田 文雄

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗ウイルスヌクレオシド誘導体

## (57) 【要約】

本発明は、C型肝炎ウイルス感染の治療または予防において使用するためのヌクレオシド誘導体に関するものである。具体的には、本発明は、公知の2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド誘導体、およびC型肝炎ウイルス(HCV) RNA複製の阻害剤としてのその使用、およびそのような化合物の医薬組成物に関する。本発明の化合物は、HCV感染の治療のための治療剤としての使用の可能性を有する。本発明は、R<sup>1</sup>が、水素またはホスフェートであり、Bが、式B1、B2、B3で示される1-ピリミジニルまたは9-プリンリ残基を表す、式Iで示される2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド誘導体および薬学的に許容し得るその塩の、C型肝炎ウイルス(HCV)により媒介される疾患の処置またはそのような処置のための医薬の製造のための使用を記載している。

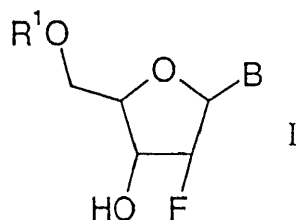


## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

式 I :

## 【化 1】



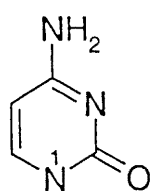
10

(式中、

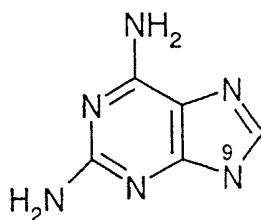
R<sup>1</sup>は、水素またはホスフェートであり、

Bは、式 B 1、B 2 または B 3 :

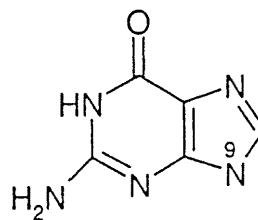
## 【化 2】



B1



B2



B3

20

で示される 1 - ピリミジニルまたは 9 - プリニル残基を示す)

で示される化合物および薬学的に許容し得るその塩の、C 型肝炎ウイルス (HCV) が媒介する疾患の処置のための、またはそのような処置のための医薬の製造のための使用。

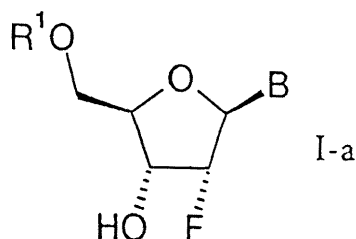
## 【請求項 2】

化合物が、 - D または - L リボフラノシドおよび薬学的に許容し得るその塩である、請求項 1 記載の化合物の使用。

## 【請求項 3】

式 I - a :

## 【化 3】



40

(式中、

R<sup>1</sup>および B は、請求項 1 に定義したとおりである)

で示される請求項 1 または 2 記載の化合物および薬学的に許容し得るその塩の使用。

## 【請求項 4】

R<sup>1</sup>が、上記定義のとおりであり、B が、1 - ピリミジニルを示す、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項記載の、式 I または I - a の化合物、および薬学的に許容し得るその塩の使用。

## 【請求項 5】

化合物が、

2 - デオキシ - 2 - フルオロシチジン、

9 - (2 - デオキシ - 2 - フルオロ - - D - リボフラノシル) - 2 , 6 - ジアミノプリ 50

ン、

2 - デオキシ - 2 - フルオログアノシン、または

2 - デオキシ - 2 - フルオロシチジン 5 - O - トリホスフェートモノリチウム塩である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項記載の式 I または I - a の化合物の使用。

【請求項 6】

C 型肝炎ウイルス (HCV) が媒介する疾患の処置のための、またはそのような処置のための医薬の製造のための、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項記載の化合物または薬学的に許容し得るその塩。

【請求項 7】

C 型肝炎ウイルス (HCV) が媒介する疾患の処置のための、またはそのような処置のための医薬の製造のための、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項記載の、式 I もしくは I - a の化合物または薬学的に許容し得るその塩の薬学的に効果的な量に基づく、医薬組成物。

【請求項 8】

C 型肝炎ウイルス (HCV) が媒介する疾患の処置のための、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項記載の、式 I もしくは I - a の化合物または薬学的に許容し得るその塩の薬学的に効果的な量に基づく医薬組成物の使用。

【請求項 9】

本明細書記載の発明。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、C 型肝炎ウイルス感染の治療または予防に使用するためのヌクレオシド誘導体に関する。具体的には、本発明は、公知の 2 - デオキシ - 2 - フルオロヌクレオシド誘導体、並びに C 型肝炎ウイルス (HCV) RNA 複製の阻害剤およびそのような化合物の医薬組成物としての使用に関する。本発明の化合物は、HCV 感染の治療のための治療剤としての潜在的用途を有する。

【背景技術】

【0002】

C 型肝炎ウイルスは、全世界において慢性肝疾患の第一原因となっている。HCV に感染した患者は、肝硬変およびそれに続く肝細胞癌を発症する危険にあり、したがって、HCV は、肝移植の主要な適応症である。2 種の承認治療法のみが、現在、HCV 感染の処置に利用し得る (R. G. Gish, Sem. Liver. Dis., 1999, 19, 35)。これらは、インターフェロン - 単独療法、およびさらに最近では、ヌクレオシドアナログであるリバビリン (Virazole) とインターフェロン - の併用療法である。

【0003】

C 型肝炎ウイルスは、フラビリダ属 (Flaviridae) に属する。それは、RNA ウイルスであり、その大きなポリタンパク質をコードしている RNA ゲノムは、プロセシングの後、必要な複製メカニズムを産生し、子孫 RNA の合成を確実に行う。HCV RNA ゲノムによりコードされる非構造タンパク質のほとんどが、RNA 複製に関与すると考えられている。Lohmann et al. [V. Lohmann et al., Science, 1999, 285, 110-113] は、サブゲノム HCV RNA 分子を導入し、高い効率で複製することが明らかにされている、ヒト肝細胞癌 (Hu h7) 細胞株の構築を記載している。これらの細胞株における RNA 複製のメカニズムは、感染した肝細胞における完全長 HCV RNA ゲノムの複製と同一であると考えられている。これらの細胞株の単離に使用されるサブゲノム HCV cDNA クローンは、HCV 複製のヌクレオシドアナログ阻害剤を同定する細胞ベースのアッセイの開発の基礎を形成している。

【0004】

WO99/43691 には、2 - フルオロヌクレオシドアナログが、B 型肝炎感染、C 型肝炎感染、HIV、ならびに腫瘍および癌などの異常細胞増殖の処置に有用なことが記載されている。2 - デオキシ - 2 - フルオロリボヌクレオシド誘導体は、具体的には記載されて

10

20

30

40

50

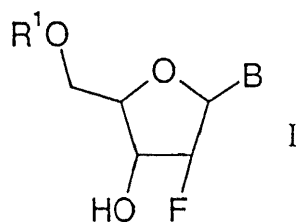
いない。

【 0 0 0 5 】

本発明は、式 I :

【 0 0 0 6 】

【 化 4 】



10

【 0 0 0 7 】

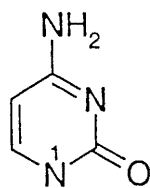
( 式中、

R<sup>1</sup> は、水素またはホスフェートであり、

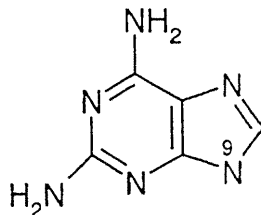
B は、式 B 1、B 2 または B 3 :

【 0 0 0 8 】

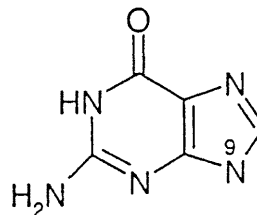
【 化 5 】



B1



B2



B3

20

【 0 0 0 9 】

で示される 1 - ピリミジニルまたは 9 - プリニル残基を示す)

で示される 2 - デオキシ - 2 - フルオロヌクレオシド誘導体および薬学的に許容し得るそれらの塩の、C 型肝炎ウイルス (HCV) により媒介される疾患の処置のための、またはそのような処置のための医薬の製造のための使用を記載している。

30

【 0 0 1 0 】

本明細書で R<sup>1</sup> について使用する用語「ホスフェート」は、式 - [ P ( = O ) ( O H ) O ]<sub>n</sub> H ( 式中、n は、1、2 および 3 から選択される整数である ) で示されるモノホスフェート、ジホスフェートまたはトリホスフェート基を示す。R<sup>1</sup> 中のホスフェートは、好ましくはモノホスフェート基である。用語「ホスフェート」は、安定化させたモノホスフェートプロドラッグ、または in vivo 投与された場合に、R<sup>1</sup> がモノホスフェートである化合物を与え得る、薬学的に許容し得る他の脱離基をさらに含む。これらの「プロヌクレオチド」は、親ヌクレオチドの活性、バイオアベイラビリティまたは安定性などの性質を改良し得る。

40

【 0 0 1 1 】

モノホスフェート部分の水素の 1 つ以上を置き換え得る置換基の例は、C. R. Wagner et al Medicinal Research Reviews, 2000, 20 (6), 417 または R. Jones and N. Bischofberger, Antiviral Research 1995, 27, 1 に記載されている。このようなプロヌクレオチドとして、アルキルおよびアリールホスホジエステル、ステロイドホスホジエステル、アルキルおよびアリールホスホトリエステル、環状アルキルホスホトリエステル、シクロサリゲニル (CycloSal) ホスホトリエステル、S - アシル - 2 - チオエチル (SATE) 誘導体、ジチオエチル (DTE) 誘導体、ピバロイルオキシメチルホスホエステル、パラ - アシルオキシベンジル (PAOB) ホスホエステル、グリセロリピドホスホジエステル、グリコシルリピドホスホトリエステル、ジヌクレオシジルホスホジエステル、ジヌクレオシ

50

ドホストリエステル、ホスホロジアミデート環状ホスホルアミデート、ホスホルアミデートモノエステルおよびホスホルアミデートジエステルがあげられる。

【0012】

本発明は、*in vivo*で、 $R^1$ が水素である式Iの化合物に変換される親ヌクレオシドのプロドラッグもしくは生物前駆体または生理学的に許容し得るそれらの塩も含む。好ましいプロドラッグ誘導体は、エステル基の非カルボニル部分が、直鎖または分岐アルキル（例えば、メチル、*n*-プロピル、*n*-ブチルまたは*tert*-ブチル）、アルコキシアルキル（例えば、メトキシメチル）、アラキル（例えば、ベンジル）、アリールオキシアルキル（例えば、フェノキシメチル）、アリール（例えば、場合によりハロゲン、 $C_{1-4}$ アルキルもしくは $C_{1-4}$ アルコキシまたはアミノで置換されたフェニル）；アルキルスルホニルまたはアリールスルホニル（例えば、メタンスルホニル）などのスルホネートエステル；アミノ酸エステル（例えば、*L*-バリルまたは*L*-イソロイシル）から選択される、3-または5-ヒドロキシル基のカルボン酸エステル誘導体、または薬学的に許容し得るそれらの塩を含む。その調製は、例えば、J. March (1992), "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure", 4<sup>th</sup> ed. John Wiley & Sonsなどの有機化学の教科書から公知にされている方法など、当分野において公知の方法により、実施される。

10

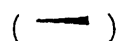
【0013】

本明細書中に記載の化合物を図で示す際、太字の先細り線

【0014】

20

【化6】



【0015】

は、環の平面の上方にある置換基を示し、点線

【0016】

【化7】



30

【0017】

は、環の平面の下方にある置換基を示す。

【0018】

本発明の化合物は、立体異性性を示し、したがって、炭素原子が、*S*、*R*または*R*，*S*配置を有する化合物を含む。本発明の化合物は、式Iの化合物のあらゆる異性体、またはそれらの異性体の混合物であり得る。1個以上の不斉炭素原子を有する本発明の化合物および中間体は、所望の立体配置を有する所与の立体異性体または純粋なエナンチオマーを得るために公知の立体特異的方法によって、本発明の方法の適当な工程において、分割することができる立体異性体の混合物として得てもよい。あるいは、所望の異性体を、当分野で公知の方法により直接合成してもよい。

40

【0019】

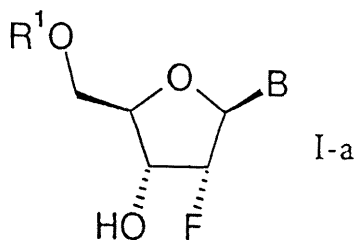
本発明の好ましい実施態様においては、リボフラノシドは、 $\alpha$ -D、 $\beta$ -D、 $\alpha$ -Lまたは $\beta$ -Lリボフラノシル環、より好ましくは $\alpha$ -Dまたは $\beta$ -Lリボフラノシル環、そして最も好ましくは $\alpha$ -Dリボフラノシル環である。

【0020】

本発明の化合物の好ましい相対的配置は、式I-a：

【0021】

【化8】



## 【 0 0 2 2 】

( 式中、

10

R<sup>1</sup>および B は、上記定義のとおりである )

のもの、および薬学的に許容し得るそれらの塩である。

## 【 0 0 2 3 】

式 I の化合物は、互変異性を示し ( J. March (1992), "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure", 4<sup>th</sup> ed. John Wiley & Sonsなどの有機化学の教科書から公知 )、これは、本発明の化合物が、容易な相互変換可能な 2 つ以上の化学化合物として存在し得ることを意味する。多くの場合、それは単に、いずれとも共有結合を形成する、2 つの他の原子間の 1 つの水素原子の交換を意味する。互変異性化合物は、互いに動的に平衡して存在するため、個別の物質として調製しようとする、通常、成分の構造に基づいて予測される化学的および物理的性質のすべてを示す、混合物を形成すること

20

## 【 0 0 2 4 】

互変異性の最も一般的なタイプは、カルボニルもしくはケト化合物、および不飽和ヒドロキシ化合物、またはエノールに関するものである。構造の変化は、炭素原子と酸素原子との間の水素原子の移動であって、結合の再配列を伴う。

## 【 0 0 2 5 】

例えば、アセトアルデヒドなどの、多くの脂肪族アルデヒドおよびケトンにおいて、ケト型が優勢な型であり、フェノールでは、エノール型が主要成分である。中間的状況は、例えば、エチルアセトアセテートに代表される。これは、室温において、約 92 . 4 % ケトおよび 7 . 6 % エノールを含有し、- 78 ° では、二形態の相互変換が、個々の物質を単

30

## 【 0 0 2 6 】

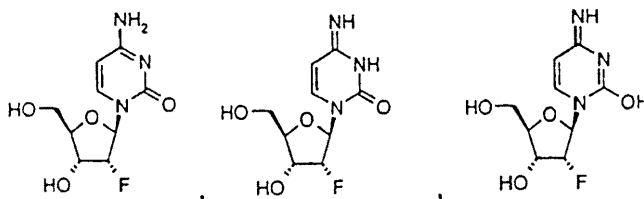
本発明の範囲内において、式 I の化合物が、様々な互変異性形態で存在し、それらが本発明に包含されることは、理解されるであろう。

好ましい互変異性形態を以下に図示する：

2 - デオキシ - 2 - フルオロシチジン：

## 【 0 0 2 7 】

## 【 化 9 】



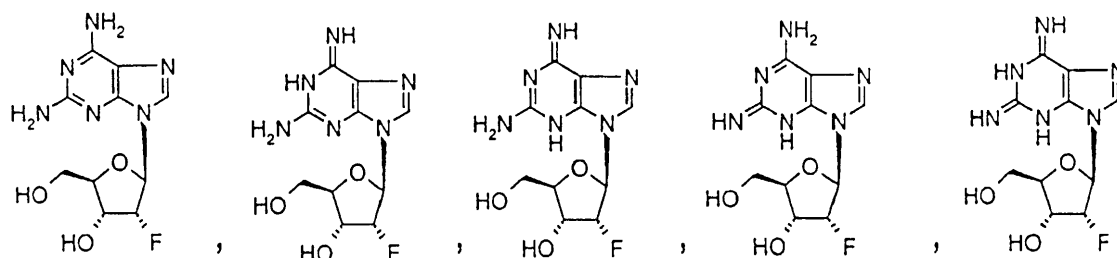
40

## 【 0 0 2 8 】

2 - アミノ - 2 - デオキシ - 2 - フルオロアデノシン：

## 【 0 0 2 9 】

## 【 化 1 0 】



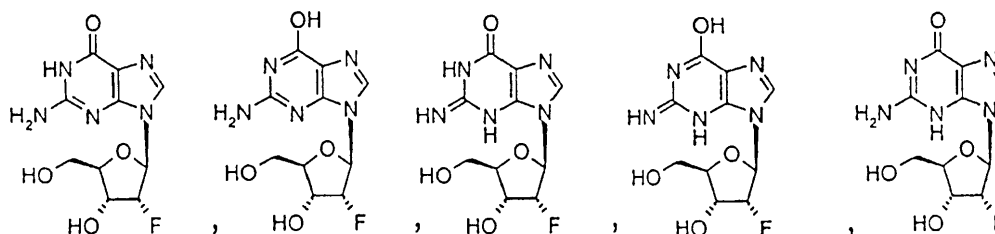
【 0 0 3 0 】

2 - デオキシ - 2' - フルオログアノシン :

10

【 0 0 3 1 】

【 化 1 1 】



20

【 0 0 3 2 】

好ましくは、上記化合物は、最初に図示された形態で存在する。

【 0 0 3 3 】

塩基性の式 I の化合物は、ハロゲン化水素酸（例えば、塩酸、および臭化水素酸）、硫酸、硝酸およびリン酸などの無機酸、および有機酸（例えば、酢酸、酒石酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、リンゴ酸、サリチル酸、クエン酸、メタンスルホン酸および p - トルエンスルホン酸など）と薬学的に許容し得る塩を形成することができる。そのような塩の形成および単離は、当分野に公知の方法で行うことができる。酸性の式 I の化合物は、アルカリ金属（例えば、リチウム、ナトリウム、カリウム）、アルカリ土類金属（例えば、カルシウム、マグネシウム）、アンモニウムまたは  $NX_4^+$ （X は、 $C_{1-4}$  アルキル、好ましくはメチルまたはエチル、より好ましくはメチル）などの適切な塩基から誘導される、薬学的に許容し得る塩基塩を形成することができる。

30

【 0 0 3 4 】

本発明の好ましい実施態様は、 $R^1$  が、上記定義のとおりであり、B が、1 - ピリミジニルを示す、上記定義通りの式 I または式 I - a で示される化合物、および薬学的に許容し得るそれらの塩の使用である。

【 0 0 3 5 】

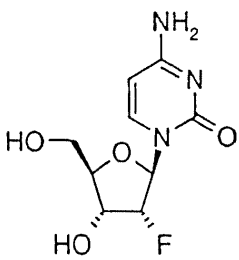
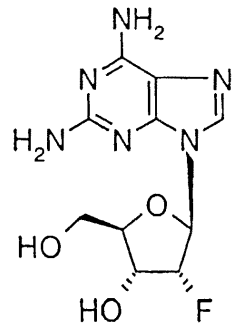
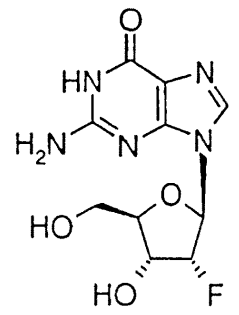
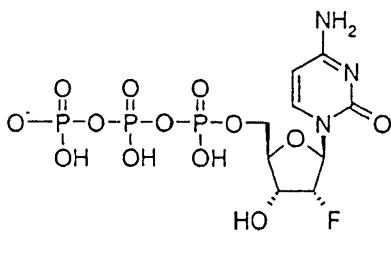
C 型肝炎ウイルス（HCV）により媒介される疾患の処置における使用のための、またはそのような処置のための医薬を製造するための使用のための、式 I で示される化合物のより好ましい実施態様を、表 1 に示す（以下参照）：

40

【 0 0 3 6 】

【 表 1 】

表 1

実施例	構造	名称
1		2'-デオキシ-2'-フルオロシチジン
2		9-(2'-デオキシ-2'-フルオロ-β-D-リボフラノシル)- 2,6-ジアミノプリン
3		2'-デオキシ-2'-フルオログアニシン
4		2'-デオキシ-2'-フルオロシチジン 5'-O- トリホスフェートモノリチウム塩

10

20

30

40

50

【 0 0 3 7 】

アッセイ方法

2'-デオキシ-2'-フルオロシチジンの活性を、Lohmann et al [V. Lohmann et al., Science, 1999, 285, 110-113]により報告された方法の応用を用いて測定した。

【 0 0 3 8 】

HCVレプリコンアッセイ

HCVレプリコンを含む細胞株を用いて、2'-デオキシ-2'-フルオロシチジンが、細胞中のHCVレプリコンRNAの複製を阻害する能力を示した。レプリコンRNAの複製は、感染肝細胞中のHCV RNAの複製を模倣するので、上記性質を有するそれらの小分子は、抗HCV薬としてさらに開発するのに興味深いと考えられる。

【 0 0 3 9 】



H C V レプリコン R N A の複製の阻害は、細胞中のレプリコン R N A の減少につながり、それは、この R N A を特異的に定量する方法を用いて測定することができる。

#### 【 0 0 4 0 】

このアッセイは、レポーターを細胞内 H C V レプリコン R N A レベルの単純な読み出しとして用いるという考えに基づいている。この目的で、ウミシイタケ (Renilla) ルシフェラーゼ遺伝子を、レプリコン構築物 N K 5 . 1 の第一のオープンリーディングフレーム内、配列内リボゾーム侵入部位 (internal ribosome entry site: IRES) 配列のすぐ後ろに導入し (Krieger et al., J. Virol. 75: 4614)、口蹄疫ウイルスからの自己切断ペプチド 2 A を介して、ネオマイシンホスホトランスフェラーゼ (N P T I I) 遺伝子に融合させた (Ryan & Drew, EMBO Vol 13: 928-933)。In vitro 転写の後、R N A をヒト肝細胞 H u h 7 細胞に電気穿孔法により導入し、G 4 1 8 耐性コロニーを単離し、増殖させた。安定に選択された細胞株 2 2 0 9 - 2 3 が、複製可能な H C V サブゲノム R N A を含有することが明らかにされ、レプリコンにより発現されたウミシイタケルシフェラーゼの活性は、細胞内の R N A レベルを反映した。

10

#### 【 0 0 4 1 】

アッセイ手順では、5 % 胎児ウシ血清 (F C S) (Gibco BRL カタログ番号 10106-169) を含むダルベッコ M E M (Gibco BRL カタログ番号 31966-021) 中で培養したウミシイタケルシフェラーゼ H C V レプリコン細胞 (2 2 0 9 - 2 3) を、9 6 ウエルプレート上にウエル当たり 5 0 0 0 細胞で播種し、一晚インキュベートした。2 4 時間後、化合物の増殖培地中への各種希釈物を細胞に添加し、その後さらに 3 7 °C で 3 日間インキュベートした。化合物の活性および細胞毒性を並行して測定し、観察された活性が細胞増殖の低下によるものではないことを確認するために、アッセイは、1 枚は白濁し、1 枚が透明な 2 枚のプレートで繰り返して実施した。

20

#### 【 0 0 4 2 】

インキュベーション時間の終了時に、白色プレート中の細胞を集め、デュアル - ルシフェラーゼレポーターアッセイ系 (Promega カタログ番号 E1960) を用いて、ルシフェラーゼ活性を測定した。以下のパラグラフに記載するすべての試薬は、製造者のキットに含まれており、製造者の説明書に従って、試薬を調製した。簡潔に述べると、細胞を、1 ウエル当たり P B S (リン酸緩衝化生理食塩液; p H 7 . 0) 2 0 0  $\mu$  L で 2 回洗浄し、1  $\times$  受動溶解緩衝液 (passive lysis buffer) 2 5  $\mu$  L で溶解させ、室温で 2 0 分間インキュベートした。L A R I I 試薬 1 0 0  $\mu$  L を、各ウエルに加えた。その後プレートを L B 9 6 V マイクロプレートルミノメーター (MicroLumatPlus, Berthold) に挿入し、Stop & Glo 試薬 1 0 0  $\mu$  L を機械により各ウエルに注入し、2 秒の待機、1 0 秒の測定というプログラムを使用して信号を測定した。未処置細胞対照値との関係において、レプリコンのレベルを 5 0 % 低下させるのに要する薬物の濃度である I C <sub>50</sub> は、ルシフェラーゼ活性の低下パーセンテージ対薬物濃度のプロットから算出することができる。

30

#### 【 0 0 4 3 】

細胞毒性アッセイには、Roche Diagnostic (カタログ番号 1644807) から得られる W S T - 1 試薬を用いた。W S T - 1 試薬 1 0  $\mu$  L を、ブランクとして培地のみを含むウエルを含む各ウエルに添加した。その後、細胞を 3 7 °C で 1 ~ 1 . 5 時間インキュベートし、O D 値を、9 6 ウエルプレートリーダーにより 4 5 0 nm (6 5 0 nm の対照フィルター) で測定した。未処理細胞対照値との関係において、細胞増殖を 5 0 % 低下させるのに要する薬物の濃度である C C <sub>50</sub> は、W S T - 1 値の低下パーセンテージ対薬物濃度のプロットから算出することができる。

40

#### 【 0 0 4 4 】

H C V N S 5 B ポリメラーゼアッセイ (C 型肝炎ウイルス非構造タンパク質 5 B R N A 依存性 R N A ポリメラーゼアッセイ) :

2 - デオキシ - 2 - フルオロシチジンの作用メカニズムを確立するために、5 - O - トリホスフェートの活性を、H C V N S 5 B R N A 依存性 R N A ポリメラーゼ酵素に対して測定した。この方法のために、C 末端 6 - ヒスチジンタグを有する全長 N S 5 B

50

ポリメラーゼを使用した (V Lohmann, U Herian and R Bartenschlager J Virol, 1997, 71(11), 8416)。

【0045】

35  $\mu$ L 中、最終濃度で 40 mM N - 2 - ヒドロキシエチルピペラジン - N - 2 - エタンスルホン酸 (HEPES) pH 8.0、4 mM ジチオトレイトール (DTT)、4 mM 酢酸マグネシウム、ポリ (rI) : オリゴ (dC)<sub>16</sub> テンプレート (0.1 mg : 0.01 mg ; 0.1 mg/ml ポリ (rI) 5 ml および 10 mg/ml オリゴ (dC)<sub>16</sub> の混合物を 95 で 5 分間加熱し、その後 20 分間にわたり 30 に冷却することによりアニールさせた)、および 500 nM [<sup>3</sup>H] シチジン 5 - トリホスフェート ([<sup>3</sup>H] - CTP ; 比活性 740 GBq/mmol) (Amersham Pharmacia Biotech) を含む反応混合物をヌクレオチドトリホスフェート水溶液の 5  $\mu$ L とともにインキュベートし、室温で 5 分間放置した。通常、各 IC<sub>50</sub> の測定につき、化合物の 10 段階の希釈物を用いた。HCV NS5B ポリメラーゼの 5  $\mu$ g/ml 溶液 10  $\mu$ L を加え、混合物を 30 で 2 時間インキュベートした。化合物を含有しない陽性対照および酵素を含有しない陰性対照を、各アッセイに含めた。

10

【0046】

20% (v/v) トリクロロ酢酸 50  $\mu$ L を加え、4 で 30 分間インキュベートして、反応を終了させた。濾過し、10% (v/v) トリクロロ酢酸 200  $\mu$ L ずつで 3 回洗浄し、70% (v/v) エタノール 200  $\mu$ L ずつで 3 回洗浄して乾燥させた後、反応生成物をシンチレーションカクテル (National Diagnostics から購入の Ecoscint A) 25  $\mu$ L を加え、シンチレータで計測することにより定量した。

20

【0047】

化合物を含有しない対照に比して [<sup>3</sup>H] - CTP の取込みを 50% 低下するのに要する化合物の濃度 (IC<sub>50</sub>) を、放射活性応答対ヌクレオシドトリホスフェート濃度のプロットから算出した。

【0048】

HCV レプリコンアッセイにおいて、式 I の化合物は、IC<sub>50</sub> から、活性は約 0.01 ~ 100  $\mu$ M の範囲にあり、好ましい化合物は、約 0.01 ~ 約 50  $\mu$ M の活性範囲を有し、さらに好ましくは、約 0.01 ~ 30  $\mu$ M であり、最も好ましくは 0.01 ~ 15  $\mu$ M である。

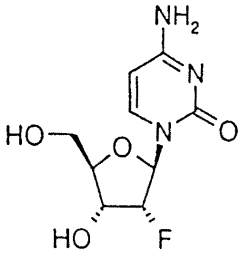
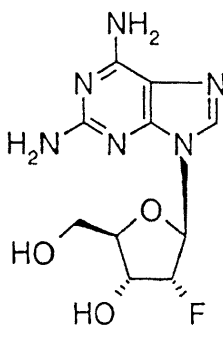
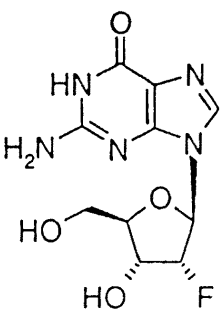
【0049】

HCV レプリコンアッセイ

30

【0050】

【表 2】

構造	名称	IC <sub>50</sub> (μM)
	2'-デオキシ-2'-フルオロシチジン	0.74
	9-(2'-デオキシ-2'-フルオロ-β-D-リボフラノシル)-2,6-ジアミノプリン	10
	2'-デオキシ-2'-フルオログアノシン	62%@20

10

20

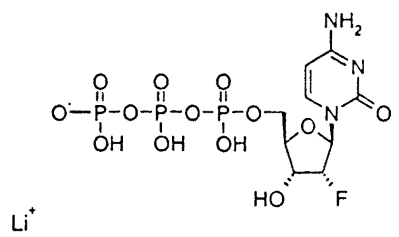
30

【 0 0 5 1 】

H C V    N S 5 B    R d R ポリメラーゼアッセイ :

【 0 0 5 2 】

【 表 3 】

構造	名称	IC <sub>50</sub> (μM)
	2'-デオキシ-2'-フルオロシチジン-5'-O-トリホスフェートモリチウム塩	1.8

40

【 0 0 5 3 】

上記データは、式 I の 2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシド誘導体が、肝細胞株においてサブゲノム C 型肝炎ウイルスの複製を阻害していることを示す。精製された H C

50

V N S 5 B ポリメラーゼおよび 2 - デオキシ - 2 - フルオロシチジンの 5 - O - トリホスフェート誘導体を用いた *in vitro* 阻害実験から、作用様式が確認されている。したがって、式 I の化合物が、ヒトにおいて H C V 感染の処置のための抗ウイルス薬として有効である可能性を有するか、そのような活性を示す化合物に代謝される。

【 0 0 5 4 】

本発明の別の実施態様では、活性化合物またはその誘導体若しくは塩を、式 I のものも含む、抗肝炎薬などの、別の抗ウイルス薬と組合わせてまたは交互に投与することができる。活性化合物またはその誘導体若しくは塩を、別の抗ウイルス薬と組合わせてまたは交互に投与すると、その活性が増大することもある。

【 0 0 5 5 】

特定の医薬剤形においては、本発明の化合物のアシル化（特にアセチル化）誘導体、ピリジンエステルおよび種々の塩形態などの、化合物のプロドラッグ形態が好ましい。当業者ならば、本発明の化合物をプロドラッグ形態に修飾して、宿主生物または患者内の標的部位への活性化合物の送達を促進することがいかに容易であるかを理解するであろう。また、当業者は、適用可能な場合には、プロドラッグ形態の好ましい薬物動態学的パラメーターを利用して、宿主生物または患者内の標的部位への本発明の化合物の送達において、化合物の意図する効果を最大にするであろう。

【 0 0 5 6 】

レシピエントに投与した際に、直接または間接的に、親化合物を与えることができるあらゆる誘導体として、活性化合物を投与することができる。さらに、修飾は、化合物の生物学的活性に影響を与えることが可能で、場合により、親化合物に比して活性が増大することもある。これは、本明細書に記載の方法に従って誘導体を製造し、その抗 H C V 活性を試験することにより、容易にアッセイすることができる。

【 0 0 5 7 】

本発明により提供される 2 - デオキシ - 2 - フルオロヌクレオシド誘導体またはその医薬を、単剤療法に用いても良いし、併用療法に用いても良い。即ち、処置は、一つ以上の更なる治療的に活性な物質、例えば、インターフェロン、インターロイキン、腫瘍壊死因子またはコロニー刺激因子などの免疫系調節剤、抗ウイルス剤または抗炎症剤などの投与と連係してもよい。処置が併用療法であるときは、そのような投与は、本発明の 2 - デオキシ - 2 - フルオロヌクレオシド誘導体の投与と同時または逐次的であってもよい。

【 0 0 5 8 】

本発明により提供される活性化合物（2 - デオキシ - 2 - フルオロヌクレオシド誘導体）および薬学的に使用可能なその塩の投与は、例えば経口、局所、例えば、注射用溶液の形態などの非経口（または、胸骨内注射若しくは注入技術）、例えば、鼻腔用スプレー、または吸入用スプレーの形態などの経鼻的なもの、局所的なものなど、筋肉内、静脈内、皮下、経皮（浸透増強剤を含んでもよい）、経頬および座剤投与などの、あらゆる医薬処方物の形態で医薬として使用することができ、連続的静脈内点滴から 1 日当たり数回（例えば、1 日 4 回）の経口投与までに及んでもよい。さらに、医薬処方物を、例えば、錠剤、被覆錠剤、糖衣錠、硬および軟ゼラチンカプセル、溶液、エマルジョン、シロップまたは懸濁剤などの形態で経口的に、または例えば座剤の形態で経直腸的に、経腸的に投与することができる。

【 0 0 5 9 】

医薬製剤の製造のために、2 - デオキシ - 2 - フルオロヌクレオシド誘導体および薬学的に許容し得るその塩を、錠剤、被覆錠剤、糖衣錠、硬ゼラチンカプセルおよび軟ゼラチンカプセル、液剤、エマルジョンまたは懸濁剤のための、治療上不活性な無機または有機賦形剤とともに処方することができる。

【 0 0 6 0 】

例として、本発明による化合物を、薬学的に許容し得る担体と混合して処方することがで

10

20

30

40

50

きる。例えば、本発明の化合物を、薬学的に許容し得る塩として経口投与することができる。本発明の化合物は、一般には水溶性であるため、生理食塩溶液（例えば約 pH 7.2 ~ 7.5 に緩衝化）で静脈内投与することができる。リン酸、重炭酸またはクエン酸などの従来の緩衝液を、この目的のために用いることができる。無論、当業者は、本明細書の教示の範囲内で、処方物を改変し、本発明の組成物を不安定にしたり、治療活性を損ねたりすることなく、特定の投与ルートのための多数の処方物を提供してもよい。特に、本発明の化合物の水中または他のビヒクルへの溶解性を高めることを目的としたその修飾は、例えば、十分に当分野の通常の技術範囲内である若干の修飾（塩形成、エステル化など）により容易に達成し得る。また、患者における最大の有利な効果のために本発明の化合物の薬物動態を管理するために、具体的な化合物の投与ルートおよび投薬計画を変更することも、十分に当分野の通常の技術範囲である。 10

【0061】

非経口処方物では、担体は、通常、滅菌水または塩化ナトリウム水溶液を含むが、分散を助けるものを含む他の成分を含んでもよい。無論、滅菌水を使用し、滅菌状態を維持すべき場合、組成物および担体も滅菌しなければならない。注射可能な懸濁液も調製し得るが、この場合、適切な液体の担体、懸濁化剤などを使用してもよい。

【0062】

錠剤、被覆錠剤、糖衣錠および硬ゼラチンカプセルに適した賦形剤は、例えば、乳糖、コーンスターチおよびその誘導体、タルクならびにステアリン酸またはその塩である。

【0063】

所望ならば、錠剤またはカプセルを、標準的手法により、腸溶コーティングしてもよいし、徐放性にしてもよい。 20

【0064】

軟ゼラチンカプセルに適した賦形剤は、例えば、植物油、ワックス、脂肪、半固形および液体多価アルコールである。

【0065】

注射用溶液に適した賦形剤は、例えば、水、生理食塩水、アルコール、多価アルコール、グリセリンまたは植物油である。

【0066】

座剤に適した賦形剤は、例えば、天然および硬化油、ワックス、脂肪、半液体または液体多価アルコールである。 30

【0067】

経腸的使用のための液剤およびシロップに適した賦形剤は、例えば、水、多価アルコール、ショ糖、転化糖およびグルコースである。

【0068】

本発明の医薬製剤を、徐放処方物または他の適切な処方物として提供してもよい。

【0069】

医薬製剤は、保存剤、溶解剤、安定化剤、湿潤剤、乳化剤、甘味剤、着色剤、着香剤、浸透圧調整のための塩、緩衝液、マスティング剤または抗酸化剤を含むこともできる。

【0070】

医薬製剤は、当分野で公知の治療的に活性な他の作用物質を含有してもよい。 40

【0071】

本発明により提供される 2 - デオキシ - 2 - フルオロヌクレオシド誘導体は、免疫が介する状態および疾患、ウイルス性疾患、細菌性疾患、寄生虫疾患、炎症性疾患、過増殖性血管性疾患（hyperproliferative vascular disease）、同種移植片拒絶、腫瘍および癌の治療に有用である。

【0072】

投薬量は、広い範囲で変えることができ、無論、個別具体的場合において、個々の必要により調整される。経口投与では、1日当たり約 0.01 ~ 約 1000 mg/kg 体重の 1 日投薬量が、単剤療法および / または併用療法において適切である。好ましい 1 日投薬量は、 50

約 0.1 ~ 約 500 mg/kg 体重であり、より好ましくは、1 日当たり 0.1 ~ 約 100 mg/kg 体重であり、最も好ましくは、1 日当たり 1.0 ~ 約 100 mg/kg 体重である。典型的な調剤は、約 5 ~ 約 95 % (w/w) の活性化合物を含有する。1 日投薬量は、一回投薬量として、または分割投薬量として、典型的には、1 日当たり 1 ~ 5 回投与することができる。

#### 【0073】

本明細書中で処置に言及するときは、現在存在する状態の治療とともに予防も含み、動物の処置は、ヒトおよび他の哺乳動物の処置を含むことを理解するであろう。さらに、本明細書中の「C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染の処置」は、C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染に関連する、または HCV が媒介する疾患もしくは状態、またはその臨床症状の治療または予防を含む。

10

#### 【0074】

本明細書中の「含む (comprise)」は、「含む、または、からなる (include or consist of)」を意味し、「含んでいる (comprising)」は、「含んでいる、または、からなっている (including or consisting of)」を意味する。

#### 【0075】

それぞれに特異的な形式で、もしくは開示された機能を実施するための手段で表された、先の記載中または特許請求の範囲、または添付の図面に開示された特徴、または開示された結果を得るための方法や工程は、別々に、またはこうした特徴のあらゆる組み合わせでも、適宜、発明を様々な形態で実施するために利用してもよい。

20

#### 【0076】

本発明の化合物は、当業界において公知であり、特に以下に記載するような、公知の方法で製造することができる。

#### 【0077】

##### 実施例 1

2 - デオキシ - 2 - フルオロシチジンは、Sigma-Aldrich Company Ltd., カタログ番号 F8883 から購入するか、例えば 2, 2 - O - アンヒドロシチジンから、R Mengel and W Guschlbauer Angew Chemie Intl Ed 1978, 17, 525 に記載のような当業界に公知の方法により製造することができる。

#### 【0078】

30

##### 実施例 2

9 - (2 - デオキシ - 2 - フルオロ - D - リボフラノシル) - 2, 6 - ジアミノプリンは、H. J. Thomas et al., Nucleosides and Nucleotides, 1994, 13, 309 の方法により製造することができる。

#### 【0079】

##### 実施例 3

2 - デオキシ - 2 - フルオログアノシンは、B. S. Ross et al., Nucleosides and Nucleotides, 1997, 16, 1645 の方法により製造することができる。

#### 【0080】

##### 実施例 4

40

2 - デオキシ - 2 - フルオロシチジンの 5 - O - トリホスフェート誘導体は、Trilink BioTechnologies Inc., カタログ番号 N-1008-1 から購入することもできるし、または例えば K Burgess and D Cook Chemical Reviews 2000, 100, 2047 により記載されている、当分野で公知の方法により製造することもできる。

#### 【0081】

ヌクレオシドを含む有機化合物のモノリン酸化の方法は、L A Slotin, Synthesis, 1977, 737 に概説されている。さらに近年、他のヌクレオシドリン酸化法が、記載されている：M Uchiyama et al., J. Org. Chem., 1993, 58, 373; R Caputo et al., Synlett., 1997, 739 および M Taktakishvili and V Nair Tet. Lett. 2000, 41, 7173。ヌクレオシドに有用であり得る他のモノリン酸化法が、C E McKenna and J Schmidhauser, J. Chem. Soc

50

., Chem. Commun., 1979, 739およびJ K Stowell and T S Widlanski Tet. Lett., 1995, 1825により記載されている。ジホスフェート誘導体およびトリホスフェート誘導体の合成は、K H Scheit, Nucleotide Analogues, 1980, Wiley InterscienceおよびK Burgess and D Cook Chemical Reviews, 2000, 100, 2047に概説されている。

【 0 0 8 2 】

式 I で示される化合物は、類似の 2 - フルオロヌクレオシド誘導体の製造について当分野で公知のあらゆる方法で製造され得る。例えば、P Herdewijn et al Nucleosides and Nucleotides, 1989, 8, 65、またはH Hayakawa et al Chem Pharm Bull, 1990, 38, 1136 および、特に、R Mengel and W Guschlbauer Angew Chemie Intl Ed 1978, 17, 525またはH J Thomas et al., Nucleotides and Nucleotides 1994, 13, 309またはB S Ross et al, Nucleosides and Nucleotides, 1997, 16, 1645を参照のこと。

10

【 0 0 8 3 】

これらの方法は、式 I、例えば L - ヌクレオシドなどにより表されるもう片方の立体異性体の合成に適合させ得る。L - ヌクレオシドの一般的合成が記載されている ( P Wang et al, Antiviral Research, 1998, 40, 19; E Moyroud and P Strazewski Tetrahedron, 1999, 55, 1277 )。2 - フルオロ置換基の導入は、上記参考文献において対応する D - ヌクレオシドアナログについて記載された方法を用いて、行うことができる。

【 0 0 8 4 】

式 I の化合物の合成に、H J Thomas et al Nucleosides and Nucleotides, 1994, 13, 309に記載されたような、プリンまたはピリミジン塩基と適切に保護された 2 - フルオロ - フラノース誘導体との縮合反応を用いると、しばしばアノマー性ヌクレオシド誘導体の混合物を得る結果となる。 - および - ヌクレオシドは、再結晶、カラムクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは超臨界流体クロマトグラフィーなどの当業者に公知の標準的技術により分離することができる。

20

【 0 0 8 5 】

式 I または I - a の化合物の製造についての更なる情報は、以下の参考文献から推定することができる : W099/43691、W098/16184、C. R. Wagner et al., Medicinal Research Reviews, 2000, 20 (6), 417またはR. Jones and N. Bischofberger, Antiviral Research 1995, 27, 1。

## 【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau(43) International Publication Date  
28 November 2002 (28.11.2002)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 02/094289 A1

(51) International Patent Classification: A61K 31/708, 31/7076, 31/7068, A61P 31/14 (74) Agent: RAUBER, Beat; 124 Grenzacherstrasse, CH-4070 Basel (CH).

(21) International Application Number: PCT/EP02/05340

(22) International Filing Date: 15 May 2002 (15.05.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 0112617.6 23 May 2001 (23.05.2001) GB

(71) Applicant: F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (CH/CH); 124 Grenzacherstrasse, CH-4070 Basle (CH).

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GR, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KI, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

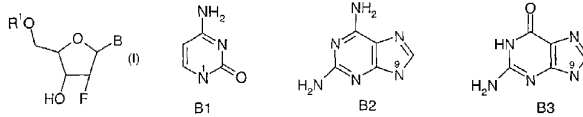
(72) Inventors: DEVOS, Rene, Robert; 4 Salmon Close, Welwyn Garden City, Hertfordshire AL7 1TR (GB); HOBBS, Christopher, John; 9 Magnolia Close, Hertford, Hertfordshire SG13 7UR (GB); JIANG, Wen-Rong; 602 Tereka Drive, Redwood City, CA 94065 (US); MARTIN, Joseph, Armstrong; 10 The Chowns, West Common, Harpenden, Hertfordshire AL5 2BN (GB); MERRETT, John, Herbert; 23 Bush Spring, Baldock, Hertfordshire SG7 6QT (GB); NAJERA, Isabel; 49 Salisbury Avenue, St. Albans, Hertfordshire AL1 4TZ (GB).

## Published:

with international search report  
— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: ANTIVIRAL NUCLEOSIDE DERIVATIVES

(57) Abstract: The present invention relates to nucleoside derivatives for use in the treatment or prophylaxis of hepatitis C virus infections. In particular, the present invention relates to known 2'-deoxy-2'-fluoro nucleoside derivatives and their use as inhibitors of hepatitis C virus (HCV) RNA replication and pharmaceutical compositions of such compounds. The compounds of this invention have potential use as therapeutic agents for the treatment of HCV infections. The present invention describes the use of 2'-deoxy-2'-fluoro nucleoside derivatives of formula I wherein R<sup>1</sup> is hydrogen or phosphate and B signifies a 1-pyrimidinyl or 9-purinyl residue of formulae B1, B2, B3 and of pharmaceutically acceptable salts thereof for the treatment of diseases mediated by the hepatitis C virus (HCV) or for the preparation of medicaments for such treatment.

WO 02/094289 A1



WO 02/094289

PCT/EP02/05340

Antiviral Nucleoside Derivatives

The present invention relates to nucleoside derivatives for use in the treatment or prophylaxis of hepatitis C virus infections. In particular, the present invention relates to known 2'-deoxy-2'-fluoro nucleoside derivatives and their use as inhibitors of hepatitis C virus (HCV) RNA replication and pharmaceutical compositions of such compounds. The compounds of this invention have potential use as therapeutic agents for the treatment of HCV infections.

Hepatitis C virus is the leading cause of chronic liver disease throughout the world. Patients infected with HCV are at risk of developing cirrhosis of the liver and subsequent hepatocellular carcinoma and hence HCV is the major indication for liver transplantation. Only two approved therapies are currently available for the treatment of HCV infection (R.G. Gish, Sem.Liver.Dis., 1999, 19, 35). These are interferon- $\alpha$  monotherapy and, more recently, combination therapy of the nucleoside analogue, ribavirin (Virazole), with interferon- $\alpha$ .

Hepatitis C virus belongs to the family of Flaviridae. It is an RNA virus, the RNA genome encoding a large polyprotein which after processing produces the necessary replication machinery to ensure synthesis of progeny RNA. It is believed that most of the non-structural proteins encoded by the HCV RNA genome are involved in RNA replication. Lohmann et al. [V. Lohmann et al., Science, 1999, 285, 110-113] have described the construction of a human hepatoma (Huh7) cell line in which subgenomic HCV RNA molecules have been introduced and shown to replicate with high efficiency. It is believed that the mechanism of RNA replication in these cell lines is identical to the replication of the full length HCV RNA genome in infected hepatocytes. The subgenomic HCV cDNA clones used for the isolation of these cell lines have formed the basis for the development of a cell-based assay for identifying nucleoside analogue inhibitors of HCV replication.

2'-Fluoronucleoside analogues are described in WO 99/43691 as being useful in the treatment of hepatitis B infection, hepatitis C infection, HIV and abnormal cellular FS/31.01.2002

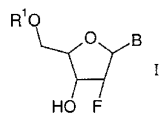
WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 2 -

proliferation, including tumours and cancer. 2'-Deoxy-2'-fluoro ribonucleoside derivatives are not described specifically.

The present invention describes the use of 2'-deoxy-2'-fluoro nucleoside derivatives of formula I



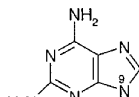
wherein

R<sup>1</sup> is hydrogen or phosphate and

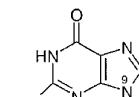
B signifies a 1-pyrimidinyl or 9-purinyl residue of formulae B1, B2 or B3



B1



B2



B3

and of pharmaceutically acceptable salts thereof for the treatment of diseases mediated by the hepatitis C virus (HCV) or for the preparation of medicaments for such treatment.

The term "phosphate" as used herein for R<sup>1</sup>, denotes a monophosphate, diphosphate or triphosphate group of the formula -[P(=O)(OH)]<sub>n</sub>H, wherein n is an integer selected from 1, 2 and 3. Phosphate in R<sup>1</sup> is preferably a monophosphate group. The term "phosphate" further includes stabilized monophosphate prodrugs or other pharmaceutically acceptable leaving groups which, when administered in vivo, are capable of providing a compound wherein R<sup>1</sup> is monophosphate. These "pronucleotides" can improve the properties such as activity, bioavailability or stability of the parent nucleotide.

Examples of substituent groups which can replace one or more of the hydrogens in the monophosphate moiety are described in C. R. Wagner et al Medicinal Research Reviews, 2000, 20(6), 417 or in R. Jones and N. Bischofberger, Antiviral Research 1995, 27, 1. Such pronucleotides include alkyl and aryl phosphodiester, steroid phosphodiester, alkyl and aryl phosphotriester, cyclic alkyl phosphotriester, cyclosaligenyl (CycloSal) phosphotriester, S-acyl-2-thioethyl (SATE) derivatives, dithioethyl (DTE) derivatives, pivaloyloxymethyl phosphoesters, para-acyloxybenzyl (PAOB) phosphoesters, glycerolipid



WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 3 -

phosphodiester, glycosyl lipid phosphotriesters, dinucleosidyl phosphodiester, dinucleoside phosphotriesters, phosphorodiamidatecyclic phosphoramidates, phosphoramidate monoesters and phosphoramidate diesters.

The invention also includes pro-drugs or bioprecursors of the parent nucleoside which are converted *in vivo* to the compound of formula I wherein R<sup>1</sup> is hydrogen or physiologically acceptable salts thereof. Preferred pro-drug derivatives include carboxylic ester derivatives of the 3'- or 5'-hydroxyl group in which the non-carbonyl moiety of the ester group is selected from straight or branched alkyl (e.g. methyl, n-propyl, n-butyl or tert.-butyl), alkoxyalkyl (e.g. methoxymethyl), aralkyl (e.g. benzyl), aryloxyalkyl (e.g. phenoxyethyl), aryl (e.g. phenyl optionally substituted by halogen, C<sub>1-4</sub> alkyl or C<sub>1-4</sub> alkoxy or amino); sulphonate esters such as alkylsulphonyl or arylsulphonyl (e.g. methanesulphonyl); amino acid esters (e.g. L-valyl or L-isoleucyl) or pharmaceutically acceptable salts thereof. The preparation is carried out according to known methods in the art, for example methods known from textbooks on organic chemistry e.g. from J. March (1992), "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure", 4<sup>th</sup> ed. John Wiley & Sons).

In the pictorial representation of the compounds given throughout this application, a thickened tapered line (  ) indicates a substituent which is above the plane of the ring and a dotted line (  ) indicates a substituent which is below the plane of the ring.

Compounds of the present invention exhibit stereoisomerism and therefore include compounds wherein the carbon atoms have the S, R, or R,S-configuration. The compounds of this invention can be any isomer of the compound of formula I or mixtures of these isomers. The compounds and intermediates of the present invention having one or more asymmetric carbon atoms may be obtained as mixtures of stereoisomers which can be resolved, at the appropriate steps in the process of this invention by stereospecific methods known in the art to obtain a given stereoisomer or pure enantiomer having a desired stereoconfiguration. Alternatively, the desired isomers may be directly synthesised by methods known in the art.

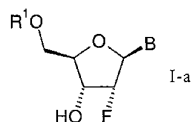
In a preferred embodiment of the invention the ribofuranoside is a  $\alpha$ -D,  $\beta$ -D,  $\alpha$ -L or  $\beta$ -L ribofuranosyl ring, more preferred a  $\beta$ -D or  $\beta$ -L ribofuranosyl ring, and most preferred a  $\beta$ -D ribofuranosyl ring.

WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 4 -

The preferable relative configuration of compounds of this invention is that of formula I-a,



wherein

- 5        R<sup>1</sup> and B are as defined above, and of pharmaceutically acceptable salts thereof.

Compounds of formula I exhibit tautomerism (as known from textbooks on organic chemistry e.g. J. March (1992), "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure", 4<sup>th</sup> ed. John Wiley & Sons) that means that the compounds of this invention can exist as two or more chemical compounds that are capable of facile interconversion. In many cases it merely means the exchange of a hydrogen atom between two other atoms, to either of which it forms a covalent bond. Tautomeric compounds exist in a mobile equilibrium with each other, so that attempts to prepare the separate substances usually result in the formation of a mixture that shows all the chemical and physical properties to be expected on the basis of the structures of the components.

The most common type of tautomerism is that involving carbonyl, or keto, compounds and unsaturated hydroxyl compounds, or enols. The structural change is the shift of a hydrogen atom between atoms of carbon and oxygen, with the rearrangement of bonds.

- 20        For example, in many aliphatic aldehydes and ketones, such as acetaldehyde, the keto form is the predominant one; in phenols, the enol form is the major component. An intermediate situation is represented for example in ethyl acetoacetate, which at room temperature contains about 92.4% keto and 7.6% enol; at -78°C, the interconversion of the two forms is slow enough for the individual substances to be isolated.

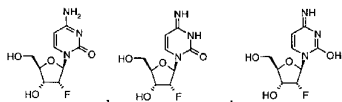
- 25        It will be appreciated that within the present invention compounds of formula I exist in various tautomeric forms and that they are encompassed by the present invention. Preferred tautomeric forms are drawn below:

WO 02/094289

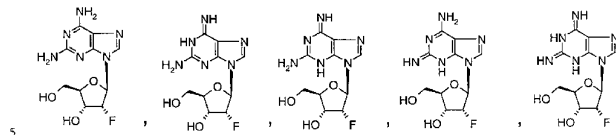
PCT/EP02/05340

- 5 -

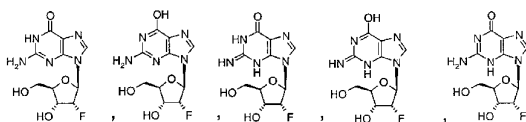
## 2'-Deoxy-2'-fluorocytidine:



## 2-amino-2'-deoxy-2'-fluoroadenosine:



## 2'-deoxy-2'-fluoroguanosine:



10 The above compounds preferably exist in the form drawn first.

Compounds of formula I which are basic can form pharmaceutically acceptable salts with inorganic acids such as hydrohalic acids (e.g. hydrochloric acid and hydrobromic acid), sulphuric acid, nitric acid and phosphoric acid, and the like, and with organic acids (e.g. with acetic acid, tartaric acid, succinic acid, fumaric acid, maleic acid, malic acid, salicylic acid, citric acid, methanesulphonic acid and p-toluene sulphonic acid, and the like). The formation and isolation of such salts can be carried out according to methods known in the art. Compounds of formula I which are acidic can form pharmaceutically acceptable base salts derived from appropriate bases such as alkali metals (e.g. lithium,

WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 6 -

sodium, potassium), alkaline earth metals (e.g. calcium, magnesium), ammonium or  $NX_4^+$  (wherein X is  $C_{1-4}$  alkyl, preferably methyl or ethyl, more preferred methyl).

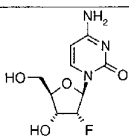
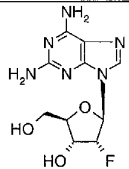
A preferred embodiment of the invention is the use of compounds of formula I or  
 5 I-a as defined above wherein

$R^1$  is as defined above and B signifies 1-pyrimidinyl,

and of pharmaceutically acceptable salts thereof.

More preferred embodiments of compounds of formula I for the use in the  
 10 treatment of diseases mediated by the hepatitis C virus (HCV) or for the preparation of a  
 medicament for such treatment are set out in table 1 (see below):

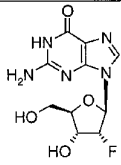
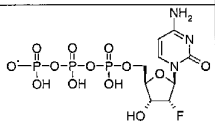
Table 1

Example	Structure	Name
1		2'-Deoxy-2'-fluorocytidine
2		9-(2-Deoxy-2-fluoro-β-D-ribofuranosyl)- 2,6-diaminopurine

WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 7 -

3		2'-Deoxy-2'-fluoroguanosine
4	 Li <sup>+</sup>	2'-Deoxy-2'-fluorocytidine 5'-O-triphosphate mono lithium salt

WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 8 -

Assay Methods

The activity of 2'-deoxy-2'-fluorocytidine was determined using an adaptation of the method reported by Lohmann et al [V. Lohmann et al., Science, 1999, 285, 110-113].

HCV Replicon Assay:

5 The HCV replicon-containing cell line was used to demonstrate the ability of 2'-deoxy-2'-fluorocytidine to inhibit the replication of HCV replicon RNA in cells. Since the replicon RNA replication mimics the replication of the HCV RNA in infected hepatocytes, it is believed that those small molecules that have the above property are interesting for further development as anti-HCV drugs.

10 The inhibition of the HCV replicon RNA replication will lead to a decrease of the replicon RNA in the cell, which can be measured using a method that specifically quantifies this RNA.

The assay is based on the idea of using a reporter as a simple readout for intracellular HCV replicon RNA level. For this purpose the Renilla luciferase gene was introduced into  
15 the first open reading frame of a replicon construct NK5.1 (Krieger *et al.*, J. Virol. 75:4614), immediately after the internal ribosome entry site (IRES) sequence, and fused with the neomycin phosphotransferase (NPTII) gene via a self-cleavage peptide 2A from foot and mouth disease virus (Ryan & Drew, EMBO Vol 13:928-933). After *in vitro* transcription the RNA was electroporated into human hepatoma Huh7 cells, and G418-  
20 resistant colonies were isolated and expanded. Stably selected cell line 2209-23 was shown to contain replicative HCV subgenomic RNA, and the activity of Renilla luciferase expressed by the replicon reflects its RNA level in the cells.

For the assay procedure, Renilla Luciferase HCV replicon cells (2209-23) that cultured in Dulbecco's MEM (GibcoBRL cat no. 31966-021) with 5% fetal calf serum  
25 (FCS) (GibcoBRL cat no. 10106-169) were plated onto a 96-well plate at 5000 cells per well, and incubated overnight. Twenty-four hours later, different dilutions of chemical compounds in the growth medium were added to the cells, which were then further incubated at 37°C for three days. The assay was carried out in duplicate plates, one in opaque white and one in transparent, in order to measure the activity and cytotoxicity of a  
30 chemical compound in parallel ensuring the activity seen is not due to reduction on cell proliferation.

At the end of the incubation time, the cells in the white plate were harvested and luciferase activity was measured by using a Dual-Luciferase reporter assay system (Promega cat no. E1960). All the reagents described in the following paragraph were



WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 9 -

included in the manufacturer's kit, and the manufacturer's instructions were followed for preparations of the reagents. Briefly, the cells were washed twice with 200µl PBS (phosphate buffered saline; pH 7.0) per well and lysed with 25µl of 1x passive lysis buffer prior to incubation at room temperature for 20 min. One hundred microlitre of LAR II reagent was added to each well. The plate was then inserted into the LB 96V microplate luminometer (MicroLumatPlus, Berthold), and 100 µl of Stop & Glo reagent was injected into each well by the machine and the signal measured using a 2-second delay, 10-second measurement program. The IC<sub>50</sub>, the concentration of the drug required for reducing the replicon level by 50% in relation to the untreated cell control value, can be calculated from the plot of the percentage reduction of the luciferase activity vs. drug concentration.

For the cytotoxicity assay, WST-1 reagent from Roche Diagnostic (cat no. 1644807) was used. Ten microlitre of WST-1 reagent was added to each well including wells that contained media alone as blanks. Cells were then incubated for 1 to 1.5 hours at 37°C, and the OD value was measured by a 96-well plate reader at 450nm (reference filter at 650nm). Again CC<sub>50</sub>, the concentration of the drug required for reducing cell proliferation by 50% in relation to the untreated cell control value, can be calculated from the plot of percentage reduction of the WST-1 value vs. drug concentration.

HCV NS5B polymerase assay (Hepatitis C Virus Non-Structural Protein 5B RNA-dependent RNA polymerase assay):

In order to establish the mechanism of action of 2'-deoxy-2'-fluorocytidine the activity of the 5'-O-triphosphates was measured against HCV NS5B RNA-dependent RNA polymerase enzyme. For this procedure full length NS5B polymerase bearing a C-terminal 6-histidine tag was used (V Lohmann, U Herian and R Bartenschlager J Virol, 1997, 71(11), 8416).

Reaction mixtures containing final concentrations of 40mM N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulphonic acid (HEPES) at pH 8.0, 4mM dithiothreitol (DTT), 4mM magnesium acetate, Poly(rI):Oligo(dC)<sub>16</sub> template (0.1mg:0.01mg; annealed by heating a mixture of 5ml of 0.1mg/ml Poly(rI) and 5ml of 10mg/ml Oligo(dC)<sub>16</sub> to 95°C for 5 minutes and then cooling to 30°C over 20 minutes) and 500nM [<sup>3</sup>H]-cytidine 5'-triphosphate ([<sup>3</sup>H]-CTP; specific activity 740 GBq/mmol) (Amersham Pharmacia Biotech) in 35µl volume were incubated with 5µl aqueous solutions of nucleoside triphosphate and left for 5 minutes at room temperature. Usually ten compound dilutions were used for each IC<sub>50</sub> determination. 10µl of a 5µg/ml solution of HCV NS5B polymerase was added and the mixture incubated for 2 hours at 30°C. Positive controls containing no compound and negative controls containing no enzyme were included in each assay.

WO 02/094289

PCT/EP02/05340

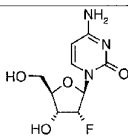
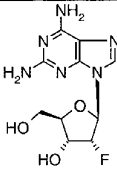
- 10 -

Reactions were terminated by addition of 50 $\mu$ l of 20% (v/v) trichloroacetic acid followed by incubation at 4°C for 30 minutes. After filtering, washing 3 times with 200 $\mu$ l portions of 10%(v/v) trichloroacetic acid and 3 times with 200 $\mu$ l portions of 70%(v/v) ethanol then drying, the reaction product was quantified by adding 25 $\mu$ l of scintillation cocktail (Ecoscint A purchased from National Diagnostics ) followed by scintillation counting.

The concentration of compound ( $IC_{50}$ ) required to reduce [ $^3H$ ]-CTP incorporation by 50% relative to the control containing no compound was calculated from a plot of the radioactive response vs. nucleoside triphosphate concentration.

In the HCV Replicon assay, compounds of the formulas I range in activity from an  $IC_{50}$  of about 0.01 to about 100  $\mu$ M, with preferred compounds having a range of activity from about 0.01 to about 50  $\mu$ M, more preferably about 0.01 to 30  $\mu$ M, and most preferably about 0.01 to 15  $\mu$ M.

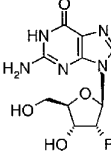
HCV Replicon assay:

Structure	Name	$IC_{50}$ ( $\mu$ M)
	2'-Deoxy-2'-fluorocytidine	0.74
	9-(2-Deoxy-2-fluoro- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-2,6-diaminopurine	10

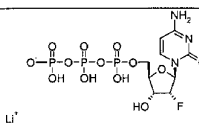
WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 11 -

	2'-Deoxy-2'-fluoroguanosine	62%@20
-----------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------	--------

HCV NS5B RdR polymerase assay:

Structure	Name	IC <sub>50</sub> (μM)
	2'-deoxy-2'-fluorocytidine 5'-O-triphosphate mono lithium salt	1.8

The above data demonstrate, that 2'-deoxy-2'-fluoro nucleoside derivatives of  
 5 formula I are inhibiting subgenomic hepatitis C virus replication in a hepatoma cell line.  
 The mode of action has been confirmed by in vitro inhibition experiments with purified  
 HCV NS5B polymerase and the 5'-O-triphosphate derivative of 2'-deoxy-2'-  
 fluorocytidine. The compounds of formula I therefore have the potential to be efficacious  
 as antiviral drugs for the treatment of HCV infections in humans, or are metabolized to  
 10 compounds that exhibit such activity.

WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 12 -

In another embodiment of the invention, the active compound or its derivative or salt can be administered in combination or alternation with another antiviral agent, such as an anti-hepatitis agent, including those of formula I. When the active compound or its derivative or salt is administered in combination or alternation with another antiviral agent its activity may be increased.

In certain pharmaceutical dosage forms, the pro-drug form of the compounds, including acylated (especially acetylated) derivatives, pyridine esters and various salt forms of the present compounds are preferred. One of ordinary skill in the art will recognise how to readily modify the present compounds to pro-drug forms to facilitate delivery of active compounds to a target site within the host organism or patient. One of ordinary skill in the art will also take advantage of favourable pharmacokinetic parameters of the pro-drug forms, where applicable, in delivering the present compounds to targeted site within the host organism or patient to maximise the intended effect of the compound.

The active compound can be administered as any derivative that upon administration to the recipient, is capable of providing directly or indirectly, the parent compound. Furthermore, the modifications can affect the biological activity of the compound, in some cases increasing the activity over the parent compound. This can easily be assessed by preparing the derivative and testing its anti-HCV activity according to the methods described herein.

The 2'-deoxy-2'-fluoro nucleoside derivatives provided by the present invention or the medicaments thereof may be used in monotherapy or combination therapy, i.e. the treatment may be in conjunction with the administration of one or more additional therapeutically active substance(s), for example, an immune system modulator such as an interferon, interleukin, tumor necrosis factor or colony stimulating factor; an antiviral agent or an anti-inflammatory agent. When the treatment is combination therapy, such administration may be concurrent or sequential with respect to that of the 2'-deoxy-2'-fluoro nucleoside derivatives of the present invention. Concurrent administration, as used herein thus includes administration of the agents at the same time or at different times.

Administration of the active compound (2'-deoxy-2'-fluoro nucleoside derivatives) provided by the present invention, as well as their pharmaceutically useable salts, can be used as medicaments in the form of any pharmaceutical formulation, e.g. oral, topical, parenteral (or intrasternal injection or infusion techniques), e.g. in the form of injection solutions, nasally, e.g. in the form of nasal sprays, or inhalation spray, topically and so forth, intramuscular, intravenous, subcutaneous, transdermal (which may include a penetration enhancement agent), buccal and suppository administration and may range from a continuous intravenous drip to several oral administrations per day (for example,

WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 13 -

Q.I.D). Further, the pharmaceutical formulation can be administered enterally, either orally, e.g. in the form of tablets, coated tablets, dragées, hard and soft gelatine capsules, solutions, emulsions, syrups, or suspensions, or rectally, e.g. in the form of suppositories.

For the manufacture of pharmaceutical preparations, the 2'-deoxy-2'-fluoro nucleoside derivatives, as well as their pharmaceutically acceptable salts, can be formulated with a therapeutically inert, inorganic or organic excipient for the production of tablets, coated tablets, dragées, hard and soft gelatine capsules, solutions, emulsions or suspensions.

By way of example, it is contemplated that compounds according to the present invention can be formulated in admixture with a pharmaceutically acceptable carrier. For example, the compounds of the present invention can be administered orally as pharmacologically acceptable salts. Because the compounds of the present invention are mostly water soluble, they can be administered intravenously in physiological saline solution (e.g., buffered to a pH of about 7.2 to 7.5). Conventional buffers such as phosphates, bicarbonates or citrates can be used for this purpose. Of course, one of ordinary skill in the art may modify the formulations within the teachings of the specification to provide numerous formulations for a particular route of administration without rendering the compositions of the present invention unstable or compromising their therapeutic activity. In particular, the modification of the present compounds to render them more soluble in water or other vehicle, for example, may be easily accomplished by minor modifications (salt formulation, esterification, etc.) which are well within the ordinary skill in the art. It is also well within the ordinary skill of the art to modify the route of administration and dosage regimen of a particular compound in order to manage the pharmacokinetics of the present compounds for maximum beneficial effect in patients.

For parenteral formulations, the carrier will usually comprise sterile water or aqueous sodium chloride solution, though other ingredients including those which aid dispersion may be included. Of course, where sterile water is to be used and maintained as sterile, the compositions and carriers must also be sterilized. Injectable suspensions may also be prepared, in which case appropriate liquid carriers, suspending agents and the like may be employed.

Suitable excipients for tablets, coated tablets, dragées, and hard gelatin capsules are, for example, lactose, corn starch and derivatives thereof, talc, and stearic acid or its salts.

If desired, the tablets or capsules may be enteric-coated or sustained release by standard techniques.

WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 14 -

Suitable excipients for soft gelatine capsules are, for example, vegetable oils, waxes, fats, semi-solid and liquid polyols.

Suitable excipients for injection solutions are, for example, water, saline, alcohols, polyols, glycerine or vegetable oils.

5 Suitable excipients for suppositories are, for example, natural and hardened oils, waxes, fats, semi-liquid or liquid polyols.

Suitable excipients for solutions and syrups for enteral use are, for example, water, polyols, saccharose, invert sugar and glucose.

10 The pharmaceutical preparations of the present invention may also be provided as sustained release formulations or other appropriate formulations.

The pharmaceutical preparations can also contain preservatives, solubilizers, stabilizers, wetting agents, emulsifiers, sweeteners, colorants, flavourants, salts for adjustment of the osmotic pressure, buffers, masking agents or antioxidants.

15 The pharmaceutical preparations may also contain other therapeutically active agents known in the art.

The 2'-deoxy-2'-fluoro nucleoside derivatives provided by the present invention are useful in the treatment of immune mediated conditions and diseases, viral diseases, bacterial diseases, parasitic diseases, inflammatory diseases, hyperproliferative vascular diseases, allograft rejection, tumours, and cancers.

20 The dosage can vary within wide limits and will, of course, be adjusted to the individual requirements in each particular case. For oral administration, a daily dosage of between about 0.01 and about 1000 mg/kg body weight per day should be appropriate in monotherapy and/or in combination therapy. A preferred daily dosage is between about 0.1 and about 500 mg/kg body weight, more preferred 0.1 and about 100 mg/kg body  
25 weight and most preferred 1.0 and about 100 mg/kg body weight per day. A typical preparation will contain from about 5% to about 95% active compound (w/w). The daily dosage can be administered as a single dosage or in divided dosages, typically between 1 and 5 dosages per day.

30 It will be understood that references herein to treatment extend to prophylaxis as well as to the treatment of existing conditions, and that the treatment of animals includes the treatment of humans as well as other mammals. Furthermore, the term "treatment of a hepatitis C virus (HCV) infection", as used herein, includes the treatment or prophylaxis

WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 15 -

of a disease or a condition associated with or mediated by hepatitis C virus (HCV) infection, or the clinical symptoms thereof.

In the present specification "comprise" means "includes or consists of" and "comprising" means "including or consisting of".

5 The features disclosed in the foregoing description, or the following claims, or the accompanying drawings, expressed in their specific forms or in terms of a means for performing the disclosed function, or a method or process for attaining the disclosed result, as appropriate, may, separately, or in any combination of such features, be utilised for realising the invention in diverse forms thereof.

10

The compounds of the present invention are known in the art and can be prepared by known methods, especially as described below:

15

Example 1

2'-Deoxy-2'-fluorocytidine can be purchased from Sigma-Aldrich Company Ltd., Cat. No. F8883 or prepared by methods known to the art for example from 2,2'-O-anhydrocytidine as described by R Mengel and W Guschlbauer Angew Chemie Intl Ed 1978, 17, 525.

20

Example 2

9-(2-Deoxy-2-fluoro- $\beta$ -D-ribofuranosyl)-2,6-diaminopurine can be prepared by the method of H. J. Thomas et al, Nucleosides and Nucleotides, 1994, 13, 309.

25

Example 3

2'-Deoxy-2'-fluoroguanosine can be prepared by the method of B. S. Ross et al, Nucleosides and Nucleotides, 1997, 16, 1645.

WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 16 -

Example 4

The 5'-O-triphosphate derivative of 2'-deoxy-2'-fluorocytidine can be purchased from Trilink BioTechnologies Inc., Cat. No. N-1008-1 or prepared by methods known to the art for example as described by K Burgess and D Cook Chemical Reviews 2000, 100, 2047.

Methods for the monophosphorylation of organic compounds including nucleosides have been reviewed by L A Slotin, Synthesis, 1977, 737. More recently other nucleoside phosphorylation procedures have been described: M Uchiyama et al J. Org. Chem., 1993, 58,373; R Caputo et al, Synlett., 1997, 739 and M Taktakishvili and V Nair Tet. Lett. 2000, 41, 7173. Other procedures for monophosphorylation that may be useful for nucleosides are described by C E McKenna and J Schmidhauser, J.Chem.Soc.,Chem.Comm.,1979, 739 and J K Stowell and T S Widlanski Tet. Lett., 1995, 1825. Synthesis of di and triphosphate derivatives are reviewed in K H Scheit, Nucleotide Analogues, 1980, Wiley Interscience and by K Burgess and D Cook Chemical Reviews, 2000, 100, 2047.

The compounds represented by formula I may be prepared by any of the methods known in the art for the preparation of similar 2'-fluoronucleoside derivatives. E.g see P Herdewijn et al Nucleosides and Nucleotides, 1989, 8, 65 or H Hayakawa et al Chem Pharm Bull, 1990, 38, 1136 and in particular R Mengel and W Guschlbauer Angew Chemie Intl Ed 1978, 17, 525 or H J Thomas et al, Nucleosides and Nucleotides 1994, 13, 309 or B S Ross, et al, Nucleosides and Nucleotides, 1997, 16, 1645.

Such methods may be adapted for the synthesis of the alternative stereoisomers represented by formula I for example L-nucleosides. The general synthesis of L-nucleosides has been described (P Wang et al, Antiviral Research, 1998, 40, 19; E Moyroud and P Strazewski Tetrahedron, 1999, 55, 1277). Introduction of a 2'-fluoro substituent can be accomplished using the methods described for the corresponding D-nucleoside analogues in the references above.

Where synthesis of the compound of formula I employs a condensation reaction of a purine or pyrimidine base with a suitably protected 2-fluoro-furanose derivative such as that described by H J Thomas et al Nucleosides and Nucleotides, 1994, 13, 309, then mixtures of anomeric nucleoside derivatives will often result. The  $\alpha$  and  $\beta$ -nucleosides can



WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 17 -

be separated by standard techniques known to the art such as recrystallisation, column chromatography, high performance liquid chromatography or super critical fluid chromatography.

Further information for the preparation of compounds of formula I or I-a can be  
5 deduced from the following references: WO 99/43691, WO 98/16184, C. R. Wagner et al  
Medicinal Research Reviews, 2000, 20(6), 417 or R. Jones and N. Bischofberger, Antiviral  
Research 1995, 27, 1).

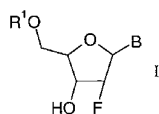
WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 18 -

Claims

1. Use of compounds of formula I



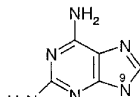
wherein

- 5       $R^1$  is hydrogen or phosphate and

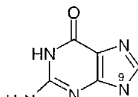
B signifies a 1-pyrimidinyl or 9-purinyl residue of formulae B1, B2 or B3



B1



B2



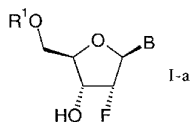
B3

and of pharmaceutically acceptable salts thereof for the treatment of diseases mediated by the hepatitis C virus (HCV) or for the preparation of medicaments for such treatment.

10

2. Use of compounds as claimed in claim 1 wherein the compounds are  $\beta$ -D or  $\beta$ -L ribofuranosides and pharmaceutically acceptable salts thereof.

3. Use of compounds as claimed in claims 1 or 2 of formula I-a



15

wherein  $R^1$  and B are as defined in claim 1,

and of pharmaceutically acceptable salts thereof.

WO 02/094289

PCT/EP02/05340

- 19 -

4. Use of compounds of formula I or I-a as claimed in any one of claims 1 to 3 wherein

R<sup>1</sup> is as defined above and B signifies 1-pyrimidinyl,

and of pharmaceutically acceptable salts thereof.

5

5. Use of a compound of formula I or I-a as claimed in any one of claims 1 to 3 which compound is

2'-deoxy-2'-fluorocytidine,

9-(2-deoxy-2-fluoro-β-D-ribofuranosyl)-2,6-diaminopurine,

10

2'-deoxy-2'-fluoroguanosine, or

2'-deoxy-2'-fluorocytidine 5'-O-triphosphate mono lithium salt.

6. A compound as defined in any one of claims 1 to 5 or a pharmaceutically acceptable salt thereof for the treatment of diseases mediated by the hepatitis C virus (HCV) or for the preparation of medicaments for such treatment.

15

7. A pharmaceutical composition on the basis of a pharmaceutically effective amount of a compound of formula I or I-a or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as defined in any one of claims 1 to 5 for the treatment of diseases mediated by the hepatitis C virus (HCV) or for the preparation of a medicament for such treatment.

20

8. The use of a pharmaceutical composition on the basis of a pharmaceutically effective amount of a compound of formula I or I-a or a pharmaceutically acceptable salt thereof as defined in any one of claims 1 to 5 for the treatment of diseases mediated by the hepatitis C virus (HCV).

25

9. The invention as hereinbefore described.

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/EP 02/05340
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 A61K31/7076 A61K31/7068 A61P31/14		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ, EMBASE		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 43691 A (CHOI YONGSEOK ;CHU CHUNG K (US); HONG JOON H (US); SHI JUNXING (US) 2 September 1999 (1999-09-02) cited in the application page 8, line 26 -page 10, line 9 page 11, line 9 - line 13 page 12, line 30 -page 13, line 14 page 13, line 30 -page 14, line 17 page 15, line 9 -page 17, line 11 page 28, line 9 - line 18 page 31, line 6 - line 20 page 35, line 15 -page 37, line 25 page 79, line 14 - line 25	1-9
X	the whole document --- -/-	1-9
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another claim or other special reason (as specified) "C" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principles or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "S" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 9 September 2002		Date of mailing of the international search report 25/09/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5816 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax. (+31-70) 340-3016		Authorized officer Economou, D

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 02/05340

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>TIANWEI MA ET AL.: "Structure-Activity Relationships of 1-(2-Deoxy-2-fluoro-beta-L-arabinofuranosyl)pyrimidine Nucleosides as Anti-Hepatitis B Virus Agents"</p> <p>J.MED.CHEM., vol. 39, no. 14, 1996, pages 2835-2843, XP002212830</p> <p>page 2836; example 27</p> <p>page 2841, right-hand column, line 36 - line 41</p>	6,7,9
X	<p>TIANWEI MA ET AL.: "Synthesis and Anti-Hepatitis B Virus Activity of 9-(2-deoxy-2-fluoro-beta-L-arabinofuranosyl)purine Nucleosides"</p> <p>J.MED.CHEM., vol. 40, no. 17, 1997, pages 2750-2754, XP002212831</p> <p>compounds 22 and 23</p> <p>table 1</p> <p>page 2753, left-hand column, line 33 - line 58</p> <p>page 2753, right-hand column, line 6 - line 23</p>	6,7,9
X	<p>US 5 587 362 A (CHU CHUNG K ET AL)</p> <p>24 December 1996 (1996-12-24)</p> <p>L-FC</p> <p>figure 1</p>	6,7,9
X	<p>US 5 968 826 A (COWSERT LEX M ET AL)</p> <p>19 October 1999 (1999-10-19)</p> <p>column 18, line 6 - line 30</p>	6,7,9
X,P	<p>WO 02 32920 A (PHARMASSET LTD ;STUYVER LIEVEN (US); WATANABE KYOICHI A (US))</p> <p>25 April 2002 (2002-04-25)</p> <p>compound DB=2'-deoxy-2'-fluoroguanosine</p> <p>page 53; table 2</p> <p>page 16, line 1 - line 10</p>	1-9

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
 Information on patent family members

 International Application No  
 PCT/EP 02/05340

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9943691	A	02-09-1999	
		AU 2787199 A	15-09-1999
		CA 2322008 A1	02-09-1999
		CN 1332747 T	23-01-2002
		EP 1058686 A1	13-12-2000
		JP 2002504558 T	12-02-2002
		WO 9943691 A1	02-09-1999
		US 6348587 B1	19-02-2002
US 5587362	A	24-12-1996	
		AU 710262 B2	16-09-1999
		AU 1737695 A	15-08-1995
		BG 62571 B1	29-02-2000
		BG 100792 A	31-03-1997
		BR 9506596 A	09-09-1997
		CA 2182273 A1	03-08-1995
		CN 1143966 A, B	26-02-1997
		CZ 9602114 A3	16-09-1998
		EP 0748330 A1	18-12-1996
		FI 962986 A	26-07-1996
		HU 75514 A2	28-05-1997
		JP 9508394 T	26-08-1997
		NO 963138 A	26-09-1996
		NZ 281058 A	26-06-1998
		NZ 330137 A	25-08-2000
		RO 116623 B1	30-04-2001
		SK 92696 A3	06-08-1997
		WO 9520595 A1	03-08-1995
		US 5565438 A	15-10-1996
		US 5567688 A	22-10-1996
US 5968826	A	19-10-1999	
		AU 5570399 A	26-04-2000
		EP 1123414 A1	16-08-2001
		WO 0020635 A1	13-04-2000
		US 6258790 B1	10-07-2001
WO 0232920	A	25-04-2002	
		AU 2874902 A	29-04-2002
		AU 2888502 A	29-04-2002
		WO 0232920 A2	25-04-2002
		WO 0233128 A2	25-04-2002

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 H 19/067	C 0 7 H 19/067	
C 0 7 H 19/10	C 0 7 H 19/10	
C 0 7 H 19/167	C 0 7 H 19/167	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VN,YU,ZA,ZW

- (72)発明者 デヴォス, レネ・ロバート  
イギリス国、ハートフォードシャー エーエル7 1 ティーアール、ウェルウィン・ガーデン・シティ、サーモン・クローズ 4
- (72)発明者 ホップス, クリストファー・ジョン  
イギリス国、ハートフォードシャー エスジー1 3 7 ユーアール、ハートフォード、マグノリア・クローズ 9
- (72)発明者 チャン, ウェン・ロン  
アメリカ合衆国、カリフォルニア 9 4 0 6 5、レッドウッド・シティ、テレド・ドライブ 6 0 2
- (72)発明者 マーチン, ジョゼフ・アームストロング  
イギリス国、ハートフォードシャー エーエル5 2 ビーエヌ、ハーペンデン、ウェスト・コモン、ザ・チョーンズ 1 0
- (72)発明者 メレット, ジョン・ハーバート  
イギリス国、ハートフォードシャー エスジー7 6 キューティー、バルドック、ブッシュ・スプリング 2 3
- (72)発明者 ナジェラ, イザベル  
イギリス国、ハートフォードシャー エーエル1 4 ティーゼット、セイント・アルバンズ、ソールズベリー・アベニュー 4 9

F ターム(参考) 4C057 CC02 DD01 LL17 LL19 LL22 LL40 LL42  
4C086 AA01 AA02 EA17 EA18 MA01 MA04 NA01 NA14 ZA75 ZB33