

FORMULARIO ÚNICO DE CORRECCIONES Y MODIFICACIONES
2000-10

1) SOLICITUD DE:

☐ Corrección de error material

☒ Modificación a una solicitud

2) S LICITANTE

Nombre: PHARMASSET, INC.
Dirección: 303 A College
Road East
Princeton, New Jersey
08540, Estados Unidos

Nacionalidad o domicilio:
New Jersey ,Estados Unidos

Lugar de constitución: New
Jersey, Estados Unidos

Teléfono:
E. Mail:

Fax:

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT: ☐

C.E. ☐ OTRO ☐

NÚMERO _____

**3) REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre: DILIA MARÍA
RODRÍGUEZ D'ALEMAN

Dirección: Carrera 11 N°. 86-
53 Piso 6 Bogotá D.C.

Teléfono: 6181088 **Fax:**
6350824

E. Mail:
info@clarkemodet.com.co

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT: ☐

C.E. ☐ OTRO ☐

NÚMERO: 41.654.882
TP: 20824 CSJ

4) NUMERO DE EXPEDIENTE: 05123296

5) DESCRIPCIÓN DE LA CORRECCIÓN O MODIFICACIÓN SOLICITADA:

**Se presenta nueva descripción y capítulo reivindicatorio que reemplaza el
anteriormente presentado.**

6) C mprobante de pago No.

7) Anexos:

☒ Comprobante de la tasa

☐ Poderes, si fuere el caso

☐ Certificado de Existencia y Representación legal, cuando el solicitante sea persona jurídica

8)

N mbre: DILIA RODRÍGUEZ D'ALEMAN

Firma

C.C.: 41.654.882 TP: 20824 CSJ

P 715
992

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176009-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 05-123296-00005-0000

Fecha: 2007-05-07 18:48:57 Dep. 2020 NUECREACIONE
Trib. 11 PATENTE IYII Evo: 379 FASENACIONALII
Act. 329 CTOINFORMACION Folios: 221

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 20,247
FECHA : MARZO 8 DE 2007

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Gr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMBIA	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	52370228	08/03/2007	4,827,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-03	CAMBIO DE MODALIDAD Y MODIFICA	
		12 MARCAS Y LEAS COMERCIALES	99,000.00
		TOTAL :	\$ 99,000.00

SOM: NOVENTA Y NUEVE MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

K
993**ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDO FLUORINADOS MODIFICADOS**

Esta solicitud se presentó el 21 de Abril 2004 como una solicitud de Patente Internacional PCT a nombre de PHARMASSET LTD. Un residente en los Estados Unidos, solicitantes para todas las designaciones excepto para los Estados Unidos.

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención incluye nucleósidos (2R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo que tienen la configuración β -D natural y métodos para el tratamiento de infecciones de Flaviviridae, especialmente virus de hepatitis C (HCV).

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La infección del virus de la Hepatitis C (HCV) es un gran problema de salud que conduce a la enfermedad crónica del hígado, tal como cirrosis y carcinoma hepatocelular, en un número sustancial de individuos infectados, que se estima que son del 2-15% de la población mundial. Existe un estimado de 4.5 millones de personas infectadas en los Estados Unidos solamente, de acuerdo con el Centro para el Control de

994 7

Enfermedades de los Estados Unidos. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, existen más de 200 millones de individuos infectados mundialmente, con al menos 3 a 4 millones de personas que se infectan cada año. Una vez infectadas, aproximadamente el 20% de las personas limpian el virus, pero el resto pueden permanecer con HCV el resto de sus vidas. 10 a 20% de los individuos crónicamente infectados eventualmente desarrollan cirrosis de estructura del hígado o cáncer. La enfermedad viral es transmitida parenteralmente por sangre contaminada y productos sanguíneos, agujas contaminadas, o sexualmente o verticalmente de madres infectadas o madres portadoras a su descendencia. Los tratamientos habituales para infección de HCV, que están restringidos a inmunoterapia con interferón- α están restringidos a inmunoterapia con interferón- α recombinante solo o en combinación con el análogo de nucleósido ribavirina, son de beneficio clínico limitado en razón a que la resistencia se desarrolla rápidamente. Más aún, no existe una vacuna establecida para HCV. Consecuentemente, existe necesidad urgente para mejorar los agentes terapéuticos que combates efectivamente la infección de HCV crónica.

El virión de HCV es un virus de ARN envuelto con una secuencia genómica de oligonucleótido de aproximadamente 9600

995 /

bases que codifica una poliproteína de aproximadamente 3.010 aminoácidos. Los productos de proteína del gen HCV consisten de las proteínas estructurales C, E1, y E2, y las proteínas no estructurales NS2, NS3, NS4A y NS4B, y NS5A y NS5B. Las proteínas no estructurales (NS) se cree que suministran la maquinaria catalítica para replicación viral. La proteasa NS3 libera NS5B, la polimerasa ARN dependiente de ARN de la cadena de poliproteína. La polimerasa HCV NS5B se requiere para la síntesis de un ARN de doble hebra proveniente de un ARN viral de hebra simple que sirve como molde en el sitio de replicación del HCV. Por lo tanto, la polimerasa NS5B se considerada como un componente esencial en el complejo de replicación de HCV (K. Ishi, et al., "Expression of Hepatitis C Virus NS5B Protein: Characterization of Its RNA Polymerase Activity and RNA Binding," *Heptology*, 29: 1227-1235 (1999); V. Lohmann, et al., "Biochemical and Kinetic Analysis of NS5B RNA-Dependent RNA Polymerase of the Hepatitis C Virus," *Virology*, 249: 108-118 (1998)). La inhibición de la polimerasa HCV NS5B evita la formación de ARN HCV de hebra doble y por lo tanto constituye una aproximación atractiva para el desarrollo de terapias antivirales específicas de HCV.

...
99b

El HCV pertenece a una familia mucho mayor de virus que comparte muchas características comunes.

Virus Flaviviridae

La familia de virus Flaviviridae comprende al menos tres géneros distintos: pestivirus, que se pueden originar en el ganado y en cerdos; flavivirus, que son la causa primaria de enfermedades tales como la fiebre de dengue y la fiebre amarilla; y hepacivirus, cuyo solo miembro es el HCV. El género flavivirus incluye más de 68 miembros separados en grupos sobre la base de relaciones sexológicas (Calisher et al., J Gen. Virol, 1993,70, 37-43). Los síntomas clínicos varían e incluyen fiebre, encefalitis y fiebre hemorrágica, (Fields Virology, Editors: Fields, B. N., Knipe, D. M., y Howley, P. M., Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, PA, 1996, Capítulo 31, 931-959). Los Flavivirus de preocupación mundial que están asociados con la enfermedad humana incluyen el virus de la fiebre hemorrágica del dengue (DHF), el virus de fiebre amarilla, el síndrome de choque y el virus de la encefalitis Japonesa (Halstead, S. B., Rev. Infect. Dis., 1984,6, 251-264; Halstead, S. B., Science, 239: 476-481, 1988; Monath, T. P., New Eng. J. Med, 1988, 319,64 1-643).

997/10

El género pestivirus incluye virus de diarrea viral bovina (BVDV), virus de fiebre de cerdo clásica (CSFV, también denominado cólera de cerdo) y virus de enfermedad de frontera (BDV) de oveja (Moennig, V. et al. Adv. Vir. Res. 1992,41, 53-98). Las infecciones de Pestivirus de rebaños domesticados (ganado, cerdos y ovejas) originan pérdidas económicas significativas a nivel mundial. Las BVDV originan enfermedad de mucosa en el ganado y son de importancia económica significativa para la industria ganadera (Meyers, G. y Thiel, H. J., Advances en Virus Research, 1996,47, 53-118; Moennig V., et al, Adv. Vir. Res. 1992,41, 53-98). Los pestivirus humanos no han sido tan extensivamente caracterizados como los pestivirus animales. Sin embargo, los estudios serológicos indican exposición considerable a pestivirus humanos.

Los pestivirus y hepacivirus son grupos de virus cercanamente relacionados dentro de la familia Flaviviridae. Otros virus cercanamente relacionados en esta familia incluyen el virus A GB, agentes similares a virus A GB, virus-B GB y virus-C GB (también denominado virus de la hepatitis G, HGV). El grupo de los hepacivirus (virus de hepatitis C; HCV) consiste de un número de virus cercanamente relacionados pero genotípicamente distinguibles que infectan los humanos. Estos

son por lo menos 6 genotipos HCV y más de 50 subtipos. Debido a la similitud entre los pestivirus y los hepacivirus, combinado con una pobre capacidad de los hepacivirus a crecer eficientemente en cultivo celular, el virus de la diarrea viral bovina (BVDV) se utiliza a menudo como un subrogado para estudiar los virus HCV virus.

La organización genética de los pestivirus y de los hepacivirus es muy similar. Estos virus ARN de hebra positiva poseen una estructura de lectura abierta larga simple (ORF) que codifica todas las proteínas virales necesarias para la replicación de virus. Estas proteínas se expresan como una poliproteína que es co y pos transduccionalmente procesada mediante las proteinasas codificadas celular y de virus para producir la proteína viral madura. Las proteínas virales responsables de la replicación del ARN de genoma viral están localizadas en aproximadamente en el terminal. Dos tercios de los ORF son denominados proteínas no estructurales (NS). La organización genética de la poliproteína que procesa la porción de la proteína no estructural del ORF para los pestivirus y los hepacivirus es muy similar. Para ambos los pestivirus y hepacivirus, las proteínas no estructurales maduras (NS), en orden secuencial desde el aminoterminal de la región codificante de proteína no estructural al

999 #

carboxiterminal del ORF, consiste de p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, y NS5B. Las proteínas NS de los pestivirus y los hepacivirus comparte dominios de secuencia que son característicos de funciones de proteína específicos. Por ejemplo, las proteínas NS3 de los virus en ambos grupos posee características de motivos de secuencias de aminoácido de serina proteinasas y de helicasas. (Gorbalenya et al. (1988) Nature 333: 22; Bazan y Fletterick (1989) Virology 171: 637-639; Gorbalenya et al. (1989) Nucleic Acid Res. 17:3889-3897). De forma similar, las proteínas NS5B de pestivirus y hepacivirus tienen las características de motivos de ARN polimerasas dirigidas por ARN (Koonin, E. V. y Dolja, V. V. (1993) Crit. Rev. Biochem. Molec. Biol. 28: 375-430).

Los papeles y las funciones actuales de las proteínas NS de los pestivirus y hepacivirus en el ciclo de vida de los virus son directamente análogas. En ambos casos, la serina proteinasa NS3 es responsable por todo el procesamiento proteolítico de los precursores de poliproteína corriente debajo de su posición en el ORF (Wiskerchen y Collett (1991) Virology 184: 341-350; Bartenschlager et al. (1993) J. Virol. 67: 3835-3844; Eckart et al. (1993) Biochem. Biophys. Res. Comm. 192: 399-406; Grakoui et al. (1993) J. Virol. 67: 2832-2843; Grakoui et al. (1993) Proc. Natl. Acad Sci. USA 90:

100%

10583-10587; Hijikata et al. (1993) J. Virol. 67: 4665-4675; Tome et al. (1993) J Virol. 67: 4017-4026). Las proteínas NS4A, en ambos casos, actúan como un cofactor con la serina proteasa NS3 (Bartenschlager et al. (1994) J. Virol. 68: 5045-5055; Failla et al. (1994) J. Virol. 68: 3753-3760; Xu et al. (1997) J. Viral. 71: 53 12-5322). Las proteínas NS3 de ambos virus también funciona como una helicasa (Kim et al. (1995) Biochem. Biophys. Res. Comm. 215: 160-166; Jin y Peterson (1995) Arch. Biochem. Biophys., 323: 47-53; Warrener y Collett (1995) J. Virol. 69: 1720-1726). Finalmente, las proteínas NS5B de los pestivirus y hepaticivirus tienen la actividad de ARN polimerasa dirigidas por ARN predichas (Behrens et al. (1996) EMBO. 15: 12-22; Lechmann et al. (1997) J. Virol. 71: 8416-8428; Yuan et al. (1997) Biochem. Biophys. Res. Comm. 232: 231-235; Hagedorn, PCT WO 97/12033; Zhong et al. (1998) J. Virol. 72.9365-9369).

Tratamiento de infecciones HCV con interferón

Los interferones (IFN) han estado comercialmente disponibles para el tratamiento de la hepatitis crónica por aproximadamente una década. Los IFN son glicoproteínas producidas mediante células inmunes en respuesta a la infección viral. Los IFN inhiben la replicación de un número

1001 7

de virus, que incluye el HCV, y cuando se utilizan como el tratamiento solo para la infección de hepatitis C, el IFN puede en ciertos casos suprimir el HCV - ARN del suero a niveles indetectables. Adicionalmente, el IFN puede normalizar los niveles de aminotransferasa del suero. Desafortunadamente, el efecto del IFN es temporal y ocurre una respuesta sostenida en solamente 8%-9% de los pacientes crónicamente infectados con HCV (Gary L. Davis. Gastroenterology 18: S104-S114, 2000). La mayoría de los pacientes, sin embargo, tiene la dificultad para tolerar un tratamiento con interferón, que origina síntomas similares a gripa severa, pérdida de peso, y falta de energía y vigor.

Un número de patentes describe los Flaviviridae, que incluye HCV, y tratamientos que utilizan terapias a base de interferón. Por ejemplo. La Patente U.S. No. 5,980,884 otorgada a Blatt et al. Describe métodos para el tratamiento de pacientes afligidos con HCV que utilizan interferón consensus. La Patente U. S. No. 5,942, 223 otorgada a Bazer et al. describe una terapia anti-HCV utilizando interferón-tau ovino o bovino. La Patente U. S. No. 5,928,636 otorgada a Alber et al. describe la terapia de combinación de interleucina-12 e interferón alfa para el tratamiento de enfermedades infecciosas que incluyen HCV. La Patente U. S.

102 27

No. 5,849,696 otorgada a Chretien et al. describe el uso de limosinas, solas o en combinación con interferón, para el tratamiento de HCV. La Patente U. S. No. 5,830,455 otorgada a Valtuena et al. describe una terapia HCV de combinación que emplea interferón y un absorbedor de radicales libres. La Patente No. 5,738,845 otorgada a Imakawa describe el uso de proteínas de interferón tau humano para el tratamiento de HCV. Otros tratamientos basados en interferón para HCV se describen en la Patente No. 5,676,942 otorgada a Testa et al., la Patente U. S. No. 5,372,808 otorgada a Blatt et al., y la Patente U. S. No. 5,849,696. Un número de patentes también describe formas pegiladas de interferón, tal como la Patente U. S. Nos. 5,747,646, 5,792,834 y 5,834,594 otorgada a Hoffmann-La Roche; Publicación PCT No. WO 99/32139 y WO 99/32140 de Enzon; WO 95/13090 y Patente U. S. Nos. 5,738,846 y 5,711,944 de Schering; y la Patente U. S. No. 5,908,621 de Glue et al.

El Interferón alfa-2a y interferón alfa-2b están actualmente aprobados como monoterapia para el tratamiento de HCV. El ROYERON®-A (Roche) es la forma recombinante del interferón alfa-2a. El PEGASYS® (Roche) es la forma pegilada, (es decir polietilenglicol modificado) de interferón alfa-2a. INTRON®A (Schering Corporation) es la forma recombinante del

103 77

Interferón alfa-2b, y el PEG-INTRON (Schering Corporation) es la forma pegilada de interferón alfa-2b.

Otras formas de interferón alfa, así como también el interferón beta, gamma, tau y omega están actualmente en desarrollo clínico para el tratamiento de HCV. Por ejemplo, el INFERGEN (interferón alfacon-1) de InterMune, OMNIFERON (interferón natural) de Viragen, ALBUFERON de Human Genome Sciences, REBIF (interferón beta-1a) de Ares-Serono, Omega Interferón de BioMedicina, Oral Interferón Alfa de Amarillo Biosciences, y interferón gamma, interferón tau, y interferón gamma-1b de InterMune están en desarrollo.

Ribivarina

La Ribavirina (1- β -D-ribofuranosil-1-1,2,4-triazol-3-carboxamida) es un análogo de nucleósido antiviral de amplio espectro que no induce interferón sintético vendido bajo el nombre comercial Virazole (The Merck Index, 11ma edición, Editor: Budavari, S., Merck & Co., Inc., Rahway, NJ, p1304, 1989). La Patente U.S. No. 3,798,209 y RE29,835 describe y reivindica la Ribavirina. La Ribavirina es estructuralmente a la guanosina, y tiene una actividad in Vitro contra varios

1004 ~~11~~

virus de DNA y RNA que incluyen Flaviviridae (Gary L. Davis. Gastroenterology 118: 5104-51 14,2000).

La ribavirina reduce los niveles de amino transferasa del suero a niveles normales en el 40% de los pacientes pero esta no disminuye los niveles de suero de HCV-RNA (Gary L. Davis, 2000). Así, la ribavirina sola no es efectiva para reducir los niveles de ARN viral. Adicionalmente, la ribavirina tiene toxicidad significativa y es conocida por inducir anemia. La ribavirina no está aprobada para monoterapia contra HCV. Se ha aprobado en combinación con interferón alfa-2a o interferón alfa-2b para el tratamiento de HCV.

La ribavirina es un inhibidor de inopina monofosfato deshidrogenada conocido que no tiene actividad anti-HCV específica en el sistema replicón (Stuyver et al. Journal de Virology, 2003,77, 10689-10694).

Combinación de Interferón y Ribavirina

El estándar actual de cuidado para hepatitis C crónica es la terapia de combinación con un interferón- α y ribavirina. La combinación de interferón y ribavirina para el tratamiento de infección HCV se ha reportado como efectiva en el tratamiento

1005 4*

de pacientes naturales de interferón (Battaglia, A. M. et al., Ann. Pharmacoter. 34: 487-494, 2000), así como también para el tratamiento de pacientes cuando la enfermedad histológica está presente (Berenguer, M. et al. Antivir. Ther. 3 (Suppl. 3): 125-136, 1998). Los estudios han mostrado que más pacientes con hepatitis C responden a terapia de combinación de interferón-alfa/ribavirina pegilada a terapia de combinación interferón alfa nopegilado. Sin embargo, como con la monoterapia, se desarrollan efectos colaterales significativos durante la terapia de combinación, incluyendo hemólisis, síntomas similares a resfriado, anemia, y fatiga (Gary L. Davis, 2000). La terapia de combinación con PEG-INTRON® (peginterferón alfa-2b) y REBETOLO® (Ribavirin, USP) capsulas están disponibles Schering Corporation. El REBETOL® (Schering Corporation) ha sido aprobado en combinación con el INTRON® A (Interferón alfa-2b, recombinante, Schering Corporation). El PEGASYS® de Roche (interferón alfa-2a pegilado) y COPEGUS® (ribavirin), así como también la Ribosfera® Three River Pharmaceutical's están aprobados para el tratamiento de HCV.

La publicación PCT No. WO 99/59621, WO 00/37110, WO 01/81359, WO 02/32414 y WO 03/02446 1 de Schering Corporación describen el uso de interferona alfa pegilado y terapia de combinación

1006 12

de ribavirina para el tratamiento de HCV. La publicación PCT No. WO 99/15 194, WO 99/64016, y WO 00/24355 de Hoffmann-La Roche Inc. también describen el uso de interferón alfa pegilado y terapia de combinación con ribavirina para el tratamiento de HCV.

Métodos adicionales para el tratamiento de infecciones de Flaviviridae

El desarrollo de nuevos agentes antivirales para la infecciones de Flaviviridae especialmente hepatitis C, está actualmente en camino. Los inhibidores específicos de enzimas derivadas de HCV como los inhibidores proteasa, helicas y polimerasa están siendo desarrollados. Drogas que inhiben otras etapas de la replicación HCV también están en desarrollo, por ejemplo, drogas que bloquean la producción de antígenos HCV de ARN (inhibidores IRES), drogas que evitan el procesamiento normal de proteínas HCV (inhibidores de glicosilación), drogas que bloquean la entrada de HCV a las células (al bloquear su receptor) y agentes citoprotectores no específicos que bloquean el daño celular causado por la infección viral. Adicionalmente, la aproximaciones moleculares también están siendo desarrolladas para tratar hepatitis C, por ejemplo, ribozimas, que son enzimas que

1007 46

rompen las moléculas de ARN viral específicas, oligonucleótidos contrasentido, que son segmentos complementarios pequeños de ADN que se unen ARN viral y que inhiben la replicación viral y técnicas de interferencia de ARN están bajo investigación (Bymock et al. Antiviral Chemistry & Chemoterapy, 11: 2; 79-95 (2000); De Francesco et al. En Antiviral Research, 58: 1-16 (2003); y Kronke et al., J; Virol., 78: 3436-3446 (2004).

El virus de la diarrea viral bovina (BVDV) es un pestivirus que pertenece a la familia Flaviviridae y ha sido utilizado para subrogar un ensayo in Vitro de agentes antivirales potenciales. Aunque la actividad contra BVDV puede sugerir actividad contra otros flavivirus, a menudo un compuesto puede ser inactivo contra BVDV y activo contra otros flavivirus. Sommadossi y La Colla han revelado ("Methods y compositions for treating flavivirus and pestivirus", PCT WO 01/92282) que los ribonucleósidos que contienen el grupo metilo en la posición 2' "arriba" tienen actividad contra BVDV. Sin embargo, no es claro si estos compuestos pueden inhibir otros flavivirus, que incluyen HCV en cultivo celular o en el nivel HCV NS5B. De manera interesante en que esta publicación describe un gran número de compuesto que son 2'-metil-2'-X-ribonucleósidos, donde X es un halógeno, el flúor

1003 4

no se considera. Adicionalmente, una senda sintética que conduce a los nucleósidos halogenados en la posición 2' "baja" no es mostrado por estos inventores.

El virus del Dengue (DENV) es el agente causante de la fiebre hemorrágica del Dengue (DHF). De acuerdo con la organización mundial de la salud (OMS), quintos de la población mundial están ahora en riesgo de infección con este virus. Unos 500.000 casos estimados de DHF requieren hospitalización cada año con una proporción de mortalidad del 5% en niños.

El virus de Nilo Occidental (WNV), un flavivirus previamente conocido por existir solamente en regiones intertropicales, ha emergido en los años recientes en áreas templadas de Europa y Norte América, presentando una amenaza a la salud pública. La manifestación más seria de infección WNV es la encefalitis fatal en humanos. Las irrupciones en la ciudad de Nueva York y las ocurrencias esporádicas en el Sur de los Estados Unidos han sido reportadas desde 1999.

No existe un tratamiento preventivo de HCV, virus del Dengue (DENV) o infección del virus del Nilo Occidental. Actualmente las terapias aprobadas, que existen solamente contra HCV, son limitadas. Ejemplos de agente antivirales que han sido

1009 5/

identificados como activo contra el flavivirus hepatitis C incluyen: 1) Inhibidor de de proteasa NS3 basados en sustratos (Attwood et al., PCT WO 98/22496, 1998; Attwood et al., Antiviral Chemistry y Chemoterapy 1999,10, 259-273; Attwood et al., Preparación y use de aminoácido derivatives as anti-viral agents, German Patent Pub. DE 19914474; Tung et al. Inhibitors de serine proteases, particularmente virus de hepatitis C NS3 protease, PCT WO 98/17679), que incluyen alfacetoamidas y hidrazinoureas, e inhibidores que terminan en un electrófilo tal como ácido borónico o fosfonato (Llinas-Brunet et al, Hepatitis C inhibitor peptide analogues, PCT WO 99/07734) están siendo investigados.

Los inhibidores de NS3 proteasa no basados en sustrato tales como derivados 2,4,6-trihidroxí-3-nítro-benzamida (Sudo K. et al., Biochemical y Biofysical Research Communications, 1997, 238, 643-647; Sudo K. et al. Antiviral Chemistry y Chemoterapy, 1998,9, 186), que incluyen RD3-4082 y RD3-4078, de sustituyente anterior en la amida con una cadena de 14 carbono y el último procesando un grupo para fenoxifenilo también están SINDO investigados.

El SCH 68631, una fenantrenoquinona, es un inhibidor de proteasa HCV (Chu M. et al., Tetrahedron Letters 3 7: 7229-

10/10 8

7232,1996). En otro ejemplo de los mismos autores, el SCH 351633, aislado del hongo *Penicillium griseofulvum*, se identificó como un inhibidor de proteasa (Chu M. et al., *Bioorganic y Medicinal Chemistry Letters* 9: 1949-1952). La potencia Narmolar contra la enzima de NS3 proteasa de HCV se ha logrado mediante el diseño de inhibidores selectivos basados en la macromolécula eglin c. El eglin c, aislado de la sanguijuela, es un potente inhibidor de varias serinas proteasas tales como las proteasas de *S. griseus* proteases A y B, α -quimotrypsina, quimasa y subtilisina (Qasim M. A. et al., *Biochemistry* 36: 1598-1607, 1997).

Varias patentes estadounidense describen inhibidores de proteasa para el tratamiento de HCV. Por ejemplo, la Patente U. S. No. 6,004, 933 de Spruce et al., describe una clase de inhibidores de cisterna proteasa para inhibir la endopeptidasa 2 de HCV. La Patente U. S. No. 5,990, 276 de Zhang et al. Describe los inhibidores sintéticos de la NS3 proteasa del virus de la hepatitis C. el inhibidor es una subsecuencia de un sustrato de NS3 proteasa o un sustrato del cofactor NS4A. El uso de enzimas de restricción para tratar HCV se describe en la Patente U. S. No. 5,538, 865 de Reyes et al. Los peptidos como los inhibidores de serina proteasa NS3 de HCV se describe WO 02/008251 de Corvas

International, Inc. y WO 02/08187 y WO 02/008256 to Schering Corporation. Los tripeptidos inhibidores de HCV se describen en la Patente U. S. No. 6,534, 523,6, 410,531, y 6,420, 380 de Boehringer Ingelheim y WO 02/060926 de Bristol Myers Squibb. Los diaril péptidos como inhibidores de serina proteasa de NS3 de HCV se describen en la WO 02/48172 de Schering Corporation. Las imidazoleidinonas como los inhibidores de serina proteasa NS3 de HCV se describen en la WO 02/08198 de Schering Corporación y WO 02/48157 de Bristol Myers Squibb. La WO 98/17679 de Vertex Pharmaceuticals y WO 02/48116 de Bristol Myers Squibb también describe inhibidores de proteasa HCV.

2) Los derivados de tiazolidina que muestran inhibición relevante en un HPLC de fase inversa en un ensayo de HPLC de fase inversa con una proteína de fusión NS3/4A y un sulfato NS5A/5B (Suko K. et al., *Antiviral Research*, 1996,32, 9-18), especialmente el compuesto RD-1-6250, que posee una porción cinnamoil fusionada sustituida con una cadena de alquilo larga, RD4 6205 y RD4 6193;

3) Las tiazolidinas y benzanilidos identificados en Kakiuchi N. et al. *J. EBS Letters* 421,217-220; Takeshita N. et al. *Analytical Biochemistry*, 1997,247, 242-246;

4) Una fenantrenoquinona que posee actividad contra proteasa en SDS-PAGE y ensayo de auto radiografía aislado del caldo de cultivo fermentación de *Streptomyces* sp., Sch 68631 (Chu M. et al., *Tetrahedron Letters*, 1996,37, 7229-7232), y Sch 351633, aislado del hongo *Penicillium griseofulvum*, que demuestra actividad en un ensayo de proximidad de centelleo (Chu M. et al., *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 9, 1949-1952);

5) Los inhibidores Helicasa (Diana G. D. et al., Compounds, compositions and methods for treatment of hepatitis C, Pat. U. S. No. 5,633, 358; Diana G. D. et al., Piperidin derivatives, pharmaceutical composition thereof and their use in the treatment of hepatitis C, PCT WO 97/36554);

6) Los inhibidores de polimerasa de nucleótido y gliotoxina (Ferrari R. et al. *Journal of Virology*, 1999,73, 1649-1654), y el producto natural cerulenina (Lohmann V. et al, *Virology*, 1998,249, 108-118);

7) Los oligodesoxinucleotidos de fosforotioato antisentido (S-ODN) complementarios a las porciones de secuencia en la región no codificante 5' (NCR) del virus (Alt M. et al.,

b13

Hepatology, 1995,22, 707-717), o los nucleótidos 326-348 que comprenden el extremo 3' NCR y los nucleótidos 371-388 localizados en la región codificante núcleo HCV ARN (Alt M. et al., *Archives of Virology*, 1997,142, 589-599; Galderisi U. et al., *Journal of Cellular Physiology*, 1999,181, 251-257);

8) Los inhibidores de la traducción dependiente IRES- (Ikeda N. et al., Agente para la prevención y tratamiento de hepatitis C, Pub. Patente Japonesa. JP-8268890; Kai Y. et al. Prevención y tratamiento de enfermedad viral, Pub. Patente Japonesa JP-10101591);

9) Los ribosomas, tales como los ribosomas resistentes a nucleasa (Maccjak, D. J. et al., *Hepatology* 1999,30, resumen 1995) y aquellos descritos en la patente U. S. No. 6,043, 077 de Barber et al., y la patente U. S. Nos. 5,869, 253 y 5,610, 054 de Draper et al;

10) Los análogos de nucleótido también se han desarrollado para el tratamiento de infecciones con Flavivirus.

Idenix Pharmaceuticals describe el uso de ciertos nucleótidos con ramas en el tratamiento de flavivirus (incluyendo HCV) y pestivirus en las publicaciones internacionales Nos. WO

1014

01/90121 y WO 01/92282. Específicamente toma, un método para el tratamiento de infección con virus de la hepatitis C (y flavivirus y pestivirus) en humanos y otros animales huéspedes se describe en las publicaciones de Idenix que incluyen administrar una cantidad efectiva del 1', 2', 3' o 4'-ramificado β -D o β -L nucleósidos biológicamente activos o una sal farmacéuticamente aceptable o derivados de estos, administrada sola o en combinación con otro agente viral, opcionalmente en un portador farmacéuticamente aceptable.

La WO 2004/002422 de Idenix publicada en junio 8, 2004 describió una familia de 2'-metilo nucleósidos para el tratamiento de infecciones flavivirus. WO 2004/002999 de Idenix, en la publicación de junio 8, 2004 describe una serie de prodrogas 2' o 3' de nucleósidos 1', 2', 3', o 4' ramificados para el tratamiento de infecciones con flavivirus que incluye infecciones HCV.

Otras solicitudes de patente que describen el uso de ciertos análogos de nucleósido para tratar la infección del virus de la hepatitis C incluyen: PCT/CA00/01316 (WO 01/32153; presentado en Noviembre 3, 2000) y PCT/CA01/00197 (WO 01/60315; presentado en Febrero 19, 2001) presentado en by BioChem Pharma, Inc. (ahora Shire Biochem, Inc.);

b15 \$

PCT/US02/01531 (WO 02/057425; presentado en Junio 18,2002) y PCT/U502/03086 (WO 02/057287; presentado en Junio 18,2002) presentado en by Merck & Co., Inc., PCT/EPOT/09633 (WO 02/18404; publicado en agosto 21,2001) presentado en by Roche, y PCT Publicación Nos. WO 01/79246 (filed April 13,2001), WO 02/32920 (finalizo en octubre 18,2001) y WO 02/48 165 by Pharmasset, Ltd.

La WO 2004/007512 de Merck & Co. Describe un número de compuestos de nucleótido descritos como inhibidores de polimerasa viral de ARN dependiente de ARN. Los nucleósidos descritos en esta publicación son primariamente 2'-metil-2'-hidroxi sustituidos. WO 02/057287 de Merck et al. Publicado en julio 25,2002, describe un genero grande de nucleósidos derivados de pirimidina de las sustituciones 2'-metil-2'-hidroxi. WO 2004/009020 de Merck et al. Describe una serie de derivados de tionucleósido como inhibidores de la polimerasa viral ARN dependiente de ARN. WO 03/105770 de Merck et al. Describe una serie de molécula de derivados nucleósidos carboxílicos que son útiles para el tratamiento de infecciones HCV.

La publicación PCT No. WO 99/43691 de Emory University, titulada "2'-fluoronucleósidos "describe el uso de ciertos

p16 28

2'-fluoronucleósidos para tratar HCV. La patente U. S. No. 6, 348, 587 de Emory University titulada "2'-fluoronucleósidos" describe una familia 2'-fluoronucleósidos útiles para el tratamiento de la hepatitis B, HCV, HIV y proliferación celular anormal. El 2'sustituyente se describe por estar en cualquier pudrición "arriba" o "abajo".

Eldrup et al. (Oral Sesión V, Hepatitis C Virus, Flavivirus; 16 conferencia internacional de Antiviral hecha (Abril 27, 2003, Savannah, Ga.)) Describe la relación de actividad de estructura de los nucleósidos de 2'-modificados para la inhibición HCV.

Bhat et al. (Oral Session V, Hepatitis C Virus, Flavivirus; 16t conferencia internacional de antiviral hecha en (Abril 27, 2003, Savannah, Ga.); p A75) describe la síntesis y las propiedades farmacocinéticas de los análogos de nucleósidos como posibles inhibidores de la replicación de ARN HCV. Los autores reportan que los nucleósidos 2'-modificados demuestran actividad inhibitoria potente en los ensayos replicón basados en células.

Olsen et al. (Oral Session V, Hepatitis C Virus, Flaviviridae; 16t International Conference on Antiviral

10/7/05

Research (April 27, 2003, Savannah, Ga.) p A76) también describe los efectos de los nucleósidos 2'-modificados sobre la replicación del ARN HCV.

11) Otros compuestos misceláneos que incluyen 1-aminoalquilciclohexanos (Patente U. S. No. 6,034, 134 otorgada a Gold et al.), alquil lípidos (Pat. U. S. No. 5,922, 757 otorgada a Chojkier et al.), la vitamina E y otros antioxidantes (Pat. U. S. No. 5,922, 757 otorgada a Chojkier et al.), esqualeno, amantadina, ácidos de bilis (U. S. Pat. No. 5,846, 964 otorgada a Ozeki et al.), ácido N-(fosfonoacetil)-L-aspartico, (Pat. U. S. No. 5,830,905 otorgada a Diana et al.), benzenodicarboxamidas (Pat. U. S. No. 5,633,388 otorgada a Diana et al.), derivados de ácido poliadenílico (Pat. U. S. No. 5,496,546 otorgada a Wang et al.), 2,3-didesoxiinosina (Pat. U. S. No. 5,026,687 otorgada a Yarchoan et al.), benzimidazoles (Pat. U. S. No. 5,891,874 otorgada a Colacino et al.), extractos de plantas (Patente U. S. No. 5,837,257 otorgada a Tsai et al., Patente U. S. No. 5,725,859 otorgada a Omer et al., y Patente U. S. No. 6,056,961), y piperidinas (Patente U. S. No. 5,830,905 otorgada a Diana et al.).

b13 02

12) Otros compuestos habitualmente en desarrollo preclínico o clínico para el tratamiento de infección por el virus de la hepatitis C incluyen: Interleuquina-10 de Schering-Plough, IP-S01 de Intemeuron, Merimebodib (VX-497) de Vertex, AMANTADINE® (Symmetrel) de Endo Labs Solvay, HEPTAZYME® de RPI, IDN-6556 de Idun Pharma., XTL-002 de XTL., HCV/MFS9 de Chiron, CIVACIR® (Inmuno globulina de hepatitis C) de NABI, LEVOVIRIN® de ICN/Ribafan-n, VIRAMIDINE® de ICN/Ribafarm, ZADAXIN® (timosina alfa-1) de SciClone, timosina más interferón pegilado de Sci Clone, CEPLENE® (diclorhidrato de histamina) de Maxim, VX 950/LY 570310 de Vertex/Eli Lilly, ISIS 14803 de Isis Pharmaceutical/Elan, IDN-6556 de Idun Pharmaceuticals, Inc., JTK 003 de AKROS Pharma, BILN-2061 de Boehringer Ingelheim, CellCept (micofenolato mofetil) de Roche, T67, un inhibidor β -tubulina, de Tularik, una vacuna terapéutica dirigida a E2 de Innogenetics, FK788 de Fujisawa Healthcare, Inc., ldB 1016 (Silifos, fitosoma silibin-fosfatdilcolina oral), inhibidores para replicación de ARN (VP50406) por ViroPharma/Wyet, vacuna terapéutica de Intercell, vacuna terapéutica de Epimmune/Genencor, inhibidor de IRES de Anadys, ANA 245 y ANA 246 de Anadys, inmunoterapia (Therapore) de Avant, inhibidor de proteasa por Corvas/SChering, inhibidor de helicasa de Vertex, inhibidor fusión de Trimeris, terapia de célula T de CellExSys,

1019 \$

inhibidor de polimerasa de Biocryst, química de ARN objetivada de PTC Therapeutics, Dicación de Immtech, Int., inhibidor de proteasa de Agouron, inhibidor de proteasa de Chiron/Medivir, terapia antisentido de AVI BioPharma, terapia antisentido de Hybridon, hemopurificador de Aetlon Medical, vacuna terapéutica de Merix, inhibidor de proteasa de Bristol-Myers Squibb/Axys, Chron-VacC, una vacuna terapéutica, de Tripep, UT 231 B de United Therapeutics, inhibidores proteasa, helicasa y polimerasa de Genelabs Technologies, IRES inhibidores de Immusol, R803 de Rigel Pharmaceuticals, INFERGEN® (interferón alfacon-1) de InterMune, OMNIFERON® (natural interferón) de Viragen, ALBUFERON® de Human Genome Sciences, REBIF® (interferón beta-la) de Ares-Serono, Omega Interferón de BioMedicina, Oral Interferón Alfa de Amarillo Biosciences, interferón gamma, interferón tau, e Interferón gamma-lb de InterMune. Rigel Pharmaceuticals está desarrollando un inhibidor de polimerasa HCV no nucleósido, R803, que muestra promesa por ser sinérgico con IFN y ribavirina.

13) Un resumen de varias drogas en investigación, incluyen varias discutidas anteriormente, están actualmente en varias fases de desarrollo para el tratamiento de HCV, se resumen adelante:

p20

Droga	Mecanismo/objetivo	Compañía	Estado U.S.
BILN-2061	inhibidor NS3 Serina-proteasa	Boehringer Ingelheim	Fase II
ISIS 14803	Contrasentido/traducción del ARN	ISIS/Elan	Fase II
Viramidina	Prodroga de Ribavirina	Ribafarm	Fase II
NM 283	Inhibidor de polimerasa de ARN HCV	Idenix	Fase II/III
VX-497	Inhibidor de IMPDH	Vertex	Fase I/II
JKT-003	Inhibidor de polimerasa ARN HCV	Japan Tobacco/Akros	Fase I/II
Levovirina	Análogo de L-Ribavirina	Ribafarm/Roché	Fase I/II
Isatoribina ; ANA245	Análogo de nucleósido interactúa con el receptor TLR7	Anadys	Fase I
Albuferon	Modulador inmune	Human Genome Sciences	Fase I
Peg-Infergen	Modulador inmune	Intermune	Fase I
VX-950	Inhibidor de proteasa NS3-4A HCV	Vertex	Preclínico
SCH 6	Inhibidor de proteasa NS3-4A HCV	Schering Plough	Preclínico
R803	Inhibidor de polimerasa ARN HCV	Rigel	Fase I
HCV-086	--	ViroPharma/Wyeth	Fase I

1021 28

R1479	Inhibidor polimerasa ARN HCV	de Roche	Fase I
-------	---------------------------------	----------	--------

Las prodrogas de nucleósido han sido previamente descritas para el tratamiento de otras formas de hepatitis. La WO 00/09531 y WO 01/96353 de Idenix Pharmaceuticals, describe 2'-desoxi- β -L-nucleósidos y sus 3'-prodrogas para el tratamiento de HBV. La Patente U. S. No. 4,957,924 de Beauchamp describe varios ésteres terapéuticos de aciclovir.

A la luz del hecho de que la infección por HCV ha alcanzado niveles epidémicos a nivel mundial, y tiene efectos trágicos en el paciente infectado, subsiste una fuerte necesidad de suministrar nuevos agentes farmacéuticos efectivos para tratar la hepatitis C que tienen baja toxicidad en el huésped.

Además, dada la creciente amenaza de otras infecciones de Flaviviridae subsiste una fuerte necesidad de suministrar nuevos agentes farmacéuticos efectivos que tengan baja toxicidad para el huésped.

RESUMEN DE LA INVENCION

1022 28

No existe actualmente un tratamiento preventivo contra el virus de la hepatitis C (HCV), el virus del dengue (DENV) o la infección del virus del Nilo Occidental (WNV), y terapias actualmente aprobadas, que existen solo contra HCV, son limitadas. El diseño y desarrollo de compuestos farmacéuticos es esencial, especialmente aquellos que son sinérgicos con otros aprobados y Flaviviridae de investigación, y en particular HCV, terapéuticos para la evolución de los estándares de tratamiento, que incluyen las terapias de combinación más efectivas.

La presente invención suministra a (2R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo nucleósido (β -D o β -L), o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de estos, y el uso de tales compuestos para el tratamiento de un huésped infectado con un virus que pertenece a la familia Flaviviridae, que incluye hepatitis C, Virus del Nilo Occidental y virus de fiebre amarilla. Adicionalmente, los nucleósidos de la presente invención muestran ser activos contra rinovirus. Los rinovirus (RV) son virus pequeños (30 nm), no envueltos que contienen un genoma de ácido ribonucleico de hebra simple (RNA) dentro del cápsido icosaédrico (20-lados). Los RV pertenecen a la familia Picornaviridae, que incluye incluye el género Enterovirus (poliovirus, coxsackievirus grupos A y

1023 55

B, ecovirus, enterovirus numerados) y Hepatovirus (virus hepatitis A).

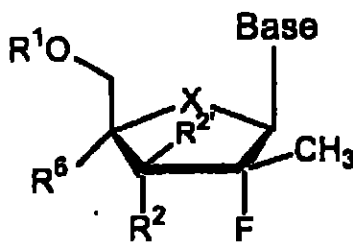
Aproximadamente 101 serotipos están identificados actualmente. Los rinovirus están más frecuentemente asociados con el resfriado común, nasofaringitis, garrotillo, neumonía, otitis media y exacerbaciones de asma.

El inventor ha hecho el experimento inesperado de que las sustituciones 2' sobre los nucleósidos β -D o β -L de la presente invención imparten mayor especificidad para el virus de la hepatitis C así como también exhibe baja toxicidad luego de administración al huésped. La invención también incluye un método para tratar una infección con Flaviviridae, que incluye virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental y virus de fiebre amarilla e infección por rinovirus, que incluye la administración de una cantidad antiviralmente efectiva de nucleósido β -D o β -L descrito aquí, o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga, opcionalmente en un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable, opcionalmente en combinación o alternando con otros agentes antivirales efectivos.

1074 38

Los nucleósidos de la presente invención, poseen las propiedades únicas de tener mayor especificidad para el virus de la hepatitis C y menor toxicidad en cultivo o cuando se administra a un animal. Otra razón potencial pero no limitante para esto es la presencia de la sustitución 2'-fluoro en el anillo de ribosa. Por ejemplo, la Patente U. S. No. 6,348,587 otorgada a Schinazi et al., describe una familia de compuestos de nucleósido 2'-fluoro que son útiles en el tratamiento de la infección del virus de la hepatitis C. Como contraste, la sustituciones 2'-metilo tal como la encontrada en la 2'-C-metilcitidina como se muestra en la WO 2004/02999 otorgada a Idenix en donde la sustitución 2'-metilo sobre el anillo de nucleósido en la posición 2' no es específico para la hepatitis C.

Así, en un aspecto, el nucleósido antiviralmente efectivo es un (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de estos de la fórmula general:



1025-43

en donde

(a) La base es una base de purina o pirimidina de ocurrencia natural o modificada;

(b) X es O, S, CH₂, Se, NH, N-alquilo, CHW (R,S, o racémico), C (W)₂, en donde W es F, Cl, Br, o I;

(c) R¹ y R⁷ son independientemente H, fosfato, que incluye 5'-monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquilo o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D, un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra *in vivo* es capaz de suministrar un compuesto en donde R¹ es H o fosfato; R² es OH o fosfato; R¹ y R² o R⁷ también se pueden ligar con el grupo fosfato cíclico; y

1026 28

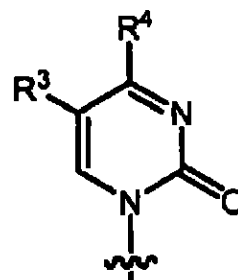
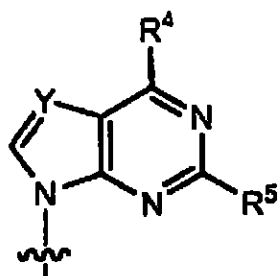
(d) R^3 y $R^{2'}$ son independientemente H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{1-4} , 1-4 alquinilo, vinilo, N_3 , CN, Cl, Br, F, I, NO_2 , $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O(\text{acilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O(\text{Co } 4 \text{ alquenilo})$, $S(\text{Cl } \text{acilo})$, $S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $S(\text{Cl } 4 \text{ alquenilo})$, $SO(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{acilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, NH_2 , $NH(\text{alquilo } C_{1-4})$, $NH(\text{Co } 4 \text{ alquenilo})$, $NH(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $NH(\text{acilo } C_{1-4})$, $N(\text{alquilo } C_{1-4})_2$, $N(\text{Ci-is } \text{acil})_2$, en donde alquilo, alquinilo, alquenilo y vinilo son opcionalmente sustituidos por N_3 , CN, uno a tres halógenos (Cl, Br, F, I), NO_2 , $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O(\text{acilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $S(\text{acilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $S(\text{Cl } \text{alquinilo})$, $S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{Cm } \text{acilo})$, $SO_2(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{acilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, NH_2 , $NH(\text{alquilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $NH(\text{acilo } C_{1-4})$, $N(\text{alquilo } C_{1-4})_2$, $N(\text{acilo } C_{1-4})_2$, R^3 y $R^{2'}$ pueden

b27 of 27

estar juntos para formar un vinilo opcionalmente sustituido por uno o dos de N_3 , CN, Cl, Br, F, I, NO_2 ; OR^7 y

(e) R^6 es un alquilo opcionalmente sustituido (que incluye alquilo inferior), ciano (CN), CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , hidroximetilo (CH_2OH), fluorometilo (CH_2F), azido (N_3), $CHCN$, CH_2N_3 , CH_2NH_2 , CH_2NHCH_3 , $CH_2N(CH_3)_2$, alquino (opcionalmente sustituido), o fluoro.

En varios aspectos de la invención, la base se puede seleccionar a partir de



en donde

(a) Y es N o CH.

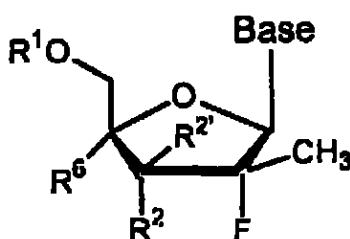
(b) R^3 , R^4 y R^5 son independientemente H, halógeno (que incluye F, Cl, Br, I), OH, OR' , SH, SR' , NH_2 , NHR' , NR'_2 , alquilo inferior de C_1 - C_6 , alquilo inferior halogenado (F, Cl,

1028/04

Br, I) de C_1-C_6 tal como CF_3 y CH_2CH_2F , alqueno inferior de C_2-C_6 tal como $CH=CH_2$, alqueno inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C_2-C_6 tal como $CH=CHCl$, $CH=CHBr$ y $CH=CHI$, alquino inferior de C_2-C_6 tal como $C=CH$, alquino inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C_2-C_6 , alcoxi inferior de C_1-C_6 tal como CH_2OH y CH_2CH_2OH , alcoxi inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C_1-C_6 , CO_2H , CO_2R' , $CONH_2$, $CONHR'$, $CONR'_2$, $CH=CHCO_2H$, $CH=CHCO_2R'$;

en donde R' es un alquilo opcionalmente sustituido de C_1-C_{12} (particularmente cuando el alquilo es un residuo de aminoácido), cicloalquilo, alquino opcionalmente sustituido de C_2-C_6 , alqueno inferior opcionalmente sustituido de C_2-C_6 , o acilo opcionalmente sustituido.

En todavía otro aspecto, el nucleósido (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de estos puede ser de la fórmula:



en donde

1029 

(a) Base, Y, R¹, R², R^{2'}, R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ y R' son como se describió anteriormente.

Varios aspectos de la presente invención también incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de nucleósido (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) descrito aquí en sus sales farmacéuticamente aceptables o prodrogas de estos y un portador farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también suministra en varios aspectos, métodos para el tratamiento o profilaxis de infección del virus de hepatitis C, infección por virus del Nilo Occidental, una infección viral de fiebre amarilla o una infección por rinovirus que comprende administrar a un huésped una cantidad efectiva antiviralmente de un nucleósido (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo descrito aquí. La invención también incluye métodos para tratar o prevenir infección por Flaviviridae, que incluye todos los miembros del género Hepacivirus (HCV), género Pestivirus (BVDV, CSFV, BDV), o género Flavivirus (virus del Dengue, virus del grupo de la encefalitis Japonesa (que incluye Virus del Nilo Occidental), y virus de la Fiebre Amarilla).

1030 3

En varios aspectos, el (2R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metil β -D-nucleósido tiene un EC_{50} (concentración efectiva para lograr 50% inhibición) cuando se ensaya en un ensayo de célula apropiado basado en ensayo, de menos de 15 micromolar, y más particularmente, menos de 10 o 5 micromolar. En otro aspecto, el nucleósido es enriquecido enantioméricamente.

La presente invención también suministra métodos para el tratamiento o profilaxis de infección de virus de hepatitis C, infección por virus del Nilo Occidental, una infección viral de fiebre amarilla o una infección por rinovirus en un huésped que comprende administrar una cantidad efectiva de un nucleósido de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilos (β -D o β L) descritos aquí, o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de estos, en combinación o alternación con uno o más de otros agentes antivirales efectivos, opcionalmente en un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable de estos, como se describe aquí. Ejemplos no limitantes de los tipos de agentes antivirales o sus prodrogas que se pueden utilizar en combinaciones con los compuestos descritos aquí incluyen, pero no están limitados a: interferón, que incluye interferón alfa 2a, interferón alfa 2b, a pegilado interferón, interferón beta, interferón gamma, interferón tau y interferón omega; una interleuquina, que incluye

1031 \$

interleuquina 10 e interleuquina 12; ribavirina; interferón en combinación con ribavirina; un inhibidor de proteasa que incluye inhibidor NS3; un inhibidor helicasa; un inhibidor de polimerasa; gliotoxina; un inhibidor IRES; y oligonucleótido antisentido; un derivado de tiazolidina; una benzanilida, una ribozima; otro nucleósido, derivado de prodroga de nucleósido o nucleósido; un 1-amino-alquilciclohexano; un antioxidante que incluye vitamina E; esqualene; amantadina; un ácido de bilis; ácido N-(fosfonoacetil)-L-aspartico; una benzenodicarboxamida; ácido poliadnélico; unos benzimidazoles; timosina; un inhibidor beta tubulina; una vacuna profiláctica; fitosoma silibin-fosfatidilcolina; y micofenolato.

Los siguientes aspectos no limitativos ilustran alguna metodología general para obtener los nucleósidos de la presente invención. Específicamente, la síntesis de los presentes nucleósidos se puede lograr por cualquiera de dos medios generales:

1) alquilar el bloque de construcción de carbohidrato apropiadamente modificado, la posterior fluoroación, seguido por el acoplamiento para formar los nucleósidos de la presente invención (Esquema 1) o

1327

2) glicosilación para formar el nucleósido seguido por alquilación y fluorinación de los nucleósidos preformados de la presente invención (Esquema 2).

Adicionalmente, los L-enantiómeros que corresponden a los compuestos de la invención se pueden preparar siguiendo los mismos métodos generales (Esquemas 1 o 2), iniciando con el correspondiente bloque de construcción de L-carbohidrato o el nucleósido L-enantiómero como el material de partida.

Así, la presente invención incluye por lo menos las siguientes características generales:

(a) β -D y β -L nucleósidos de la fórmula general descrita, o sus sales farmacéuticamente aceptables o prodrogas de este, como se describe aquí;

(b) proceso para la preparación de β D y β -L nucleósidos de fórmula general descrita, o sus sales farmacéuticamente aceptables o prodrogas de este, como se describe aquí;

(c) composiciones farmacéuticas que comprende un nucleósido β -D o β -L de las fórmulas generales descritas, o su sal

farmacéuticamente aceptable o prodroga de estos, en un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable de estos, como se describe aquí, para el tratamiento o profilaxis de una infección viral en un huésped;

(d) composiciones farmacéuticas que comprende un nucleósido β D o β -L de las fórmulas generales descritas, o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de estos, en combinación con uno o más de otros agentes antivirales efectivos, opcionalmente en un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable de estos, como se describe aquí, para el tratamiento o profilaxis de una infección viral en un huésped;

(e) métodos para el tratamiento o profilaxis de una infección con Flaviviridae, que incluye virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental y virus de fiebre amarilla e infección por rinovirus en un huésped que comprende administrar una cantidad efectiva de un nucleósido β -D o β -L de las fórmulas generales descritas, o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de estos, opcionalmente en un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable de estos, como se describe aquí;

1034

(f) métodos para el tratamiento o profilaxis de una infección por Flaviviridae, que incluye virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental y virus de fiebre amarilla e infección por rinovirus en un huésped que comprende administrar una cantidad efectiva de β D o β -L nucleósido de las fórmulas generales descritas, o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de estos, en combinación o alternación con uno o más de otros agentes antivirales efectivos, opcionalmente en un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable de estos, como se describe aquí;

(g) el uso de un nucleósido β -D o β -L de las fórmulas generales descritas, o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de estos, opcionalmente en un portador farmacéuticamente aceptable, como se describe aquí, para el tratamiento o profilaxis de una infección por Flaviviridae, que incluye virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental y virus de fiebre amarilla e infección por rinovirus en un huésped;

(h) uso de un nucleósido β -D o β -L de las fórmulas generales descritas, o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de estos, en combinación o alternación con uno o más de otros agentes antivirales efectivos, opcionalmente en un portador

1035

farmacéuticamente aceptable, como se describe aquí, para el tratamiento o profilaxis de una infección por Flaviviridae, que incluye virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental y virus de fiebre amarilla e infección por rinovirus en un huésped;

(i) el uso de un nucleósido β -D o β -L de las fórmulas generales descritas, o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de estos, opcionalmente en un portador farmacéuticamente aceptable, como se describe aquí, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de una infección por Flaviviridae, que incluye virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental y virus de fiebre amarilla e infección por rinovirus en un huésped;

(j) el uso de un nucleósido β -D o β -L de las fórmulas generales descritas, o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de estos, en combinación o alternación con uno o más de otros agentes antivirales efectivos, opcionalmente en un portador farmacéuticamente aceptable, como se describe aquí, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de una infección por Flaviviridae, que incluye virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental y virus de fiebre amarilla e infección por rinovirus en un huésped;

(k) use de a β -D o β -L nucleósido de las fórmulas generales descritas, o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de estos, opcionalmente en un portador farmacéuticamente aceptable o diluyente, como se describe aquí, en una terapia médica, es decir as antiviral por ejemplo para el tratamiento o profilaxis de una infección por Flaviviridae, que incluye virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental y virus de fiebre amarilla e infección por rinovirus;

(l) el uso de un nucleósido β -D o β -L de las fórmulas generales descritas, como se describe aquí, o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de estos, es decir as agente antiviral, en combinación o alternación con uno o más de otros agentes terapéuticamente efectivos, es decir, otro agente antiviral, opcionalmente en un portador farmacéuticamente aceptable o diluyente, como se describe aquí, en una terapia médica, por ejemplo para el tratamiento o profilaxis de una infección por Flaviviridae, que incluye infección por virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental y virus de fiebre amarilla y rinovirus en un huésped.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

1037

La figura 1 es una descripción gráfica de una reducción dependiente de dosis del replicón ARN HCV basado en el tratamiento con β -D-(2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina. (A): La reducción viral se comparó con la reducción de los niveles de ARN celular (ARN ribosomal) para obtener valores de índice terapéutico. EC_{90} que representa la concentración 90% a 96 horas luego de la administración dependiente de dosis de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina se determinó por ser 5 μ M. (B): ARN HCV se redujo significativamente de una manera dependiente de dosis de 7 luego de tratamiento con 25, μ M.

Figure 2 describe un cambio de peso promedio (%) de ratones suizos hembra en un estudio de toxicidad de β -D-(2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina en varias dosis. Las inyecciones intraperitoneales se dieron en los días 0 al día 5 del 0, 3.3, 10, 33, 100 mg/kg. Cada grupo de dosis contenía 5 ratones y ningún ratón murió durante los 30 días de estudio.

Figure 3 describe la farmacocinética del β -D-(2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina en monos Rhesus dada una dosis simple (33.3 mg/kg) dosis oral o intravenosa de β -D-(2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina.

1038

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS MODALIDADES

Varias modalidades de la invención se describen ahora en detalle. Como se utiliza en detalle aquí, y a través de las reivindicaciones que siguen, el significado de "un", "una", y "el" incluye los plurales a menos que el contexto dicte claramente otra cosa. También, como se utiliza en la descripción aquí y a través de las reivindicaciones que siguen, el significado de "en" incluye "en" y "sobre" a menos que el contexto dicte claramente otra cosa.

Los términos utilizados en esta especificación generalmente tienen sus significados ordinarios en la técnica, dentro del contexto de la invención, y en el contexto específico donde cada término se utiliza. Ciertos términos que son utilizados para describir la invención se discuten adelante, o de otra forma en la especificación, para suministrar guía adicional al practicante para describir las composiciones y métodos de la invención y como hacerlas y utilizarlas. Por conveniencia, ciertos términos pueden ser resaltados, por ejemplo, utilizando itálicas y/o comillas. El uso del resaltado no tiene influencia en el alcance y significado de un término; el alcance y significado de un término es el mismo, en el

mismo contexto, sea o no resaltado. Se apreciará que la misma cosa se puede decir de más de una forma. Consecuentemente, el lenguaje alternativo y los sinónimos se pueden utilizar para cualquiera uno o más de los términos discutidos aquí, no tiene ningún significado especial estar ubicado luego sea o no el término elaborado o discutido aquí. Se suministran los sinónimos para ciertos términos. Una cita de uno o más sinónimos no excluye el uso de otros sinónimos. El uso de ejemplos en cualquier parte en esta especificación, que incluyen ejemplos de cualquiera de los términos discutidos aquí, es solamente ilustrativo y de ninguna manera limitan el alcance y significado de la invención o de cualquier término ejemplificado. De manera similar, la invención no está limitada a varias modalidades dadas en esta especificación.

Como se utiliza aquí, "alrededor" o "aproximadamente" debe significar de manera general dentro el 20%, preferiblemente dentro del 10%, y más preferiblemente dentro del 5% de un valor o rango dado. Las cantidades numéricas dadas aquí son aproximadas, significando que el término "alrededor" o "aproximadamente" puede ser inferido si no se establece expresamente.

La presente invención suministra parte de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metil nucleósidos y sus sales y prodrogas farmacéuticamente aceptables para el tratamiento de la infección del virus de la hepatitis C ,la infección del virus del Nilo Occidental, y la infección del virus de la fiebre amarilla o una infección por rinovirus en un huésped.

Los compuestos descritos de sus derivados o sales farmacéuticamente aceptables o las formulaciones farmacéuticamente aceptables que contienen estos compuestos son útiles en la prevención y tratamiento de infección de HCV. Además, estos compuestos o formulaciones se pueden utilizar profilácticamente para evitar o retardar la progresión de la enfermedad clínica en individuos que son antígeno anti-HCV positivo o que han estado expuestos al HCV.

Los compuestos descritos aquí se pueden convertir en un éster farmacéuticamente aceptable mediante la reacción con un agente esterificante apropiado, por ejemplo, haluro o anhídrido ácido. El compuesto o su derivado farmacéuticamente aceptable se pueden convertir en una sal farmacéuticamente aceptable de una manera convencional como por ejemplo, durante el tratamiento con una base apropiada. El éster o sal

del compuesto se puede convertir en el compuesto padre, por ejemplo, mediante hidrólisis.

Definiciones

El término "independientemente" como se utiliza aquí indica que la variable, que es independientemente aplicada, varía independientemente de aplicación en aplicación. Así como en un compuesto tal como R^aXYR^a , en donde R^a es "independientemente carbono o nitrógeno", ambos R^a pueden ser carbono, como ambos R^a pueden ser nitrógeno, o un R^a puede ser carbono y el otro R^a puede ser nitrógeno.

Como se utilizan aquí, los términos "enantioméricamente puros" o "enantioméricamente enriquecidos" se refiere la composición de nucleósidos que comprenden al menos aproximadamente 95%, y preferiblemente aproximadamente 97%, 98%, 99% o 100% de un enantiómero simple de ese nucleósido.

Como se utiliza aquí, el término "substancialmente libre de" o "substancialmente en ausencia de el" se refiere a una composición de nucleósido que incluye al menos 85% o 90% del peso, preferiblemente 95% a 98% por peso, y aún más preferiblemente 99% a 100% por peso, del enantiómero

designado de ese nucleósido. En una modalidad preferida, en los métodos y compuestos de esta invención, los compuestos son substancialmente libres de enantiómeros.

De manera similar, el término "aislado" se refiere a una composición de nucleósido que incluye al menos 85% o 90% por peso, preferiblemente 95% a 98% por peso, y aún más preferiblemente 99% a 100% por peso, del nucleósido, comprendiendo el resto otras especies de enantiómeros químicos.

El término "alquilo", como se utiliza aquí, a menos que se especifique otra cosa, se refiere a un hidrocarburo recto saturado, ramificado, o cíclico, primario, secundario, o terciario de típicamente C₁ a C₁₀, y específicamente incluye metilo, trifluorometilo, etilo, propilo, isopropilo, ciclopropilo, butilo, isobutilo, t-butilo, pentilo, ciclopentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, isohexilo, ciclohexilo, ciclohexilmetilo, 3-metilpentilo, 2,2-dimetilbutilo, y 2,3-dimetilbutil. El término incluye ambos grupos alquilo sustituidos y no sustituidos. En los grupos Alquilo pueden ser opcionalmente sustituidos con uno o más porciones seleccionada del grupo que consiste de hidroxilo, amino, alquilamino, arilamino, alcoxi, ariloxi, nitro, ciano,

1043

ácido, sulfónico, sulfato, ácido fosfónico, fosfato, o fosfonato, o cualquier otro grupo funcional que no inhiba la actividad farmacológica de este compuesto, bien sea no protegido, o protegido, según sea necesario, de acuerdo con el conocimiento de aquellos expertos en la técnica, por ejemplo, como se enseña en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 3ra ed., John Wiley & Sons, 1999, incorporada aquí como referencia.

El término "alquilo inferior", como se utiliza aquí, y a menos que se especifique otra cosa, se refiere a un grupo alquilo C₁ a C₄ recto saturado, calificado, o si es apropiado, cíclico (por ejemplo, ciclopropilo), que incluye tanto las formas sustituidas como no sustituidas. Al menos que se establezca específicamente otra cosa, en esta solicitud, cuando el alquilo es una porción adecuada, se prefiere el alquilo inferior. Similarmente, cuando el alquilo o el alquilo inferior es una porción adecuada, el alquilo no sustituido o el alquilo inferior son los preferidos.

Los términos "alquilamino" o "arilamino" se refieren a un grupo amino que tiene uno o dos sustituyentes alquilo o arilo, respectivamente.

El término "protegido", como se utiliza aquí y a menos que se defiera otra cosa, se refiere a un grupo que se agrega a un átomo de oxígeno, nitrógeno, o fósforo para evitar su reacción adicional o para otros propósitos. Una amplia variedad de grupos protectores de oxígeno y nitrógeno son conocidos por aquellos expertos en la técnica de síntesis orgánica. Ejemplos no limitantes incluyen C (O)-alquilo, C (O) Ph, C (O) arilo, CH₃, CH₂-alquilo, CH₂-alquenilo, CH₂Ph, CH₂-arilo, CH₂O-alquilo, CH₂O-arilo, SO₂-alquilo, SO₂-arilo, terc-butildimetilsilil, terc-butildifenilsilil, y 1, 3-(1,1,3,3-tetraisopropildisiloxanilideno).

El término "arilo", como se utiliza aquí, y a menos que se especifique otra cosa, se refiere a fenilo, bifenilo, o naftilo, y preferiblemente fenil. El término incluye tanto las expresiones sustituidas como no sustituidas. El grupo arilo puede ser sustituido con uno o más porciones seleccionadas del grupo que consiste de hidroxilo, amino, alquilamino, arilamino, alcoxi, ariloxi, nitro, ciano, ácido sulfónico, sulfato, ácido fosfónico, fosfato, o fosfonato, o desprotegido, o protegido según sea necesario, como es conocido por aquellos expertos en la técnica, por ejemplo, como se enseña en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, "Protective

1045

Groups in Organic Synthesis", 3ra ed., John Wiley & Sons, 1999.

Los términos "alcarilo" o "alquilarilo" se refiere a un grupo alquilo con un sustituyente arilo. Los términos "aralquilo" o "arilalquilo" se refiere a un grupo arilo con un sustituyente alquilo.

El término "halo" como se utiliza aquí, incluye cloro, bromo, yodo y fluoro.

El término "acilo" se refiere a un éster de ácido carboxílico en el cual la porción no carbonilo del grupo éster es seleccionada de alquilo recto, ramificado o cíclico o alquilo inferior, alcoxialquilo que incluye metoximetilo, aralquilo, incluyendo benzilo, ariloxialquilo tal como fenoximetilo, arilo incluyendo fenilo opcionalmente sustituido con halógeno (F, Cl, Br, I), C₁ a C₄ alquilo o C₁ a C₄ alcoxi, ésteres de sulfonatos tal como alquilo o aralquil sulfonilo incluyendo metanosulfonilo, el mono, di o trifosfato éster, tritilo o monometoxitritilo, benzilo sustituido, trialquilsililo (por ejemplo dimetil-t-butilsililo) o difenilmetilsililo. Los grupos arilo en los esteres óptimamente comprenden un grupo fenilo.

El término "acilo inferior" se refiere a un grupo acilo en cual la posición de un carbonilo es alquilo inferior.

El término base de "purina" o "pirimidina" incluye, pero no está limitado a, adenina, N⁶-alquilpurinas, N⁶-acilpurinas (en donde acilo es C (O) (alquilo, arilo, alquilarilo, o arilalquilo), N⁶-benzilpurina, N⁶-halopurina, N⁶-vinilpurina, N⁶-acetilenica purina, N⁶-acil purina, N⁶-hidroxialquil purina, N⁶-allicilaminopurina, N⁶-tioallicil purina, N²-alquilpurinas, N²-alquilo-6-tiopurinas, timina, citosina, 5-fluorocitosina, 5-metilcitosina, 6-azapirimidina, que incluye 6-azacitosina, 2-y/o 4-mercaptopirimidina, uracilo, 5-halouracilo, que incluye 5-fluorouracilo, C⁵-alquilpirimidinas, C⁵-benzilpirimidinas, C⁵-halopirimidinas, C⁵-vinilpirimidina, C⁵-pirimidina acetilenica, C⁵-acil pirimidina, C⁵-hidroxialquil purina, C⁵-amidopirimidina, C⁵-cianopirimidina, C⁵-yodopirimidina, C⁶-yodo-pirimidina, C⁵-Br-vinil pirimidina, C⁶-Br-vinil pirimidina, C⁵-nitropirimidina, C⁵-amino-pirimidina, N²-alquilpurinas, N²-alquil-6-tiopurinas, 5-azacytidinilo, 5-azauracililo, triazolopiridinilo, imidazolopiridinilo, pirrolopirimidinilo, y pirazolopirimidinil. Las bases Purinas incluyen, pero no están limitadas a, guanina, adenina, hipoxantina, 2,6-

1047

diaminopurina, y 6-cloropurina. Los grupos oxígeno y nitrógeno funcionales sobre la base pueden ser protegidos según sea necesario o se desee. Los grupos protectores adecuados son bien conocidos por aquellos expertos en la técnica, e incluyen trimetilsililo, dimetilhexilsililo, t-butildimetilsililo, y t-butildifenilsililo, tritilo, grupos alquilo, y grupos acilo tales como acetilo y propionilo, metanosulfonilo, y p-toluenesulfonilo.

El término "acilo" o "éster O-ligado" se refiere a un grupo de la fórmula $C(O)R'$, en donde R' es un alquilo recto, ramificado, o cíclico (que incluye alquilo inferior), aminoácido, arilo que incluye fenilo, alcarilo, aralquilo que incluye benzilo, alcoxialquilo que incluye metoximetilo, ariloxialquilo tal como fenoximetilo; o alicilo sustituido (que incluye alquilo inferior), arilo que incluye fenilo opcionalmente sustituido con cloro, bromo, flúor, yodo, alquilo C_1 a C_4 o alcoxi C_1 a C_4 , éster de sulfonatos tal como alquil o aralquil sulfonil que incluye metanosulfonilo, el mono, di o triéster de fosfato, tritilo o monometoxi-tritilo, benzilo sustituido, alcarilo, aralquilo que incluye benzilo, alcoxialicilo que incluye metoximetilo, ariloxialquilo tal como fenoximetilo. Los grupos arilo en los ésteres óptimamente comprenden un grupo fenilo. En particular, los

grupos acilo incluyen acetilo, trifluoroacetilo, metilacetilo, ciclopropilacetilo, ciclopropil carboxi, propionilo, butirilo, hexanoilo, heptanoilo, octanoilo, neo-heptanoilo, fenilacetilo, 2-acetoxi-2-fenilacetilo, difenilacetilo, α -metoxi- α trifluorometil-fenilacetilo, bromoacetilo, 2-nitro-benzenoacetilo, 4-cloro-benzenoacetilo, 2-cloro-2,2-difenilacetilo, 2-cloro-2-fenilacetilo, trimetilacetilo, clorodifluoroacetilo, perfluoroacetilo, fluoroacetilo, bromodifluoroacetilo, metoxiacetilo, 2-tiofenoacetilo, clorosulfonilacetilo, 3-metoxifenilacetilo, fenoxiacetilo, terc-butylacetilo, tricloroacetilo, monocloroacetilo, dicloroacetilo, 7H-dodecafluoro-heptanoilo, perfluoro-heptanoilo, 7H-dodeca-fluoroheptanoilo, 7-clorododecafluoro-heptanoilo, 7-cloro-dodecafluoro-heptanoilo, 7H-dodecafluoroheptanoilo, 7H-dodeca-fluoroheptanoilo, nona-fluoro-3,6-dioxa-heptanoilo, nonafluoro-3,6-dioxaheptanoilo, perfluoroheptanoilo, metoxibenzoilo, metil 3-amino-5-feniltiofeno-2-carboxilo, 3,6-dicloro-2-metoxi-benzoilo, 4-(1,1,2,2-tetrafluoro-etoxi)-benzoilo, 2-bromo-propionilo, omega-aminocaprilo, decanoilo, n-pentadecanoilo, estearilo, 3-ciclopentil-propionilo, 1-benzeno-carboxilo, O-acetiimandelilo, pivaloil acetilo, 1-adamantano-carboxilo, ciclohexano-carboxilo, 2,6-piridinodicarboxilo, ciclopropano-carboxilo, ciclobutano-

1049

carboxilo, perfluorociclohexil carboxilo, 4-metilbenzoilo, clorometil isoxazolil carbonilo, perfluorociclohexil carboxilo, crotonilo, 1-metil-1H-indazol-3-carbonilo, 2-propenilo, isovalerilo, 1-pirrolidinocarbonilo, 4-fenilbenzoilo. Cuando el término acilo se utiliza, este significa ser una descripción específica e independiente de acetilo, trifluoroacetilo, metilacetilo, ciclopropilacetilo, propionilo, butirilo, hexanoilo, heptanoilo, octanoilo, neo-heptanoilo, fenilacetilo, difenilacetilo, ct-trifluorometil-fenilacetilo, bromoacetilo, 4-cloro-benzenoacetilo, 2-cloro-2,2-difenilacetilo, 2-cloro-2-fenilacetilo, trimetilacetilo, clorodifluoroacetilo, perfluoroacetilo, fluoroacetilo, bromodifluoroacetilo, 2-tiofenoacetilo, terc-butilacetilo, tricloroacetilo, monocloro-acetilo, dicloroacetilo, metoxibenzoilo, 2-bromo-propionilo, decanoilo, n-pentadecanoilo, estearilo, 3-ciclopentil-propionilo, 1-benzeno-carboxilo, pivaloil acetilo, 1-adamantano-carboxilo, ciclohexano-carboxilo, 2,6-piridinodicarboxilo, ciclopropano-carboxilo, ciclobutano-carboxilo, 4-metilbenzoilo, crotonilo, 1-metil-1H-indazol-3-carbonilo, 2-propenilo, isovalerilo, 4-fenilbenzoilo.

El término "aminoácido" incluye aminoácidos de ocurrencia natural o sintéticos α , β y δ , e incluye pero no está

1050

limitado a, aminoácidos encontrados en proteínas, es decir, glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, triptofan, prolina, serina, treonina, cisteina, tirosina, asparagina, glutamina, aspartato, glutamato, lisina, arginina y histidina. En una modalidad preferida, el aminoácido está en la configuración L. Alternativamente, el aminoácido puede ser un derivado de alanilo, valinilo, leucinilo, isoleucinilo, prolinilo, fenilalaninilo, triptofanilo, metioninilo, glicinilo, serinilo, treoninilo, cisteinilo, tirosinilo, asparaginilo, glutaminilo, aspartoilo, glutaroilo, lisinilo, argininilo, histidinilo, β -alanilo, β -valinilo, β -leucinilo, β -isoleucinilo, β -prolinilo, β -fenilalaninilo, β -triptofanilo, β -metioninilo, β -glicinilo, β -serinilo, β -treoninilo, β -cisteinilo, β -tirosinilo, β -asparaginilo, β -glutaminilo, β -aspartoilo, β -glutarilo, $\beta\beta$ -lisinilo, β -argininilo o β -histidinilo. Cuando el término aminoácido se utiliza, se considera que es una descripción específica independiente de cada uno de los ésteres de α , β y o δ glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, triptofan, prolina, serina, treonina, cisteina, tirosina, asparagina, glutamina, aspartato, glutamato, lisina, arginina y histidina en las configuraciones D y L.

1051

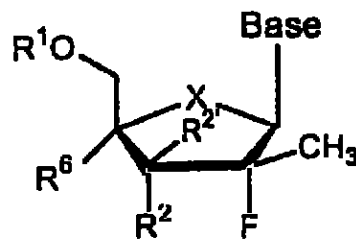
El término "huésped", como se utiliza aquí, se refiere a un organismo unicelular o multicelular en el cual los virus pueden replicar, que incluye líneas celulares y animales, y preferiblemente un humano. Alternativamente, el huésped se puede llevar una parte del genoma viral, cuya replicación o funciones se pueden alterar mediante los compuestos de la presente invención. El término huésped específicamente se refiere a células infectadas, células transfectadas con todo o parte del genoma viral, y animales, en particular, primates y humanos. En la mayoría de las aplicaciones animales de la presente invención, el huésped es un paciente humano. Las aplicaciones veterinarias, en ciertas indicaciones, sin embargo, son claramente anticipadas por la presente invención.

El término "sal farmacéuticamente aceptable o prodroga" se utiliza a través de la especificación para describir cualquier forma farmacéuticamente aceptable (tal como un éster, éster de fosfato, sal de un éster o un grupo relacionado) de un compuesto el cual, luego de administración a un paciente, suministra el compuesto activo. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas derivadas de ácidos y bases orgánicas e inorgánicas farmacéuticamente aceptables. Las sales adecuadas incluyen aquellas derivadas

de metales alcalinos tales como potasio y sodio, metales alcalino térreos tales como calcio y magnesio, entre otros numerosos ácido bien conocidos en la técnica farmacéutica. Las prodrogas farmacéuticamente aceptables se refieren a un compuesto que es metabolizado, por ejemplo, hidrolizado u oxidado, en el huésped para formar el compuesto de la presente invención. Ejemplos típicos de prodrogas incluyen compuestos que tienen grupos protectores lábiles sobre una porción funcional del compuesto activo. Las prodrogas incluyen compuestos que se pueden oxidar, reducir, aminor, desaminar, hidroxilar, deshidroxilar, hidrolizar, deshidrolizar, alquilar, desalquilar, acilar, acilara, desafilar, fosforilar, desfosforilar para producir el compuesto activo.

I. Compuesto Activo, y Derivados Fisiológicamente Aceptables y Sales de Éste

Un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste se suministra de la estructura:



en donde Base se refiere a una purina de ocurrencia natural o modificada o base de pirimidina; X es O, S, CH₂, Se, NH, N-alquilo, CHW, C(W)₃, en donde W es F, Cl, Br, o I;

R¹ y R⁷ son independientemente H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D, un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra *in vivo* es capaz de suministrar un compuesto en donde R¹ es H o fosfato; R² es OH o fosfato; R¹ y R² o R⁷ también se pueden ligar con el grupo fosfato cíclico; y

1054

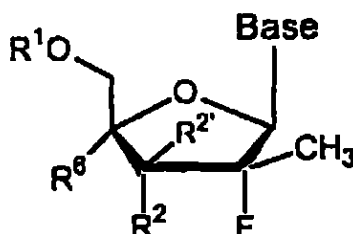
R^2 y $R^{2'}$ son independientemente H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{1-4} , alquinilo C_{1-4} , vinilo, N_3 , CN, Cl, Br, F, I, NO_2 , $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O(\text{acilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $S(\text{acilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{acilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, NH_2 , $NH(\text{alquilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $NH(\text{acilo } C_{1-4})$, $N(\text{alquil } C_{1-4})_2$, $N(\text{acilo } C_{1-4})_2$, en donde alquilo, alquinilo, alquenilo y vinilo son opcionalmente sustituidos por N_3 , CN, uno a tres halógenos (Cl, Br, F, I), NO_2 , $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O(\text{acilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $S(\text{acilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{acilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, NH_2 , $NH(\text{alquilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $NH(\text{acilo } C_{1-4})$, $N(\text{alquilo } C_{1-4})_2$, $N(\text{acilo } C_{1-4})_2$, OR^7 , R^2 y $R^{2'}$

1055

pueden ser ligados juntos para formar un vinilo opcionalmente sustituido por uno o dos de N₃, CN, Cl, Br, F, I, NO₂; y

R⁶ es un alquilo opcionalmente sustituido (que incluye alquilo inferior), ciano (CN), CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, hidroximetilo (CH₂OH), fluorometilo (CH₂F), azido (N₃), CHCN, CH₂N₃, CH₂NH₂, CH₂NHCH₃, CH₂N(CH₃)₂, alquino (opcionalmente sustituido), o fluoro.

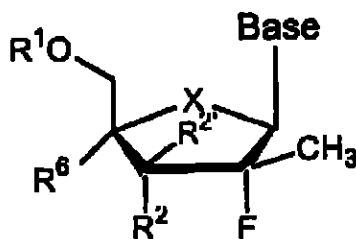
En una segunda modalidad, se suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la estructura:



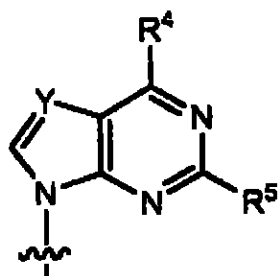
en donde Base, R¹, R², R²', R⁶ y R⁷ son como se definió anteriormente.

1050

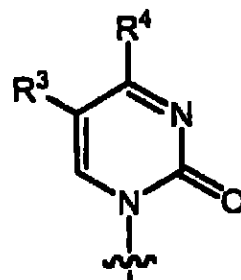
Una tercera modalidad suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la estructura:



en donde X, R¹, R², R³, R⁶ y R⁷ son como se definió anteriormente, y Base se selecciona de



(a)



(b)

Y es N o CH;

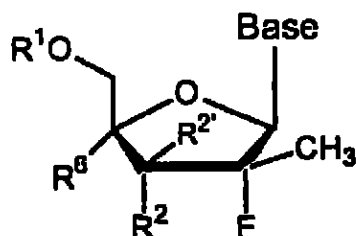
R³, R⁴ y R⁵ son independientemente H, halógeno (que incluye F, Cl, Br, I), OH, OR', SH, SR', NH₂, NHR', NR'₂, alquilo inferior de C₁-C₆, alquilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I)

1057

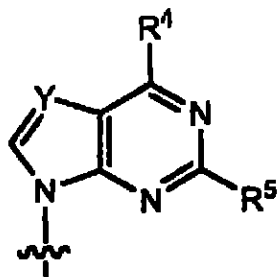
de C₁-C₆ tal como CF₃ y CH₂CH₂F, alquenilo inferior de C₂-C₆ tal como CH=CH₂, alquenilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₂-C₆ tal como CH=CHCl, CH=CHBr y CH=CHI, alquinilo inferior de C₂-C₆ tal como C≡CH, alquinilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₂-C₆, alcoxi inferior de C₁-C₆ tal como CH₂OH y CH₂CH₂OH, alcoxi inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₁-C₆, CO₂H, CO₂R', CONH₂, CONHR', CONR'₂, CH=CHCO₂H, CH=CHCO₂R';

R' es un alquilo opcionalmente sustituido de C₁-C₁₂ (particularmente cuando el alquilo es un residuo de aminoácido), cicloalquilo, alquinilo opcionalmente sustituido de C₂-C₆, alquenilo inferior opcionalmente sustituido de C₂-C₆, o acilo opcionalmente sustituido.

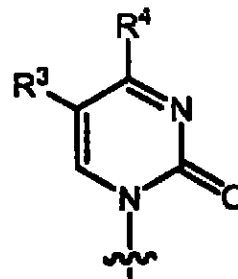
En una cuarta modalidad, se suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la estructura:



en donde Base se selecciona de



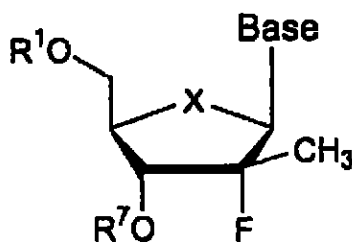
(a)



(b)

y, en donde R^1 , R^2 , $R^{2'}$, R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y Y son como se definió anteriormente.

Una quinta modalidad suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la estructura:



en donde Base se refiere a una base pirimidina o purina modificada o de ocurrencia natural;

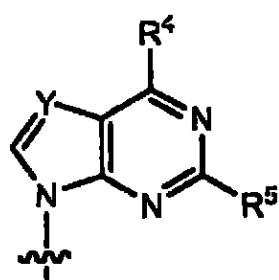
159

R' es independientemente H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D, un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra in vivo es capaz de suministrar un compuesto en donde R¹ o R' es independientemente H o fosfato; R¹ y R' también se pueden ligar con el grupo fosfato cíclico; y

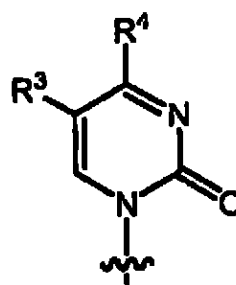
en donde X y R¹ son como se definió anteriormente.

En una sexta modalidad, se suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la estructura:

1061



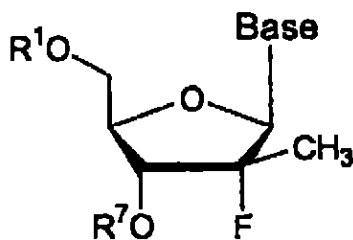
(a)



(b)

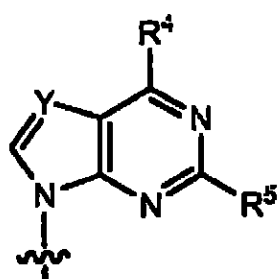
y en donde X, Y, R¹, R³, R⁴, R⁵, R⁷ y R¹ son como se definió anteriormente.

En una octava modalidad, se suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la estructura:

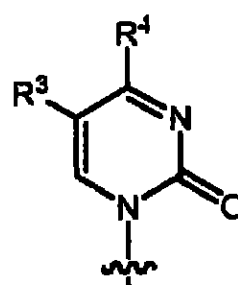


en donde Base se selecciona de

1062



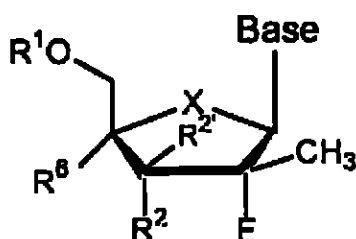
(a)



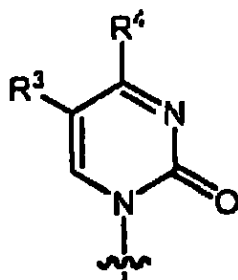
(b)

y, en donde Y, R¹, R³, R⁴, R⁵, R⁷ y R¹ son como se definió anteriormente.

Una novena modalidad suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la estructura:

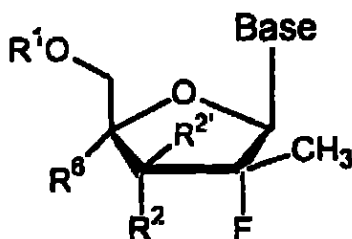


en donde Base es:

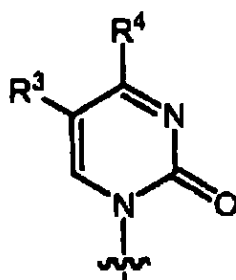


y en donde X es como se definió anteriormente, R¹ es H, R² es OH, R^{2'} es H, R³ es H, R⁴ es NH₂ u OH, y R⁶ es H.

En una décima modalidad, se suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la estructura:

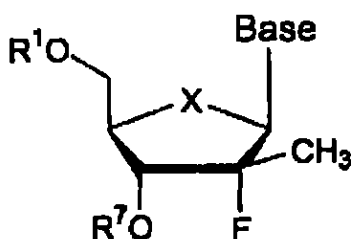


en donde Base es:

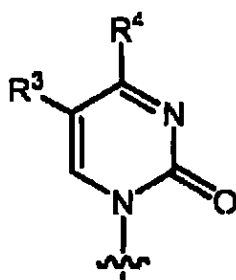


y en donde R^1 es H, R^2 es OH, R^3 es H, R^4 es NH_2 u OH, y R^5 es H.

Una undécima modalidad suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la estructura:



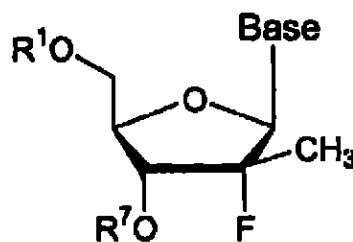
en donde Base es:



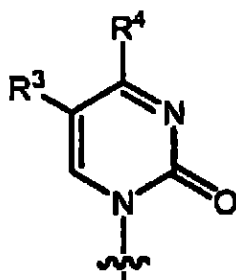
1065

y en donde X es como se definió anteriormente, R^1 es H, R^3 es H, R^4 es NH_2 u OH, R^6 es H, y R^7 es H.

En una duodécima modalidad, se suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la estructura:



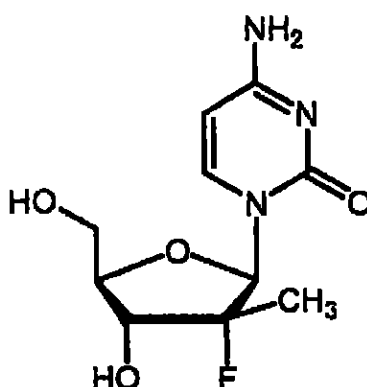
en donde Base es:



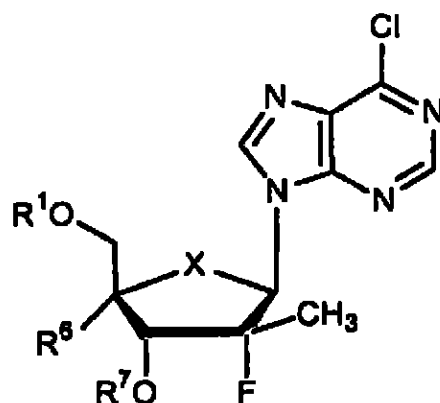
y en donde R^1 es H, R^3 es H, R^4 es NH_2 u OH, y R^7 es H.

1066

Una décimo tercera modalidad suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la estructura:



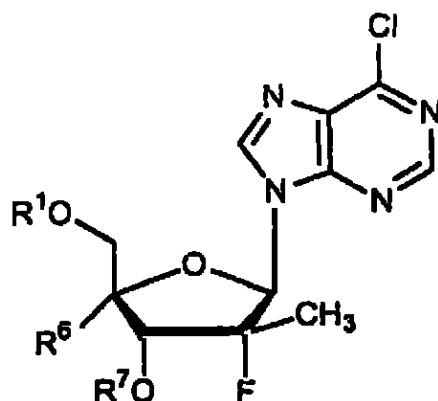
En una décimo cuarta modalidad, se suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo, su sal farmacéuticamente aceptable o producto de éste por la estructura:



1067

en donde X, R¹, R⁶ y R⁷ son como se definió anteriormente.

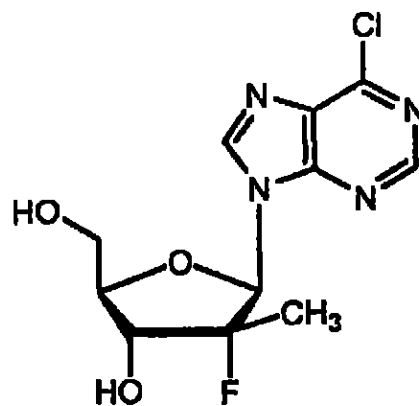
En una décimo quinta modalidad, se suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo, su sal farmacéuticamente aceptable o producto de éste por la estructura:



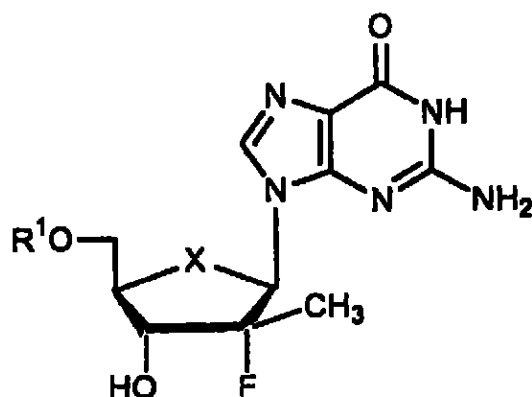
en donde R¹, R⁶ y R⁷ son como se definió anteriormente.

En una décimo sexta modalidad, se suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo, su sal farmacéuticamente aceptable o producto de éste por la estructura:

1060



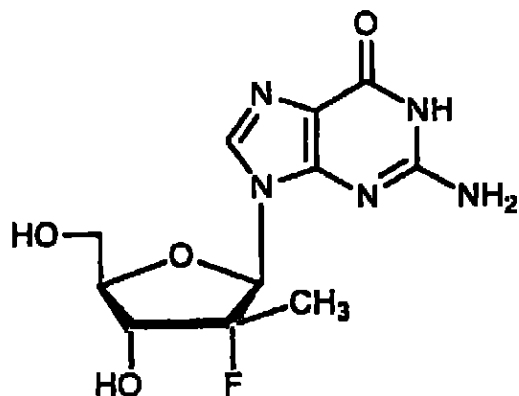
En una décimo séptima modalidad, se suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo, su sal farmacéuticamente aceptable o producto de éste por la estructura:



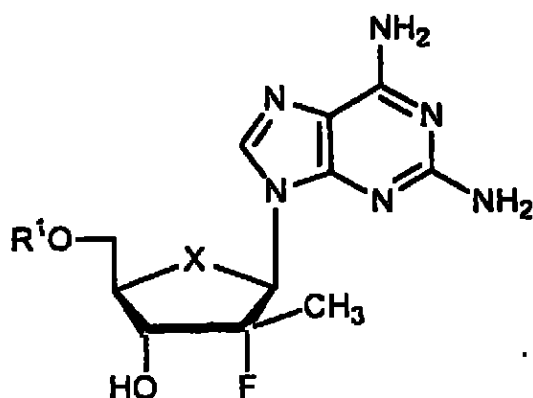
en donde X y R¹ son como se definió anteriormente.

En una décimo octava modalidad, se suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo, su sal

farmacéuticamente aceptable o producto de éste por la estructura:



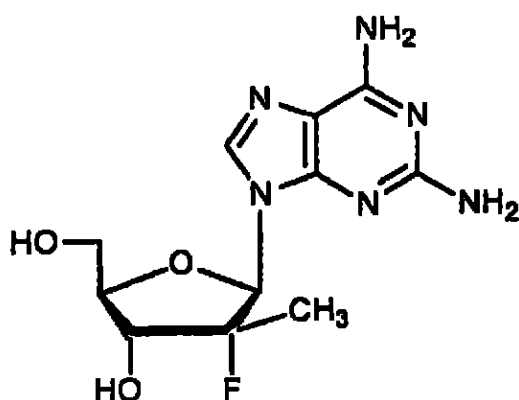
En una décimo novena modalidad, se suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo, su sal farmacéuticamente aceptable o producto de éste se suministra por la estructura:



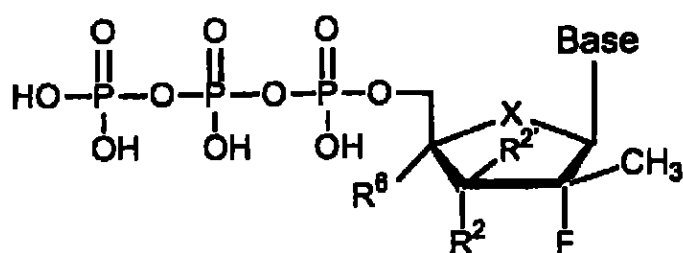
en donde X y R¹ son como se definió anteriormente.

1072

En una vigésima modalidad, se suministra un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo, su sal farmacéuticamente aceptable o producto de éste por la estructura:



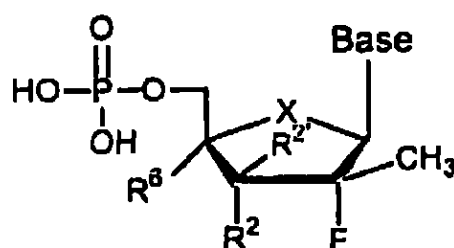
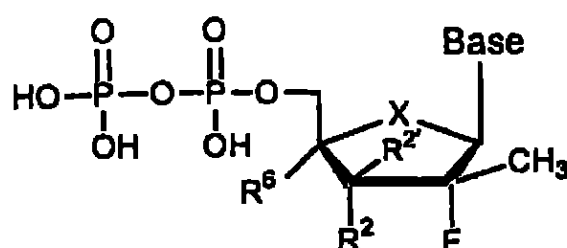
La presente invención también contempla derivados de éster de ácido 5'-trifosfato trifosfórico del grupo 5'-hidroxilo de un compuesto nucleósido de la presente invención que tiene la siguiente fórmula estructural general:



en donde Base, X, R, R², y R⁶ son como se definió anteriormente.

1071

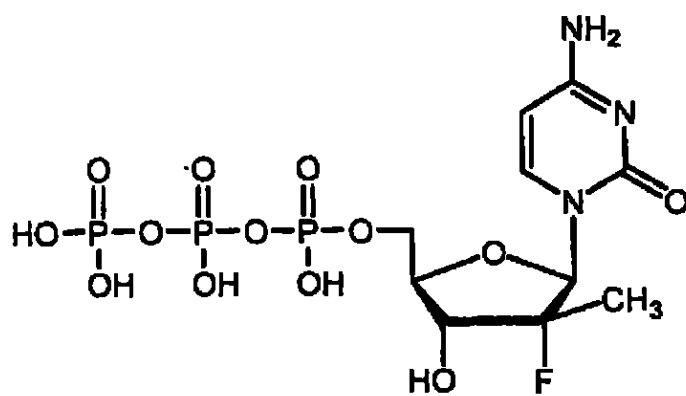
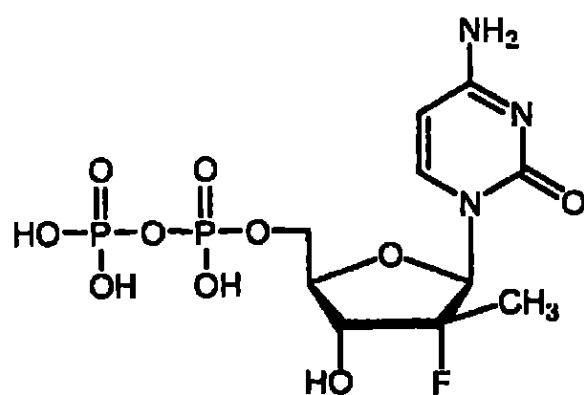
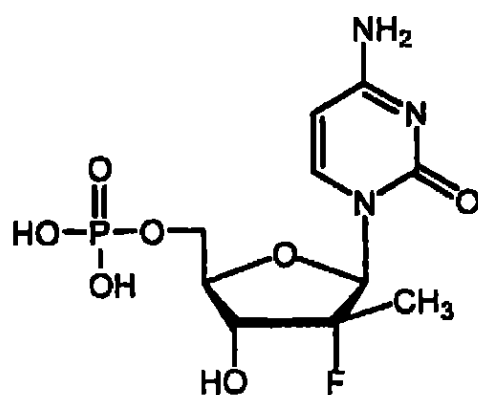
Los compuestos de la presente invención también son propuestos para incluir sales farmacéuticamente aceptables del éster de trifosfato así como también sales farmacéuticamente aceptables de derivados de éster de 5'-difosfato y 5'-monoéster de las siguientes fórmulas estructurales, respectivamente.

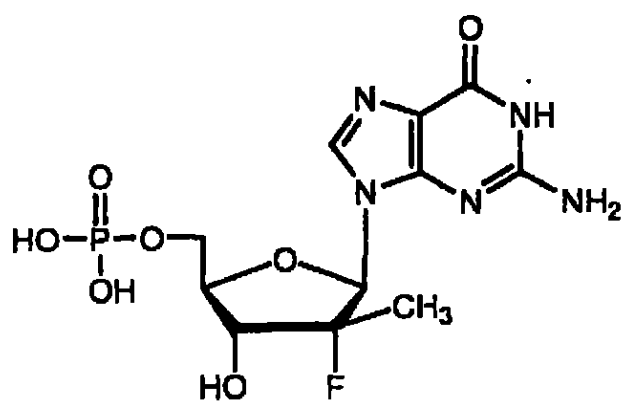
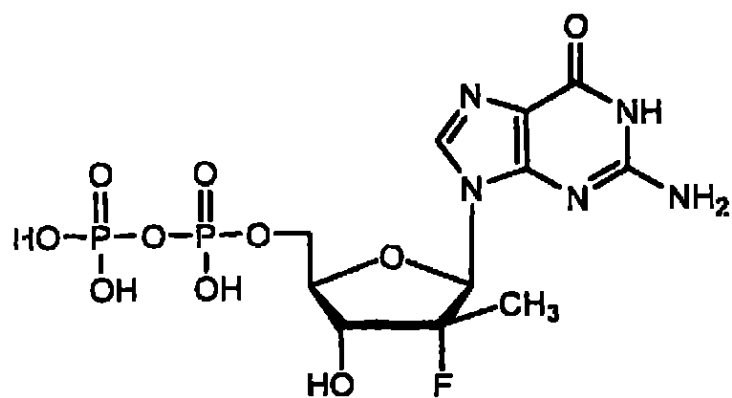
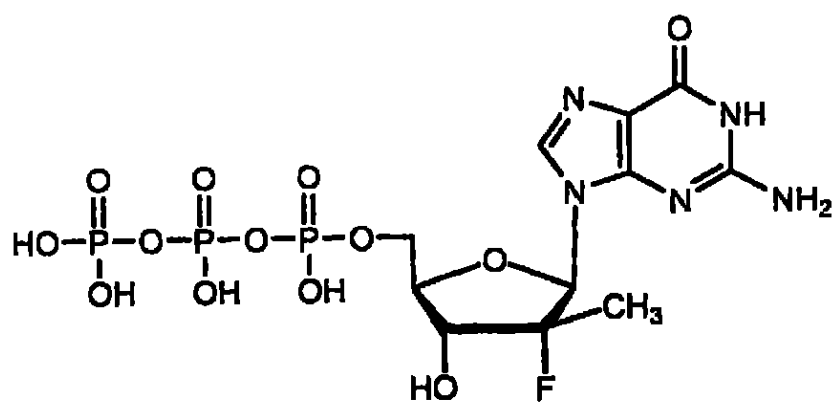


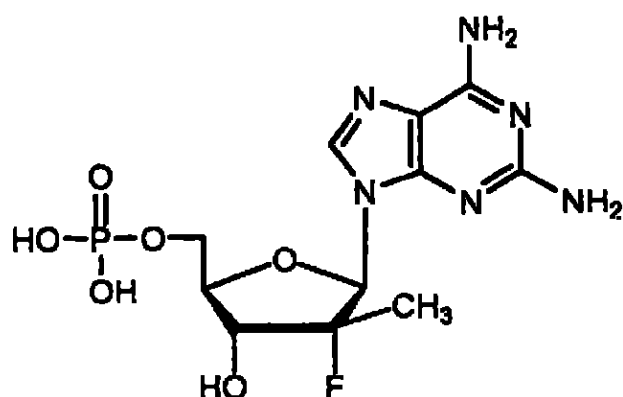
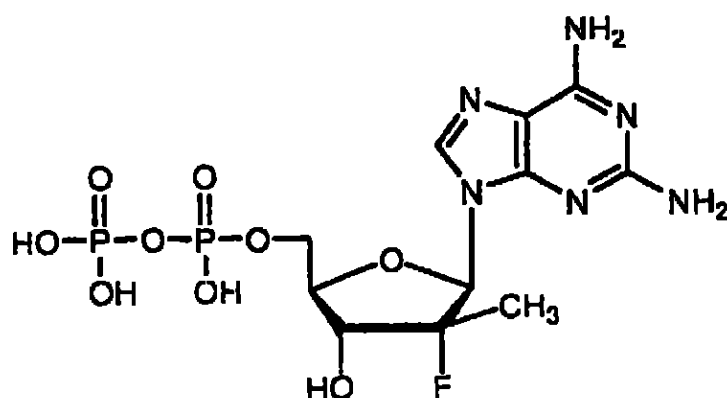
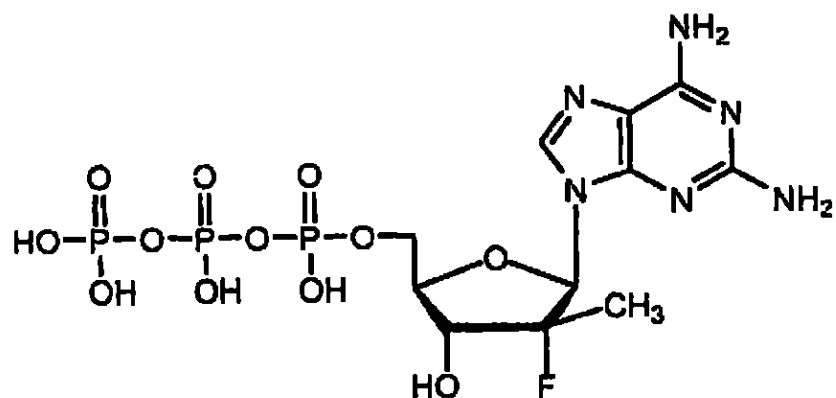
en donde Base, X, R², R^{2'} y R⁶ son como se definió anteriormente.

Ejemplos no limitantes adicionales de derivados de ácido fosfórico son los nucleósidos de la presente invención como se muestran adelante:

1092







La presente invención también contempla que cualquier derivado de nucleósido de fosfato pueda incluir un 5'-(S-

1075

acil-2-tioetil) fosfato o derivado "SATE" mono o di-éster de 5'-monofosfatos.

Las modalidades alternativas también están contempladas en donde el grupo N-4 amino sobre un derivado de nucleósido de fosfato puede ser reemplazado con H, F, Cl, Br o I.

Las modalidades adicionales incluyen las prodrogas 3' y/o 5' como se describió con más detalle aquí.

En varias modalidades, los derivados fluorinados son preferidos. El flúor es visto como "isostérico" con hidrógeno en razón de su tamaño (radios de Van der Waals para H son de 1.20" y para F 1.35A). Sin embargo, el peso atómico (18.998) y la electronegatividad del flúor (4.0 [escala de Pauling], 4.000 [escala de Sanderson']) son más similares al oxígeno (3.5 [Pauling]. 3.654 [Sanderson]) que el hidrógeno (2.1 [Pauling], 2.592 [Sanderson]) (March, J., "Advances in Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure" Third edición, 1985, p. 14., Wiley Interscience, New York). El flúor es conocido por ser capaz de formar un enlace de hidrógeno, pero a diferencia del grupo hidroxilo (el cual puede actuar tanto como aceptador de protones como donador de protones) el flúor actúa solamente como un aceptador de

1076

protones. De otra parte, los 2'-fluoro-ribonucleósidos se pueden ver como análogos de tanto los ribonucleótidos como los desoxinucleósidos. Ellos pueden ser mejor reconocidos por la ARN polimerasa viral en el nivel trifosfato que por la ARN polimerasa huésped inhibiendo así selectivamente la enzima viral.

II. Prodrogas y Sales Farmacéuticamente aceptables

En los casos donde los compuestos son suficientemente básicos o ácidos para formar sales de ácido o base no tóxicas de forma estable, la administración del compuesto como una sal farmacéuticamente aceptable puede ser apropiada. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas derivadas de bases y ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables. Las sales adecuadas incluyen aquellas derivadas de metales alcalinos tales como potasio y sodio, metales alcalino térreos tales calcio y magnesio, entre numerosos otros ácidos bien conocidos en la técnica farmacéutica. En particular, ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables son sales de adición de ácido orgánico formadas con ácidos, que forman un anión fisiológico aceptable, por ejemplo, tosilato, metanosulfonato, acetato, citrato, malonato, tartarato, succinato, benzoato, ascorbato, α -cetoglutarato, y

1077

α -glicerofosfato. Las sales inorgánicas adecuadas pueden ser formadas, incluyendo, sulfato, nitrato, bicarbonato, y sales carbonato.

Las sales farmacéuticamente aceptables pueden ser obtenidas utilizando procedimientos estándar bien conocidos en la técnica, por ejemplo, al hacer reaccionar un compuesto suficientemente básico tal como una amina con un ácido adecuado logrando un anión fisiológicamente aceptable. Los metales alcalinos (por ejemplo, sodio, potasio o litio) o sales de metales alcalino térreos (por ejemplo calcio) de ácidos carboxílicos también se pueden hacer.

Cualquiera de los nucleósidos descritos aquí se puede administrar como una prodroga de nucleósido para incrementar la actividad, y biodisponibilidad, estabilidad o alterar de otra manera las propiedades del nucleósido. Un número de ligandos de prodroga de nucleótido son conocidos. En general, la alquilación, acilación y otra modificación lipofílica del mono, di o trifosfato del nucleósido incrementará la estabilidad del nucleósido. Ejemplos de grupos sustituyentes que puedan reemplazar uno o más hidrógenos sobre la porción fosfato son alquilo, arilo, esteroides, carbohidratos, incluyendo azucres, 1,2-diacilglicerol y alcoholes. Muchos

son descritos en R. Jones y N. Bischofberger, *Antiviral Research*, 27 (1995) 1-17. Cualquiera de estos se puede utilizar en combinación con los nucleósidos descritos para lograr un efecto deseado.

El nucleósido activo también puede ser suministrado como un lípido 5'-fosfoéter o un lípido 5'-éter, como se describe en las siguientes referencias, que se incorporan mediante referencia aquí: Kucera, L.S., N. Iyer, E. Leake, A. Raben, Modest E.K., D.L.W., y C. Piantadosi. 1990. "Novel membrane-interactive ether lipid analogs that inhibit infectious HIV-1 producción and induce defective virus formation." *AIDS Res. Hum. Retro Viruses*. 6: 491-501; Piantadosi, C., J. Marasco C. J., S. L. Morris-Natschke, K. L. Meyer, F. Gumus, J. R. Surles, K. S. Ishaq, L. S. Kucera, N. Iyer, C. A. Wallen, S. Piantadosi, y E. J. Modest. 1991. "Synthesis and evaluation of novel ether lipid nucleoside conjugates for anti-HIV activity." *J. Med. Chem.* 34: 1408.1414; Hosteller, K. Y., D. D. Richman, D. A. Carson, L. M. Stuhmiller, G. M. T. van Wijk, y H. van den Bosch. 1992. "Greatly enhanced inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication en CEM y HT4-6C cells by 3'-deoxythymidine difosfate dimyristoylglycerol, a lipid prodrug of 3'-deoxythymidine." *Antimicrob. Agents Chemother.* 36: 2025.2029; Hosetler, K. Y.,

1079

L. M. Stuhmiller, H. B. Lenting, H. van den Bosch, y D. D. Richman, 1990. "Synthesis y antiretroviral activity de phospholipid analogs of azidothymidine and other antiviral nucleosides." *J. Biol. Chem.* 265: 61127.

Ejemplos no limitantes de las Patentes U.S. que describen sustituyente lipofílicos adecuados que puedan ser covalentemente incorporados en el nucleósido, preferiblemente la posición 5'-OH del nucleósido o preparaciones lipofílicas, incluyen las Patentes U.S. Nos. 5,149,794; 5,194,654; 5,223,263; 5,256,641; 5,411,947; 5,463,092; 5,543,389; 5,543,390; 5,543,391; y 5,554,728, todas las cuales se incorporan aquí como referencia. Las solicitudes de patente extranjeras de describen sustituyentes lipofílicos que pueden estar unidos a los nucleósidos de la presente invención, o preparaciones lipofílicas, incluyen la WO 89/02733, WO 90/00555, WO 91/16920, WO 91/18914, WO 93/00910, WO 94/26273, WO 96/15132, EP 0 350 287, EP 93917054.4, y WO 91/19721.

III. Composiciones Farmacéuticas

Composiciones farmacéuticas basadas en un compuesto β -D o β -L descritas aquí o su sal farmacéuticamente aceptable o

prodroga se puede preparar en una cantidad terapéuticamente efectiva para tratar una infección Flaviviridae, que incluye infección por virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental, virus de fiebre amarilla, y por rinovirus, opcionalmente en combinación con un aditivo, portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. La cantidad terapéuticamente efectiva puede variar con la infección o condición a ser tratada, su severidad, el régimen de tratamiento a ser empleado, las farmacocinéticas o el agente utilizado, así como también el paciente tratado.

En un aspecto de acuerdo con la presente invención, el compuesto de acuerdo con la presente invención se formula preferiblemente en una mezcla con un portador farmacéuticamente aceptable. En general, es preferible administrar la composición farmacéutica en forma oralmente administrable, pero las formulaciones para ser administradas por vía parenteral, intravenosa, intramuscular, transdérmica, bucal, subcutánea, de supositorio u otra ruta. Las formulaciones intravenosas e intramusculares son preferiblemente en solución salina estéril. Un experto en la técnica puede modificar las formulaciones dentro de las enseñanzas de la especificación para suministrar numerosas formulaciones de una ruta particular de administración sin

hacer que las composiciones de la presente invención sean inestables o comprometer su actividad terapéutica. En particular, la modificación de un compuesto deseado lo hace más soluble en agua u otro vehículo, por ejemplo, puede ser fácilmente logrado mediante modificación de rutina (formulación de sal, esterificación, etc.).

En ciertas formas de dosis farmacéuticas, la forma de prodroga del compuesto, especialmente incluyendo derivados acilados (acetilados u otros) y éter, ésteres de fosfato y varias formas de sales de los presentes compuestos, se prefieren. Un experto en la técnica reconocerá que tan fácilmente modificar el presente compuesto a una forma de prodroga para facilitar el suministro del compuesto activo a un sitio blanco dentro del organismo o paciente huésped. El versado también tendrá la ventaja de los parámetros farmacocinéticos favorables de la forma de la prodroga, donde sea aplicable, en suministro del compuesto deseado a un sitio blanco dentro del organismo o paciente huésped para maximizar el efecto pretendido del compuesto en el tratamiento de una infección con *flaviviridae*, que incluye infección por virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental, virus de fiebre amarilla, y por rinovirus.

1082

La cantidad de compuesto incluida dentro de las formulaciones terapéuticamente activas, de acuerdo con la presente invención, es una cantidad efectiva para tratar la infección o condición, en modalidades preferidas, una infección por *Flaviviridae*, que incluye infección con virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental, virus de fiebre amarilla, y rinovirus. En general, una cantidad terapéuticamente efectiva del presente compuesto en forma de dosis farmacéutica usualmente varía desde aproximadamente 50 mg a aproximadamente 2,000 mg o más, dependiendo del compuesto utilizado, la condición o infección tratada y la ruta de administración. Para los propósitos de la presente invención, una cantidad profiláctica o preventivamente efectiva de las composiciones, de acuerdo con la presente invención, cae dentro del mismo rango de concentración como se estableció anteriormente para la cantidad terapéuticamente efectiva y es usualmente la misma que una cantidad terapéuticamente efectiva.

La administración del compuesto activo puede variar desde continua (gota intravenosa) a varias administraciones orales por día (por ejemplo, Q.I.D., B.I.D., etc.) y pueden incluir administración oral, tópica, parenteral, intramuscular, intravenosa, subcutánea, transdérmica (que puede incluir un

1083

agente de mejoramiento de penetración), bucal y de supositorio administración, entre otras rutas de administración. Las tabletas orales recubiertas entéricas también pueden ser utilizadas para mejorar la biodisponibilidad y estabilidad de los compuestos de una ruta oral de administración. La forma de dosis más efectiva depende de las farmacocinéticas del agente particular escogido, así como también de la severidad de la enfermedad en el paciente. Las formas de dosis oral son particularmente preferidas, por la facilidad de la administración y la prospectiva del cumplimiento favorable del paciente.

Para preparar las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención, una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de los compuestos de acuerdo con la presente invención es preferiblemente mezclado con un portador farmacéuticamente aceptable de acuerdo con técnicas de composición farmacéutica convencional para producir una dosis. Un portador puede tener amplia variedad de formas dependiendo de la forma de la preparación deseada para la administración, por ejemplo, oral o parenteral. Para preparar las composiciones farmacéuticas en forma de dosis oral, se puede utilizar cualquiera de los medios farmacéuticos usuales. Así, para las preparaciones líquidas orales tales

1084

como suspensiones, elíxires y soluciones, portadores y aditivos adecuados, incluyendo agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes saborizantes, preservativos, agentes colorantes y similares pueden ser utilizados. Para las preparaciones orales sólidas tales como polvos, tabletas, cápsulas y para las preparaciones sólidas tales como supositorios, pueden ser utilizados portadores y aditivos adecuados que incluyen almidones, portadores de azúcar, tales como dextrosa, manitol, lactosa, y portadores relacionados, diluyentes, agentes granulantes, lubricantes, ligadores, agentes desintegrantes y similares. Si se desea, las tabletas o cápsulas pueden ser recubiertas entéricas para liberación sostenida mediante técnicas estándar. El uso de estas formas de dosis puede impactar significativamente la biodisponibilidad de los compuestos en el paciente.

Para formulaciones parenterales, el portador usualmente comprenderá una solución de agua estéril o de cloruro de sodio acuoso, aunque otros ingredientes, incluyendo aquellos que ayudan a la dispersión, también se pueden incluir. Cuando el agua estéril va a ser utilizada y mantenida como estéril, las composiciones y portadores también deben ser esterilizados. También se pueden preparar suspensiones

1085

inyectables, en cuyo caso se pueden emplear portadores líquidos, agentes de suspensión y similares apropiados.

Las suspensiones liposomales (incluyendo liposomas blanco a los antígenos virales) también se pueden preparar mediante métodos convencionales para producir portadores farmacéuticamente aceptables. Esto puede ser apropiado para el suministro de nucleósidos libres, nucleósido de acilo o formas de prodroga de éster de fosfato de los compuestos de nucleósido de acuerdo con la presente invención.

En modalidades particularmente preferidas de acuerdo con la presente invención, los compuestos y las composiciones son utilizados para tratar, prevenir o retrasar el ataque de una infección de *Flaviviridae*, incluyendo infección con virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental, virus de fiebre amarilla, y rinovirus. Los presentes compuestos son preferiblemente administrados de manera oral, pero pueden también ser administrados parenteralmente, tópicamente o en forma de supositorio.

Los compuestos de acuerdo con la presente invención, en razón de su baja toxicidad a las células huéspedes en ciertos casos, pueden ser ventajosamente empleados profilácticamente

1086

para evitar la infección con *Flaviviridae*, incluyendo infección con virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental, virus de fiebre amarilla, y rinovirus o para evitar la ocurrencia de síntomas clínicos asociados con la infección o condición viral. Así, la presente invención también comprende métodos para el tratamiento profiláctico de la infección viral, y en particular una infección con *Flaviviridae*, que incluye infección con virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental, virus de fiebre amarilla, y rinovirus. En este aspecto, de acuerdo con la presente invención, las presentes composiciones son utilizadas para evitar o retrasar el ataque de una infección de *Flaviviridae*, que incluye infección con virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental, virus de fiebre amarilla, y rinovirus. Este método profiláctico comprende la administración a un paciente necesitado de tal tratamiento, o quien esté en riesgo de desarrollar el virus o una condición, una cantidad de un compuesto de acuerdo con la presente invención efectiva para aliviar, prevenir o retrasar el inicio de la infección o condición viral. En el tratamiento profiláctico de acuerdo con la presente invención, se prefiere que el compuesto antiviral utilizado deba ser bajo en toxicidad y preferiblemente no tóxico al paciente. Es particularmente preferido en este aspecto de la presente invención que el

1087

compuesto que sea utilizado deba ser máximamente efectivo contra el virus o condición y deba exhibir un mínimo de toxicidad al paciente. En el caso de una infección de *Flaviviridae*, que incluye infección con virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental, virus de fiebre amarilla, y rinovirus, los compuestos de acuerdo con la presente invención, que se pueden utilizar para tratar estos estados de enfermedad, se pueden administrar dentro del mismo rango de dosis para el tratamiento terapéutico (es decir, aproximadamente 250 microgramos hasta 1 gramo o más de una a cuatro veces por día para forma de dosis oral) como un agente profiláctico para evitar la proliferación de la infección viral, o alternativamente, para prolongar el ataque de la infección viral, que se manifiesta en sí misma en los síntomas clínicos.

Además, los compuestos de acuerdo con la presente invención se pueden administrar en combinación o alternativamente con uno o más agentes antivirales, que incluyen otros compuestos de la presente invención. Ciertos compuestos de acuerdo con la presente invención pueden ser efectivos para mejorar la actividad biológica de ciertos agentes de acuerdo con la presente invención para reducir el metabolismo, catabolismo o

1088

inactivación de otros compuestos y como tales, son co-administrados para este efecto pretendido.

IV. Estereoisomerismo y Polimorfismo

Se apreciará que los nucleósidos de la presente invención tienen varios centro quirales y pueden existir y estar aislados en formas óptimamente activas y racémicas. Algunos compuestos pueden exhibir polimorfismo. Se debe entender que la presente invención comprende cualquier forma racémica, óptimamente activa, diastereomérica, polimórfica, o estereoisomérica, o mezclas de estas, de un compuesto de la invención, que posea las propiedades útiles descritas aquí. Siendo bien conocido en la técnica como preparar las formas óptimamente activas (por ejemplo, mediante resolución de forma racémica por técnicas de recristalización, mediante síntesis de materiales de partida óptimamente activos, mediante síntesis quiral, o mediante separación cromatográfica utilizando una fase estacionaria quiral).

Los carbonos del nucleósido son quirales, sus sustituyentes diferentes a hidrógeno (la base y los grupos CHOR, respectivamente) pueden ser *cis* (sobre el mismo lado) o *trans* (en lados opuestos) con respecto al sistema de anillo del

1089

azúcar. Los cuatro isómeros ópticos por lo tanto están representados mediante las siguientes configuraciones (cuando orientan la porción de azúcar en un plano horizontal de tal forma que el átomo de oxígeno está al respaldo): *cis* (con ambos grupos "arriba", que corresponde a la configuración de nucleósidos β -D de ocurrencia natural), *cis* (con ambos grupos "abajo", que es una configuración nucleósidos β -L de ocurrencia no natural), *trans* (con el sustituyente C2' "arriba" y el sustituyente C4' "abajo"), y *trans* (con el sustituyente C2' "abajo" y el sustituyente C4' "arriba"). Los "nucleósido D" son nucleósidos *cis* en una configuración natural y los "nucleósidos L" son nucleósidos *cis* en la configuración de ocurrencia no natural.

De manera similar, la mayoría de los aminoácidos son quirales (designados como L o D, en donde el enantiómero L es la configuración de ocurrencia natural) y puede existir como enantiómeros separados.

Ejemplos de métodos para obtener materiales óptimamente activos son conocidos en la técnica, e incluyen al menos los siguientes.

1090

- i) Separación física de cristales - una técnica por medio de la cual cristales microscópicos de los enantiómeros individuales son manualmente separados. Esta técnica se puede utilizar si los cristales de los enantiómeros separados existen, es decir, el material es un conglomerado, y los cristales son visualmente distintos.
- ii) cristalización simultánea - una técnica por medio de la cual los enantiómeros individuales son separadamente cristalizados de una solución del racemato, posiblemente solo si el último es un conglomerado en el estado sólido;
- iii) resoluciones enzimáticas - una técnica por medio de la cual la separación parcial o completa del racemato en virtud de diferentes proporciones de reacción para enantiómeros con una enzima;
- iv) síntesis asimétrica enzimática - una técnica sintética por la cual al menos una etapa de la síntesis utiliza una reacción enzimática para obtener un precursor sintético enantioméricamente puro o enriquecido del enantiómero deseado.

1091

- v) Síntesis asimétrica química - una técnica sintética por la cual el enantiómero deseado es sintetizado de un precursor aquiral bajo condiciones que producen asimetría (es decir, quiralidad) en el producto, que puede ser lograda utilizando catalizadores quirales o auxiliares quirales.
- vi) Separaciones de diastereómero - una técnica por la cual un compuesto racémico reacciona con un reactivo enantioméricamente puro (el auxiliar quiral) que convierte los enantiómeros individuales a diastereómeros. Los diastereómeros resultantes son entonces separados mediante cromatografía o cristalización en virtud de sus ahora diferencias estructurales distintas y el auxiliar quiral último removido para obtener el enantiómero deseado.
- vii) Transformaciones asimétricas de primero y segundo orden - una técnica por la cual los diastereómeros de un raceniato se equilibran para producir una preponderancia de la solución de los diastereómeros del enantiómero deseado y donde la cristalización preferencial del diastereómero del enantiómero

1092

deseado perturba el equilibrio de tal forma que eventualmente en principio todo el material es convertido al diastereómero cristalino del enantiómero deseado. El enantiómero deseado es luego liberado del diastereómero,

viii) Resoluciones cinéticas - esta técnica se refiere al logro de una resolución parcial o completa de un racemato (o de una resolución adicional de una pluralidad de compuestos resueltos) en virtud de proporciones de reacción no iguales de los enantiómeros con un reactivo o catalizador quiral, no racémico bajo condiciones cinéticas;

ix) Síntesis enantioespecífica de precursores no racémicos - una técnica sintética por medio de la cual el enantiómero deseado se obtiene de un material de partida no quiral y en donde la integridad estereoquímica no es o está solamente mínimamente comprometida sobre el curso de la síntesis;

x) Cromatografía líquida quiral - una técnica por medio de la cual los enantiómeros de un racemato son separados en una fase móvil líquida en virtud de sus

1093

interacciones diferentes con la fase estacionaria. La fase estacionaria puede ser hecha de material quiral o la fase móvil puede contener un material quiral adicional para provocar las diferentes interacciones;

- xi) Cromatografía de gas quiral - una técnica por la cual el racemato es volatilizado y los enantiómeros son separados en virtud de sus diferentes interacciones en la fase móvil gaseosa con una columna que contiene una fase adsorbente quiral no racémica fija;
- xii) Extracción con solventes quirales - una técnica por la cual los enantiómeros son separados en virtud de la disolución preferencial de un enantiómero en un solvente quiral particular;
- xiii) Transporte a través de membranas quirales - una técnica por la cual un racemato es ubicado en contacto con una barrera de membrana delgada. La barrera típicamente separa dos fluidos miscibles, uno que contiene el racemato, y una fuerza de manejo tal como concentración o presión diferencial origina el transporte preferencial a través de la barrera de membrana. La separación ocurre como resultado de la

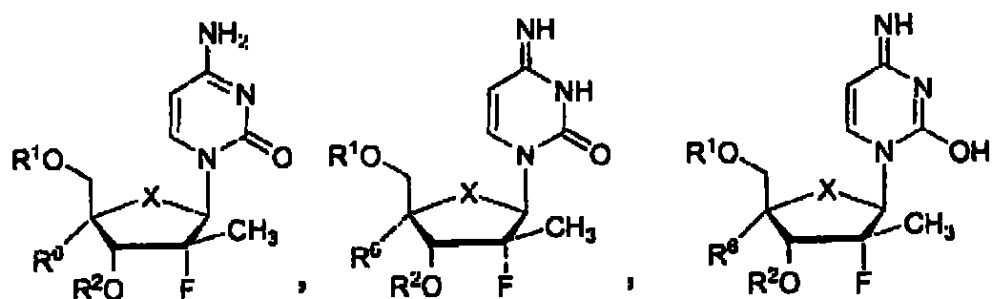
naturaleza quiral no racémica de la membrana que permite solamente que un enantiómero del racemato pase a través.

La cromatografía quiral, que incluye cromatografía de lecho movable simulado, se utiliza en una modalidad. Una amplia variedad de fases estacionarias quirales están comercialmente disponibles.

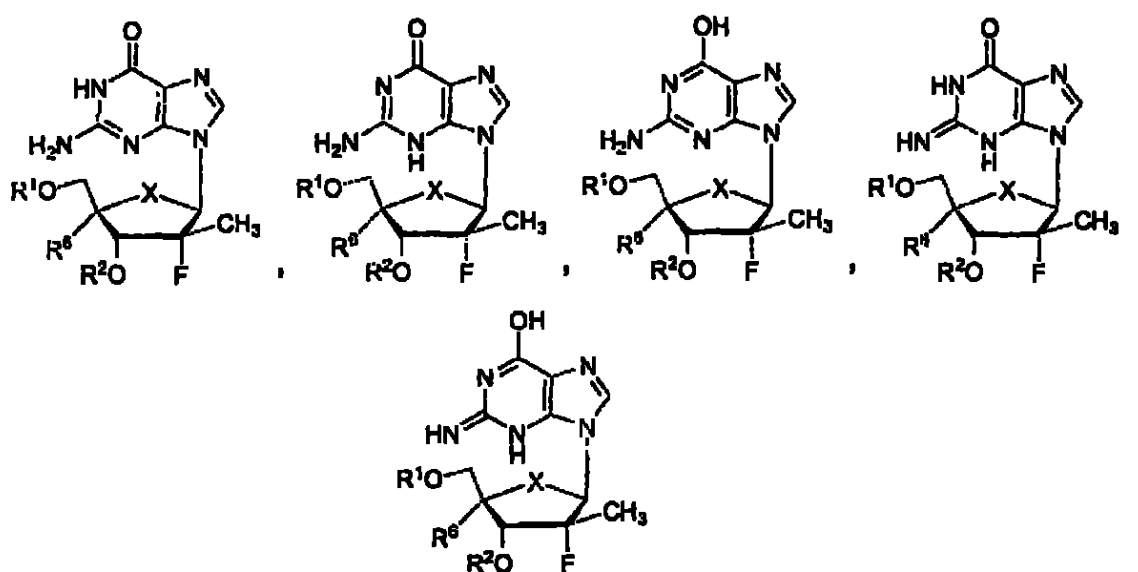
Algunos de los compuestos descritos aquí contienen dobles enlaces olefínicos y a menos que se especifique otra cosa, pretenden incluir tanto los isómeros geométricos E como Z.

Además, algunos de los nucleósidos descritos aquí, pueden existir como tautómeros, tal como, tautómeros ceto-enol. Los tautómeros individuales así como también las mezclas de estos pretenden estar comprendidos dentro de los compuestos de la presente invención como se ilustra adelante.

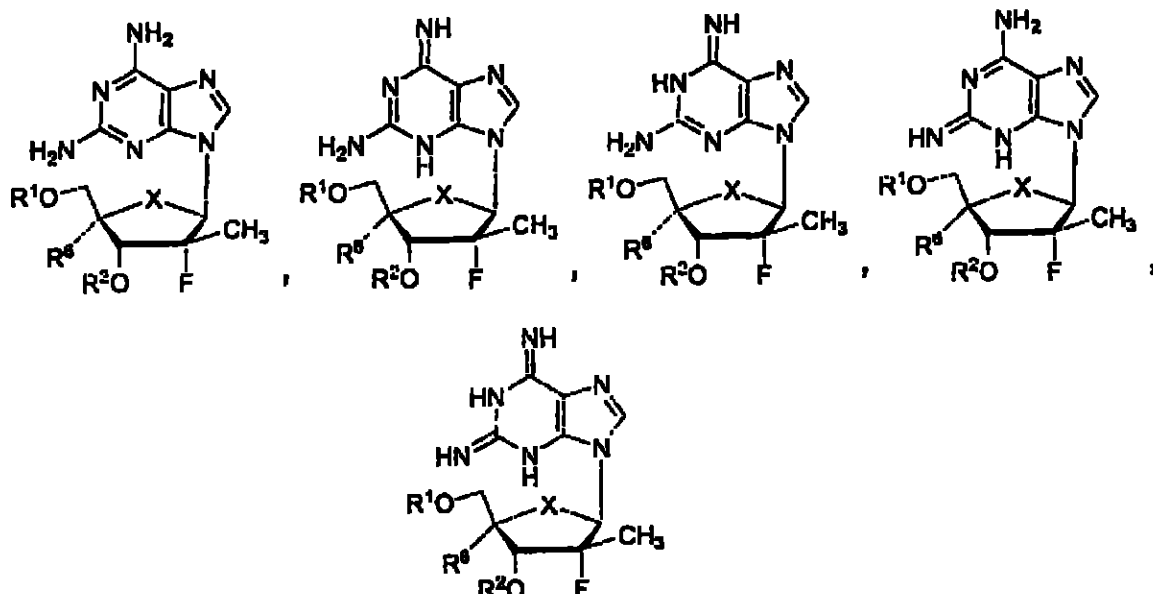
Una (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina:



Una (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilguanosina:



Una (2'R)-2-amino-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metiladenosina:



En cada ejemplo anterior, la primera estructura dibujada es la forma preferida.

V. Prodrogas y Derivados

El compuesto activo se puede administrar como cualquier sal o prodroga que luego de la administración al receptor es capaz de suministrar directa o indirectamente el compuesto padre, o que exhibe actividad por sí mismo. Ejemplos no limitantes son las sales farmacéuticamente aceptables (alternativamente denominadas como "sales fisiológicamente aceptables"), y un compuesto, que ha sido alquilado, acilado, o modificado de otra manera en la posición 5', o en una base de purina o pirimidina (un tipo de "prodroga farmacéuticamente aceptable"). Además, las modificaciones pueden afectar la

1097

actividad biológica del compuesto, en algunos casos incrementar la actividad sobre el compuesto padre. Esto puede fácilmente ser evaluado al preparar la sal o prodroga y ensayar su actividad antiviral de acuerdo con los métodos descritos aquí, o con otros métodos conocidos por aquellos expertos en la técnica.

Sales Farmacéuticamente Aceptables

En casos donde los compuestos son suficientemente básicos o ácidos para formar sales de ácido o base no tóxicas estables, la administración del compuesto de la sal farmacéuticamente aceptable puede ser apropiada. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables son sales de adición de ácido orgánico formadas mediante la adición de ácidos, que forman un anión fisiológico aceptable, por ejemplo, tosilato, metanosulfonato, acetato, citrato, malonato, tartarato, succinato, benzoato, ascorato, a-cetoglutarato, a-glicerofosfato, formato, fumarato, propionato, glicolato, lactato, piruvato, oxalato, maleato, y salicilato. Las sales inorgánicas adecuadas también se pueden formar, incluyendo, sulfato, nitrato, bicarbonato, sales de carbonato, hidrobromato y ácido fosfórico. En una modalidad preferida, la sal es una sal mono- o di-clorhidrato.

1098

Las sales farmacéuticamente aceptables se pueden obtener utilizando procedimientos estándar bien conocidos en la técnica, por ejemplo al hacer reaccionar un compuesto suficientemente básico tal como una amina con un ácido adecuado logrando un anión fisiológicamente aceptable. Los metales alcalinos (por ejemplo, sodio, potasio, o litio) o metales alcalino térreos (por ejemplo, calcio) sales de ácidos carboxílicos también se pueden hacer. En una modalidad, la sal es un clorhidrato, bromohidrato, o sal de mesilato del compuesto. En otra modalidad, la sal farmacéuticamente aceptable es un clorhidrato, bromohidrato, o sal de dimesilato.

Formulaciones de Prodroga de Nucleótido

Los nucleósidos descritos aquí se pueden administrar como una prodroga de nucleótido para incrementar la actividad, biodisponibilidad, estabilidad, o de otra manera alterar las propiedades del nucleósido. Un número de ligandos de prodroga de nucleótidos son conocidos. En general, la alquilación, acilación u otra modificación lipofílica del mono-, di- o trifosfato del nucleósido reduce la polaridad y permite el

1099

paso a las células. Ejemplos de grupos sustituyentes que pueden reemplazar uno o más hidrógenos sobre la porción fosfato son alilo, arilo, esteroides, carbohidratos, que incluyen azúcares, 1,2-diacilglicerol y alcoholes. Muchos son descritos en R. Jones y N. Bischoferger, Antiviral Research, 1995, 27: 1-17. Cualquiera de estos se puede utilizar en combinación con los nucleósidos descritos para lograr un efecto deseado.

En una modalidad alternativa, el nucleósido se suministra como un fosfonato o un derivado SATE.

El nucleósido activo también se puede suministrar como un lípido de 2'-, 3'- y/o 5'-fosfoéter o un lípido de 2'-, 3'- y/o 5'-éter. Se describen ejemplos no limitantes que incluyen las siguientes referencias, que se incorporan mediante referencia aquí: Kucera, L. S., N. Iyer, E. Leake, A. Raben, Modest E. K., D. L. W., y C. Piantadosi. 1990. "Novel membrane-interactive ether lipid analogs that inhibit infectious HIV-1 production and induce defective virus formation." AIDS Res. Hum. Retro Viruses. 6: 491-501; Piantadosi, C., J. Marasco C. J., S. L. Morris-Natschke, K. L. Meyer, F. Gumus, J. R. Surles, K. S. Ishaq, L. S. Kucera, N. Iyer, CA. Wallen, S. Piantadosi, y E. J. Modest. 1991.

"Synthesis and evaluation of novel ether lipid nucleoside conjugates for anti-HIV activity." J. Med Chem. 34: 1408.1414; Hosteller, K. Y., D. D. Richman, D. A. Carson, L. M. Stuhmiller, G. M. T. van Wijk, y H. van den Bosch. 1992. "Greatly enhanced inhibición of human immunodeficiency virus type 1 replication in CEM and HT4-6C cells by 3'-deoxytymine diphosphato dimyristoylglycerol, a lipid prodrug of 3,- deoxytymina." Antlnzicrob. Agents Chemoter. 36: 2025.2029; Hosetler, K. Y., L. M. Stuhmiller, H. B. Lenting, H. van den Bosch, y D. D. Richman, 1990. "Synthesis and antiretroviral activity of phospholipid analogs of azidotymidine and other antiviral nucleosides." J. Biol. Chem. 265: 61127.

Ejemplos no limitantes de las patentes U.S. que describen sustituyente lipofílicos adecuados pueden ser covalentemente incorporados en el nucleósido, preferiblemente en la posición 2'-, 3'- y/o 5'-OH del nucleósido o las preparaciones lipofílicas, incluyen las Patentes U.S. Nos. 5,149,794 (Sep. 22, 1992, Yatvin et al.); 5,194,654 (Mar. 16, 1993, Hostetler et al., 5,223,263 (Junio 29, 1993, Hostetler et al.); 5,256,641 (Oct. 26, 1993, Yatvin et al.); 5,411,947 (Mayo 2, 1995, Hostetler et al.); 5,463,092 (Oct. 31, 1995, Hostetler et al.); 5,543,389 (Agosto 6, 1996, Yatvin et al.); 5,543,390 (Agosto. 6, 1996, Yatvin et al.); 5,543,391 (Agosto. 6, 1996,

1101

Yatvin et al.); y 5,554,728 (Sep. 10, 1996; Basava et al.), todas las cuales se incorporan aquí como referencia. Las solicitudes de patente extranjeras que describen sustituyentes lipofílicos que se pueden unir a los nucleósidos de la presente invención, o preparaciones lipofílicas, incluyen la WO 89/02733, WO 90/00555, WO 91/16920, WO 91/18914, WO 93/00910, WO 94/26273, WO 96/15132, EP 0350287, EP 93917054.4, y WO 91/19721.

También se suministran ésteres de arilo, especialmente los ésteres de fenilo. Son descritos ejemplos no limitantes en DeLambert et al., J. Med. Chem. 37: 498 (1994). También se suministran ésteres de fenilo que contienen un éster carboxílico orto en el fosfato. Khaninei y Torrence, J. Med. Chem.; 39: 41094115 (1996). En particular, se suministran ésteres de benzilo, que generan el compuesto padre, en algunos casos utilizando sustituyentes en las posiciones orto- o para- para acelerar la hidrólisis. Se describen ejemplos de esta clase de prodrogas por Mitchell et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. I 2345 (1992); Brook, et al. WO 91/19721; y Glazier et al. WO 91/1 9721.

También se suministran los ésteres de fosfonato cíclicos y no cíclicos. Se describen ejemplos no limitantes por Hunston et

al., J. Med. Chem. 27: 440-444 (1984) y Starrett et al. J. Med. Chem. 37: 1857-1864 (1994). Adicionalmente, se suministran ésteres de 3',5'-fosfato cíclicos. Se describen ejemplos no limitantes por Meier et al. J. Med. Chem. 22: 811-815 (1979). También se suministran ésteres de 1',3'-propanil fosfonato y fosfato cíclicos, tales como aquellos que contienen un anillo de arilo fusionado, es decir el éster de ciclosaligenilo (Meier et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 7: 99-104 (1997)). También se suministran ésteres de 1',3'-propanilo cíclicos no sustituidos de los monofosfatos (Farquhar et al., J Med. Chem. 26: 1153 (1983); Farquhar et al., J. Med. Chem. 28: 1358 (1985)) los cuales fueron preparados. Además, se suministran ésteres de 1',3'-propanilo cíclicos sustituidos con un grupo pivaloiloxi metiloxi en C-1' (Freed et al., Biochem. Pharmac. 38: 3193 (1989); Biller et al., Pat. U. S. No. 5,157, 027).

Los fosforamidatos cíclicos son conocidos por clivar in vivo mediante un mecanismo oxidativo. Por lo tanto, en una modalidad de la presente invención, se suministra una variedad de fosforamidatos cíclicos de 1',3' propanil sustituidos. Ejemplos no limitantes se describen en Zon, Progress en Med. Chem. 19,1205 (1982). Adicionalmente, se suministra un número de proésteres 2'- y 3'-sustituidos. Los

sustituyentes 2'- incluyen metilo, dimetilo, bromo, trifluorometilo, cloro, hidroxilo, y metoxi; los sustituyentes 3'-incluyen fenilo, metilo, trifluorometilo, etilo, propilo, i-propilo, y ciclohexilo. También se suministra una variedad de análogos 1'-sustituidos.

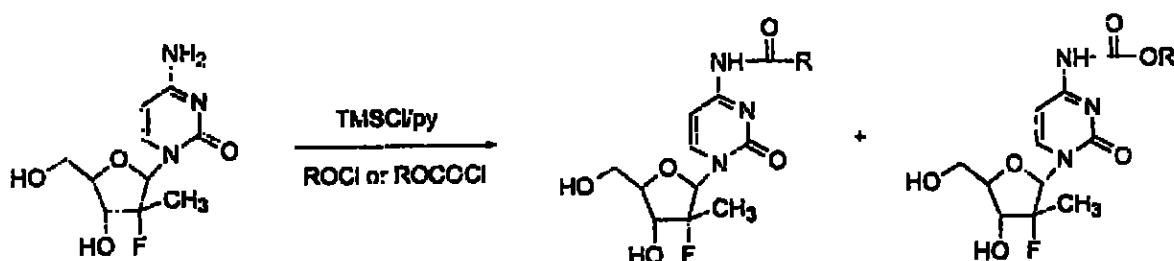
Los ésteres cíclicos de compuestos que contienen fósforo también se suministran. Ejemplos no limitantes se describen en lo siguiente:

- Di y tri ésteres de ácidos fosfóricos reportados en Nifantsev et al., Phosphorus, Sulfur Silicon and Related Elements, 113: 1 (1996); Wijnberg et al., EP-180276 A1;
- Ésteres de ácido fosforoso (III). Kryuchkov et al., Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim. 6: 1244 (1987). Algunos de los compuestos fueron reivindicados por ser útiles para la síntesis asimétrica de los precursores L-Dopa. Sylvain et al., DE35 12781 A1;
- Fosforamidatos. Shili et al., Bull. Inst. Chem. Acad. Sin, 41: 9 (1994); Edmundson et al., J. Chem. Res. Synop. 5: 122 (1989); y

- Fosfonatos. Neidlein et al., Heterocycles 35: 1185 (1993).

Prodrogas N⁴-acilo

La invención también suministra prodrogas N⁴-acilo. Un ejemplo no limitante de un derivado de N⁴-acilo de (2'R)-2'-F-2'-C-metilcitidina se muestra adelante:

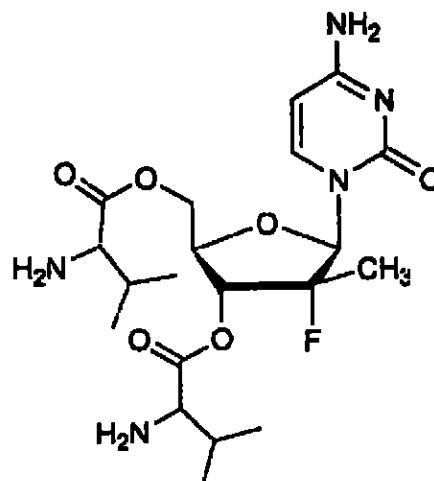
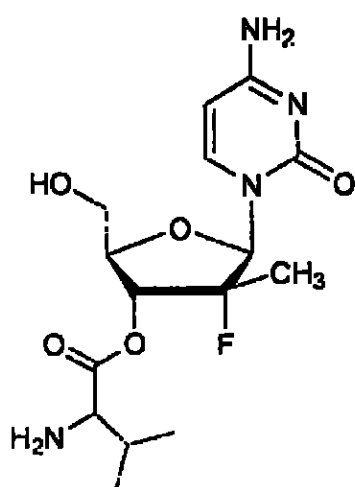


en donde R puede ser un grupo acilo como se describe aquí.

La invención también contempla otras modalidades, en donde la prodroga de un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) incluye porciones biológicamente clivables en las posiciones 3' y/o 5'. Las porciones preferidas son ésteres de aminoácido D o L naturales o sintéticos, que incluyen D o L-valilo, aunque preferiblemente ésteres de L-aminoácidos, tal como L-valilo, y alquil ésteres incluyendo acetilo. Por lo tanto, esta invención incluye específicamente

ésteres de 3'- L o D-aminoácidos y ésteres de 3',5'-L o D-diaminoácidos del nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) nucleósidos, preferiblemente L-aminoácido, con cualquier base de purina o pirimidina deseada, en donde la droga padre opcionalmente tiene un EC_{50} de menos de 15 micromolar, y aún más preferiblemente menos de 10 micromolar; 3'-(alquil o aril) éster o 3',5'-L-di(alquil o aril) éster de nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) con cualquier base de purina o pirimidina deseada, en donde la droga padre opcionalmente tiene un EC_{50} de menos de 10 o 15 micromolar; y prodrogas de 3',5'-diésteres del nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) en donde (i) el 3'éster es un éster de aminoácido y el 5'-éster es un éster de alquilo o arilo; (ii) ambos ésteres son ésteres de aminoácido; (iii) ambos ésteres son independientemente ésteres de alquilo o arilo; y (iv) el 3'-éster es independientemente un éster de alquilo o arilo y el 5'-éster es un éster de aminoácido, en donde la droga padre opcionalmente tiene un EC_{50} de menos de 10 o 15 micromolar.

Ejemplos no limitantes de prodrogas que caen dentro de esta invención son.



VI. Terapia de Alternación o de Combinación

En otra modalidad, para el tratamiento, inhibición, prevención y/o profilaxis de cualquier infección viral descrita aquí, el compuesto activo o su derivado o sal se puede administrar en combinación o alternativamente con otro agente antiviral. En general, en terapia de combinación, las dosis efectivas de dos o más agentes son administradas juntas, mientras que durante la terapia alternativa, una dosis efectiva de cada agente es administrada en serie. La dosis dependerá de la adsorción, inactivación y proporción de excreción de la droga así como también otros factores conocidos por aquellos expertos en la técnica. Se debe notar que los valores de dosis también variarán con la severidad de la condición a ser aliviada. Se debe entender adicionalmente que para un sujeto particular, los regimenes específicos de

1107

dosis y las programaciones se deben ajustar durante el tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el juicio del profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones.

Se ha reconocido que las variantes resistentes a la droga de flavivirus, pestivirus o HCV pueden emerger después de tratamientos prolongados con un agente antiviral. La resistencia a la droga típicamente ocurre mayormente mediante mutación de un gen que codifica para una enzima utilizada en la replicación viral. La eficacia de una droga contra la infección viral puede ser prolongada, aumentada, o restaurada al administrar el compuesto en combinación o alternación con un segundo, y quizás tercer, compuesto antiviral que induce una mutación diferente de aquella causada por la droga principal. Alternativamente, las farmacocinéticas, biodistribución y otros parámetros de la droga se pueden alterar mediante tal terapia de combinación o alternación. En general, la terapia de combinación es típicamente preferida sobre la terapia de alternación porque esta induce múltiples tensiones simultáneas sobre el virus.

Por ejemplo, un experto en la técnica reconocerá que cualquier droga o terapia antiviral se puede utilizar en

1108

combinación o alternación con cualquier nucleósido de la presente invención. Cualquiera de los tratamientos virales descritos en el antecedente de la invención se pueden utilizar en combinación o alternación con los compuestos descritos en esta especificación. Ejemplos no limitantes de los tipos de los agentes antivirales o sus prodrogas que se pueden utilizar en combinación con los compuestos descritos aquí incluyendo: interferón, que incluye interferón alfa 2a, interferón alfa 2b, interferón pegilado, interferón beta, interferón gamma, interferón tau y interferón omega; una interleucina, que incluye interleucina 10 e interleucina 12; ribavirina; interferón alfa o interferón alfa pegilado en combinación con ribavirina o levovirina; levovirina; un inhibidor de proteasa que incluye un inhibidor NS3, un inhibidor NS3-4A; un inhibidor de helicasa; un inhibidor de polimerasa que incluye polimerasa ARN HCV e inhibidor de polimerasa NS5B; gliotoxina; un inhibidor IRES; y oligonucleótido antisentido; un derivado de tiazolidino; una benzanilida, una ribozima; otro nucleósido, prodroga de nucleósido o derivado de nucleósido; un 1-aminoalquilciclohexano; un antioxidante que incluye vitamina E; esqualeno; amantadino; un ácido de bilis; ácido N-(fosfonoacetil)-L-aspartico; una benzenodicarboxamida; ácido poliadenílico; unos benzimidazoles; timosina; un inhibidor de

beta tubulina; una vacuna profiláctica; un modulador inmune, un inhibidor IMPDH; silibin-fosfatidilcolina fitosoma; y micofenolato.

Los ejemplos no limitantes adicionales de los tipos de drogas o sus prodrogas descritas anteriormente incluyen: aciclovir (ACV), ganciclovir (GCV o DHPG) y sus prodrogas (por ejemplo, valil-ganciclovir), E-5-(2-bromovinil)-2'-desoxiuridina (BVDU), (E)-5-vinil-1- β -D-arabonosiluracilo (VaraU), (E)-5-(2-bromovinil)-1- β -D-arabinosiluracilo (BV-araU), 1-(2-desoxi-2-fluoro- β -D-arabinosil)-5-yodocitosina (D-FIAC), 1-(2-deoxi-2-fluoro-(3-L-arabinosil)-5-metiluracilo (L-FMAU, o clevudina), (S)-9-(3-hidroxi-2-fosfonihnetoxipropil) adenina [(S)-HPMPA], (S)-9-(3-hidroxi-2-fosfonilmetoxipropil)-2,6-diaminopurina [(S)-HPMPDAP], (S)-1-(3-hidroxi-2-fosfonilmetoxipropil)citosina [(S)-HPMPC, o cidofivir], y (2S, 4S)-1-[2-(hidroximetil)-1,3-dioxolan-4-il]-5-yodouracilo (L-5-IoddU), entecavir,, lamivudina (3TC), LdT, LdC, tenofovir, y adefovir, el (-)-enantiómero de 2-hidroximetil-5-(5-fluorocitosin-1-il)-1,3-oxatolano ((-)-FTC); el (-)-enantiómero de 2-hidroximetil-5-(citosin-1-il)-1,3-oxatolano (3TC); carbovir, aciclovir, famciclovir, penciclovir, AZT, DDI, DDC, L-(-)-FMAU, D4T, amdoxovir, Reverset, Racivir, abacavir, prodrogas de L-DDA fosfato, y β -D-dioxolanil-6-

11/10

cloropurina (ACP), inhibidores RT no nucleósidos tales como nevirapina, MKC-442, DMP-226 (sustiva), inhibidores de proteasa tales como indinavir, saquinavir, Kaletra, atazanavir; y compuestos anti-HIV tales como BILN-2061, ISIS 14803; viramidina, NM 283, VX-497, JKT-003, levovirina, isatoribina, albuferon, Peg-infergen, VX-950, R803, HCV-086, R1479 y DMP45.

Composiciones farmacéuticas

Los huéspedes, incluyendo los humanos, infectados con pestivirus, flavivirus, infección de HCV, o cualquier otra condición descrita aquí, u otro organismo que replica a través de un ARN viral polimerasa dependiente de ARN, o para el tratamiento de cualquier otro desorden descrito aquí, puede ser tratado al administrar al paciente una cantidad efectiva del compuesto activo o una prodroga o sal farmacéuticamente aceptable de éste en la presencia de un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los materiales activos se pueden administrar mediante cualquier ruta apropiada, por ejemplo, oralmente, parenteralmente, intravenosamente, intradérmicamente, subcutáneamente, o tópicamente, en forma líquida o sólida.

1111

Una dosis preferida del compuesto para una infección con *Falviviridae*, que incluye infección con virus de hepatitis C, Virus del Nilo Occidental y virus de fiebre amarilla y rinovirus estará en el rango de aproximadamente 50 a aproximadamente 2000 mg una a cuatro veces por día. Dosis inferiores pueden ser útiles, y así los rangos pueden incluir de 50 - 1000 mg una a cuatro veces por día. El rango de dosis efectiva de las sales farmacéuticamente aceptables y prodrogas se puede calcular con base en el peso del nucleósido padre a ser suministrado. Si la sal o la prodroga exhiben actividad en sí misma la dosis efectiva se puede estimar como anteriormente utilizando el peso de la sal o prodroga, o mediante otros medios conocidos por aquellos expertos en la técnica.

El compuesto es convenientemente administrado en cualquier forma de dosis unitaria, incluyendo pero no estando limitado a una que contiene 25 a 3000 mg, preferiblemente 50 a 2000 mg del ingrediente activo por forma de dosis unitaria. Una dosis oral de 50-1000 mg es usualmente conveniente, incluyendo una de formas de dosis múltiples de 50, 100, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 o 1000 mgs. También se contemplan dosis de 0.1-50 mg, o 0.1-20 mg o 0.1-10.0 mg. Adicionalmente, las dosis inferiores se pueden utilizar en el

caso de administración por una ruta no oral, como, por ejemplo, por inyección o inhalación.

Idealmente el ingrediente activo se debe administrar para lograr concentraciones de plasma pico (C_{max}) del compuesto activo desde aproximadamente 5.0 a 70 μM , preferiblemente aproximadamente 5.0 a 15 μM . Esto se puede lograr, por ejemplo, mediante inyección intravenosa de una solución de 0.1 a 5% del ingrediente activo, opcionalmente en solución salina, o administrado como un bolo del ingrediente activo.

La concentración del compuesto activo de la composición de droga dependerá de las proporciones de absorción, inactivación o excreción de la droga así como también otros factores conocidos por aquellos expertos en la técnica. Se debe notar que los valores de dosis variarán también con la severidad de la condición a ser aliviada. Se deben entender adicionalmente que para cualquier sujeto particular, los regimenes de dosis específicos se deben ajustar durante el tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el juicio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de la composición, y que los rangos de concentración establecidos aquí son solamente ejemplos y no pretenden limitar el alcance de la práctica de la composición

reivindicada. El ingrediente activo también se puede administrar de una vez, o se puede dividir en un número de pequeñas dosis para ser administrado a intervalos variantes de tiempo.

Un modo preferido de administración del compuesto activo es oral. Las composiciones orales generalmente incluirán un diluyente inerte como un portador comestible. Ellas pueden estar incluidas en cápsulas de gelatina o comprimidas en tabletas. Para el propósito de la administración terapéutica oral, el compuesto activo se puede incorporar con excipientes y utilizar en la forma de tabletas, pastillas, o cápsulas. Los agentes de unión farmacéuticamente compatibles, y/o los materiales adyuvantes se pueden incluir como parte de la composición.

Las tabletas, píldoras, cápsulas, pastillas y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de una naturaleza similar: un ligador tal como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente desintegrante tal como ácido algínico, Primogel o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio o Sterotes; un abrillantante tal como dióxido de silicio

1114

coloidal; un agente endulzante tal como sucrosa o sacarina; o un agente saborizante tal como pimienta, metil salicilato o sabor a naranja. Cuando la forma de dosis unitaria es una cápsula, esta puede contener, además del material del tipo anterior, un portador líquido tal como un aceite graso. Además, las formas de dosis unitarias pueden contener varios otros materiales que modifican la forma física de la forma unitaria, por ejemplo, recubrimiento de azúcar, shellac, u otros agentes entéricos.

El compuesto se puede administrar como un componente de un elixir, suspensión, melaza, galleta, goma de mascar o similar. Una melaza puede contener, además de los compuestos activos, sucrosa como un agente endulzante y ciertos preservativos, tintes y colorantes y saborizantes.

El compuesto o la prodroga farmacéuticamente aceptable o las sales de ésta pueden también ser mezcladas con otros materiales activos que no le imparten la acción deseada, o con materiales que suplementan la acción deseada, tales como antibióticos, antifungosos, anti-inflamatorios, y otros antivirales, incluyendo otros compuestos de nucleósido. Las soluciones o suspensiones utilizadas para aplicación parenteral, intradérmica, subcutánea o tópica pueden incluir

los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijados, polietilen glicoles, glicerina, propilen glicoles u otros solventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como benzil alcohol o metil parabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tal como ácido etilenodiaminotetraacético, amortiguadores tales como acetatos, citratos, o fosfatos y agentes para el tratamiento de tonicidad tal como cloruro de sodio o dextrosa. La preparación parenteral se puede incluir en ampollas, jeringas desechables o frascos de dosis múltiple hechos de vidrio o plástico.

Si se administra intravenosamente, los portadores preferidos son soluciones salinas fisiológicas o soluciones salinas amortiguadas de fosfato (PBS).

En la presente modalidad, los compuestos activos son preparados que protegerán el compuesto contra la eliminación rápida del cuerpo, tal como formulación de liberación controlada, que incluye implantes y sistemas de suministro microencapsulado. Se pueden utilizar polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como etil vinil acetato, polianhidridos, ácido poliglicólico, colágeno,

poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de tales formulaciones serán evidentes para aquellos expertos en la técnica. Los materiales también pueden ser obtenidos comercialmente de Alza Corporation.

Las suspensiones liposomales (que incluyen liposomas blanco de células infectadas con anticuerpos monoclonales a antígenos virales) también son preferidas como portadores farmacéuticamente aceptables. Estos se pueden preparar de acuerdo con los métodos conocidos por aquellos expertos en la técnica. Por ejemplo, las formulaciones de liposoma se pueden preparar al disolver lípido o lípidos apropiados (tales como estearoil fosfatidil etanolamina, estearoil fosfatidil colina, aracadoil fosfatidil colina, y colesterol) en un solvente inorgánico que es luego evaporado, dejando detrás una película delgada de lípido seca sobre la superficie del recipiente. Una solución acuosa del compuesto activo o sus derivados monofosfato, difosfato, y/o trifosfato son entonces introducidas en un recipiente. El recipiente es luego agitado con la mano para liberar material de lípido de los lados del recipiente y dispersar los agregados de lípido, formando de esta manera la suspensión liposomal.

VII. Métodos Biológicos

1117

Ensayo Antiviral de Compuestos Candidatos con Sistema Replicon HCV en Células Huh7.

Las células Huh7 que permanecen en el replicón HCV se pueden cultivar en un medio DMEM (glucosa alta, sin piruvato) que contiene 10% de suero bovino fetal, Aminoácidos 1X no esenciales, Pen-Strep-Glu (100 unidades/litro, 100 microgramos/litro, y 2.92 mg/litro, respectivamente) y 500 a 1000 microgramos/mililitro G418. Los ensayos de selección antiviral se pueden hacer en el mismo medio sin G418 como sigue: con el fin de mantener las células en fase de crecimiento logarítmico, las células son sembradas en placas de 96 pozos a baja densidad, por ejemplo 1000 células por pozo. El compuesto de ensayo se agrega inmediatamente después de sembrar las células e incubar durante un periodo de 3 a 7 días a 37° C en una incubadora. El medio es entonces removido, y las células son preparadas para la extracción de ácido nucleico total (que incluye el ARN replicón y el ARN huésped). El ARN replicón puede entonces ser amplificado en un protocolo Q-RT-PCR, y de acuerdo con esto cuantificado. Las diferencias observadas en los niveles de ARN de HCV replicón comparados con el control no tratado es una manera de expresar la potencia antiviral del compuesto de ensayo.

En otra configuración típica, un compuesto podría reducir la actividad de la ARN polimerasa viral, pero no la actividad de la ARN polimerasa huésped. Por lo tanto, la cuantificación del rARN o mARN de beta-actina (o cualquier otro fragmento de ARN) y la comparación con los niveles de ARN del control sin droga es una medida relativa del efecto inhibitorio del compuesto de ensayo sobre la ARN polimerasa celular.

Ensayo de Fosforilación de Nucleósido para Trifosfato Activo

Para determinar el metabolismo celular de los compuestos, células Huh-7 se obtienen del American Type Culture Collection (Rockville, MD), y se hacen crecer en frascos de cultivo de tejido de 225 cm² en un medio esencial mínimo suplementado con aminoácidos no esenciales, 1% de penicilina-estreptomicina. El medio es removido cada tres días, y las células son sub cultivadas una vez por semana. Después del despegue de la monocapa adherente con una exposición de 10 minutos a 30 mL de tripsina-EDTA y tres lavados consecutivos con medio, las células Huh-7 confluyentes son sembradas a una densidad de 2.5×10^6 células por pozo en una placa de 6 pozos y expuestas a 10 μ M de compuesto activo marcado [³H] (500 dpm/pmol) durante periodos específicos de tiempo. Las

células son mantenidas a 37° C bajo una atmósfera de CO₂ al 5%. En los puntos de tiempo seleccionados, las células son lavadas tres veces con solución salina amortiguada con fosfato frío (PBS). El compuesto activo intracelular y sus respectivos metabolitos son extraídos al incubar el glóbulo de célula durante toda la noche a -20° C con 60% de metanol seguido por la extracción con 20 µL adicionales de metanol frío durante una hora en un baño de hielo. Los extractos son entonces combinados, secados bajo flujo de aire filtrado suave y almacenados a -20° C hasta análisis HPLC.

Ensayo de Biodisponibilidad en Monos Cinomólogos

En la semana 1 antes de la iniciación del estudio, se registraron monos cinomólogo implantados quirúrgicamente con un catéter venoso crónico y un puerto de acceso venoso subcutáneo (VAP) para facilitar la recolección de sangre y tener un examen físico que incluye hematología y evaluaciones de química del suero y de peso corporal. Cada mono (seis en total) reciben aproximadamente 250 µCi de un compuesto ³H-marcado combinado con cada dosis de compuesto activo a un nivel de dosis de 10 mg/kg en una concentración de dosis de 5 mg/mL, por vía del bolo intravenoso (3 monos, IV), o por vía de gavaje oral (3 monos, PO). Cada jeringa de dosificación es

pesada antes de dosificar para determinar gravimétricamente la cantidad de formulación administrada. Las muestras de orina son recolectadas por vía de un recipiente tomados a intervalos designados (aproximadamente 18-0 horas pre-dosis, 0-4, 4-8 y 8-12 horas post-dosis) y procesadas. Las muestras de sangre son recolectadas también (pre-dosis, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 6, 8, 12, y 24 horas post-dosis) por vía de un catéter venoso crónico y VAP o desde un recipiente periférico si el procedimiento de catéter venoso crónico no es posible. Las muestras de sangre y orina son analizadas para la concentración máxima (C_{max}), tiempo cuando se logra la concentración máxima (T_{max}), área bajo la curva (AUC), vida media de la concentración de dosis ($T_{1/2}$), depuración (CL), distribución y volumen de estado constante (V_{ss}) y biodisponibilidad (F).

Ensayo de Toxicidad de Médula Ósea

Células de médula ósea humana son recolectadas de voluntarios saludables normales y población mononuclear son separadas mediante centrifugación de gradiente Ficoll-Hypaque como se describió previamente por Sommadossi J-P, Carlisle R. "Toxicity of 3'-azido-3'-deoxytymidine and 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanine for normal human hematopoietic

1121

progenitor cells en vitro" Antimicrobial Agents y Chemotherapy 1987; 31: 452-454; y Sommadossi J-P, Schinazi RF, Chu CK, Xie M-Y. "Comparison de cytotoxicity of the (-)- and (+)-enantiomer de 2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine in normal human bone marrow progenitor cells" Biochemical Pharmacology 1992; 44: 1921-1925. Los ensayos de cultivo para CFU-GM y BFU-E son desarrollados utilizando agar suave bicapa o un método de metilcelulosa. Las drogas son diluidas en medio de cultivo de tejido y filtradas. Después de 14 a 18 días a 37° C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5% en aire, las colonias de más de 50 células son contadas utilizando un microscopio invertido. Los resultados son presentados como la inhibición porcentual de la formación de colonias en la presencia de droga comparada con los cultivos de control de solvente.

Ensayo de Toxicidad de Mitocondria

Cincuenta microlitros de diluciones de droga 2X fueron agregados por pozo en una placa de 96 pozos. Un control "sin droga" (medio solamente) fue usado para determinar la cantidad máxima de ADN mitocondrial producido mediante ADN ribosomal. 3TC @ 10 µM se utilizaron como control negativo, y ddC @ 10 µM se utilizó como control tóxico. Los niveles de

ADN ribosomal se utilizaron para determinar la toxicidad específica de la mitocondria o en general la citotoxicidad. Las células HepG2 (5000 células/pozo en 50 μ l) fueron agregadas a la placa. La placa se incubó a 37° C en una atmósfera de CO₂ al 5% humidificada durante 7 días. Después de incubación, el supernadante se removió y se almacenó para cuantificación del ácido láctico, y el ADN total se extrajo de las células como se describió en el manual RNeasy 96 (Febrero 1999), páginas 22-23. No se desarrollaron digestiones de ADN, por lo tanto se extrajo el ARN y ADN total.

El ADN extraído se amplificó y se determinó el cambio en el ADN mitocondrial y el ADN ribosomal para cada muestra. Se calculó la diferencia doble en el ADN mitocondrial normalizado para ADN ribosomal con relación al control.

Se desarrolló la cuantificación de ácido láctico mediante un kit de ensayo D-Ácido Láctico/L-Ácido Láctico (Boehringer Mannheim/R-Biofarm/Roche). La cantidad total de ácido láctico producida para cada muestra se encontró también como el cambio doble en la producción de ácido láctico (% de ácido láctico/% de rADN) como se describió en las instrucciones del fabricante.

Ensayo de Citotoxicidad

50 µl de 2X diluciones de droga fueron agregados por pozo en una placa de 96 pozos. Las concentraciones finales de la droga variaron de 1 a 100 µM. Un control "sin droga" (medio solamente" se utilizó para determinar los valores de absorbancia mínima y un control "células + medio solamente" se utilizó para valor de absorbancia máxima. También se utilizó un control de solvente. Fueron entonces agregadas células (PBM: 5 x 10⁴ células/pozo; CEM: 2.5 x 10³ células/pozo; Vero, Hep2G, Huh-7, y Clon A: 5 x 10³ células/pozo) y se incubaron a 37° C en una atmósfera de CO₂ al 5% humidificada durante 3-5 días (PBM: 5 días; CEM: 3 días, todos los otros: 4 días). Después de la incubación, se agregaron 20µl de tinte MTS proveniente de Cell Titer Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay para cada pozo y la placa fue reincubada durante 2-4 horas. La absorbancia (490 nm) fue entonces leída sobre un lector de placa ELISA utilizando pozos de medio solamente/sin célula como moldes. Se encontró la inhibición porcentual y se utilizó para calcular el CC₅₀.

Toxicidad In vivo en Ratones

La toxicidad *in vivo* también se determinó luego de inyecciones en ratones Suizos hembra de los varios nucleósidos descritos en la presente invención. Las inyecciones intraperitoneales fueron dadas en los días 0, día 1, día 2, día 3, y día 5 de dosis variantes de nucleósido particular. Los animales separados fueron inyectados con vehículo como grupos de control. En estos estudios, cada grupo de dosificación contenía 5-10 ratones. El cambio de peso promedio en cada uno de los ratones fue medido como un signo de toxicidad del compuesto.

Ensayo de Reducción de Producción (BVDV)

Células de Riñón Bovino Madin-Darby (MDBK) se hicieron crecer en un medio eagle modificado de Dulbecco suplementado con 10% de suero de caballo y 100µg/ml de penicilina-estreptomicina. Las células fueron sembradas en una placa de 96 pozos a 5×10^3 células/pozo e incubadas durante 72 h a 37° C y en una atmósfera de CO₂ al 5% humidificada. Las células fueron infectadas con BVDV citopático (cepa NADL) o no citopático (cepa SD-1) en una dilución de virus de 10^{-2} e incubada durante 45 minutos. Las monocapas de células fueron lavadas tres veces con medio. Los compuestos de ensayo que contienen

1125

medio fresco en concentraciones de respuesta de dosis o ribavirina, como un control positivo, se agregaron a los cultivos y el medio que no contenía droga se agregó a los controles sin droga. Después de incubación durante 72h, se recolectó el supernadante y se extrajo el ARN viral utilizando el QIAmp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, CA). Se determinó la carga viral mediante Q-RT-PCR utilizando iniciadores específicos para el NADL o el SD-1 (1).

VIII. Protocolo Sintético

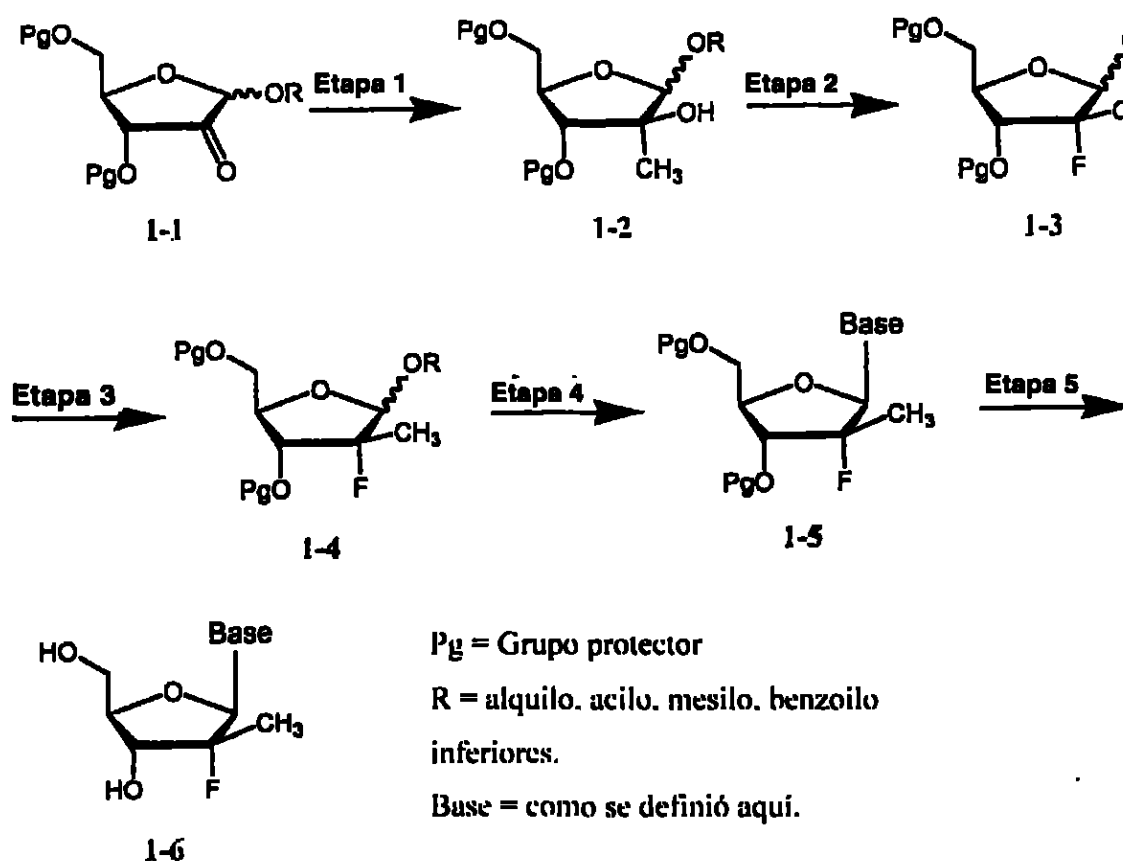
Las siguientes modalidades no limitativas ilustran algunas metodologías generales para obtener nucleósidos de la presente invención. Dos métodos generales representativos para la preparación de compuestos de la presente invención se bosquejan en los esquemas 1 y 2 mientras que ejemplos mas específicos de estos métodos generales se suministran en el esquema 3 (ejemplo 1), esquema 4 (ejemplo 2), esquema 5 (ejemplo 3), y esquema 6 (ejemplo 4). El esquema 1 representa un proceso generalizado que parte de un 2-desoxi-2-metil-2-fluoro-carbohidrato (2R) y forman los nucleósidos de la presente invención al condensarse con un nucleobase. El esquema 2 se inicia desde un nucleósido de pirimidina o purina preformado opcionalmente sustituido en C-4' y

construye. Los nucleósidos fluoro, metilo (R) C-2' de la siguiente invención. Mientras estos esquemas ilustran la síntesis de los compuestos de la presente invención de las fórmulas generales (I) y (II) en donde existe un anillo de furanosa en la configuración β -D-ribo, esta no se pretende que sea una limitación del alcance de los procesos de la invención en ninguna forma, y ellas no deben ser construidas de tal forma. Aquellos expertos en la técnica de la síntesis de nucleótido y nucleósido apreciarán fácilmente que las variaciones conocidas de las condiciones y procesos de los siguientes procedimientos preparativos y las manipulaciones conocidas de la nucleobase pueden ser utilizadas para preparar estos y otros compuestos de la presente invención. Adicionalmente, los L-enantiómeros que corresponden a los compuestos de la invención pueden ser preparados siguiendo los mismos métodos, que comienzan con el bloque de construcción L-carbohidrato correspondiente o L-enantiómero de nucleósido como el material de partida.

1. Glicosilación de la nucleobase con una azúcar modificada apropiadamente.

Esquema 1

1127



La etapa 1 en el esquema 1 introduce el grupo 2-metilo al utilizar un agente de alquilación apropiado tal como metillitio, trimetilaluminio, bromuro metilmagnesio en un solvente anhidro tal como tetrahidrofurano (THF), cloroformo o dietiléter. Los compuestos 1-1 a 1-4 pueden ser α o β puros o ellos pueden existir como una mezcla anomérica que contiene α y β anómeros en cualquier proporción. Sin embargo, la configuración anomérica preferida la estructura 1-1 en β .

La etapa 2 introduce el átomo de flúor en la posición 2 de la furanosida de alquilo. Esta se puede alcanzar mediante

tratamiento del alcohol terciario, 1-2, con un reactivo de fluorinación disponible comercialmente tal como trifluoruro de azufre, (dietalimino) (DAST) o desoxoflúor en un solvente aprótico anhidro tal como tetrahidrofurano, cloroformo, diclorometano, o tolueno. Preferiblemente la estequiometría procede con la inversión de la configuración en C-2. Esto es, partiendo de un hidroxilo C-2 "arriba" (o arabinofuranosida) en la estructura 1-2 el flúor C-2 de "baja" en la ribofuranosida 1-3.

En la etapa 3, los grupos protectores opcionales (Pg) pueden desproteger y reprotger a grupos más adecuados para manipulaciones restantes (T.W. Greene y P.G.M. Wust, "Protective Groups in Organic Synthesis", tercera, ed John Wiley & Sons, 1999). Por ejemplo, éteres de benzilo (Bn) puede ser difícil remover en nucleósido protegido, 1-5 y puede ser desprotegido y reemplazado por un grupo mas fácil de remover del nucleósido de tipo de estructura 1-5. Adicionalmente, la posición anomérica (C-1) también puede ser opcionalmente manipulada para un grupo adecuado para la reacción de acoplamiento con la nucleobase (etapa 4). Varios métodos para manipulaciones anoméricas se establecen para aquellos expertos en la técnica de la síntesis de nucleósido. Algunos ejemplos no limitativos para el tratamiento de furanosida de

alquilo (1-3, R = alquilo) con una mezcla de anhídrido acético, ácido acético, y una cantidad catalítica de ácido sulfúrico (acetólisis) para suministrar una estructura 1-4 en donde R = Ac, con grupos protectores opcionales. También, el grupo alquilo en 1-3 puede ser convertido a un acetato, benzoato, masilato, tosilato, triflato, o tosilato, por ejemplo, al hidrolizar primero el grupo 1-Oalquilo a un grupo 1-hidroxilo al utilizar un ácido mineral que consiste pero no está limitado a ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, y ácido bromhídrico o un ácido orgánico que consiste de pero no está limitado a ácido trifluoroacético, ácido acético, y ácido fórmico (a temperatura ambiente o temperatura elevada). La reducción de azúcar puede entonces ser convertida al carbohidrato deseado mediante tratamiento con cloruro de acetil, anhídrido acético, cloruro de benzoilo anhídrido benzódico, cloruro de metanolsufonilo, anhídrido triflico, cloruro de trifilo o cloruro de tosilo en la presencia de una base adecuada tal como trietilamina, piridina, o dimetilanopiridina.

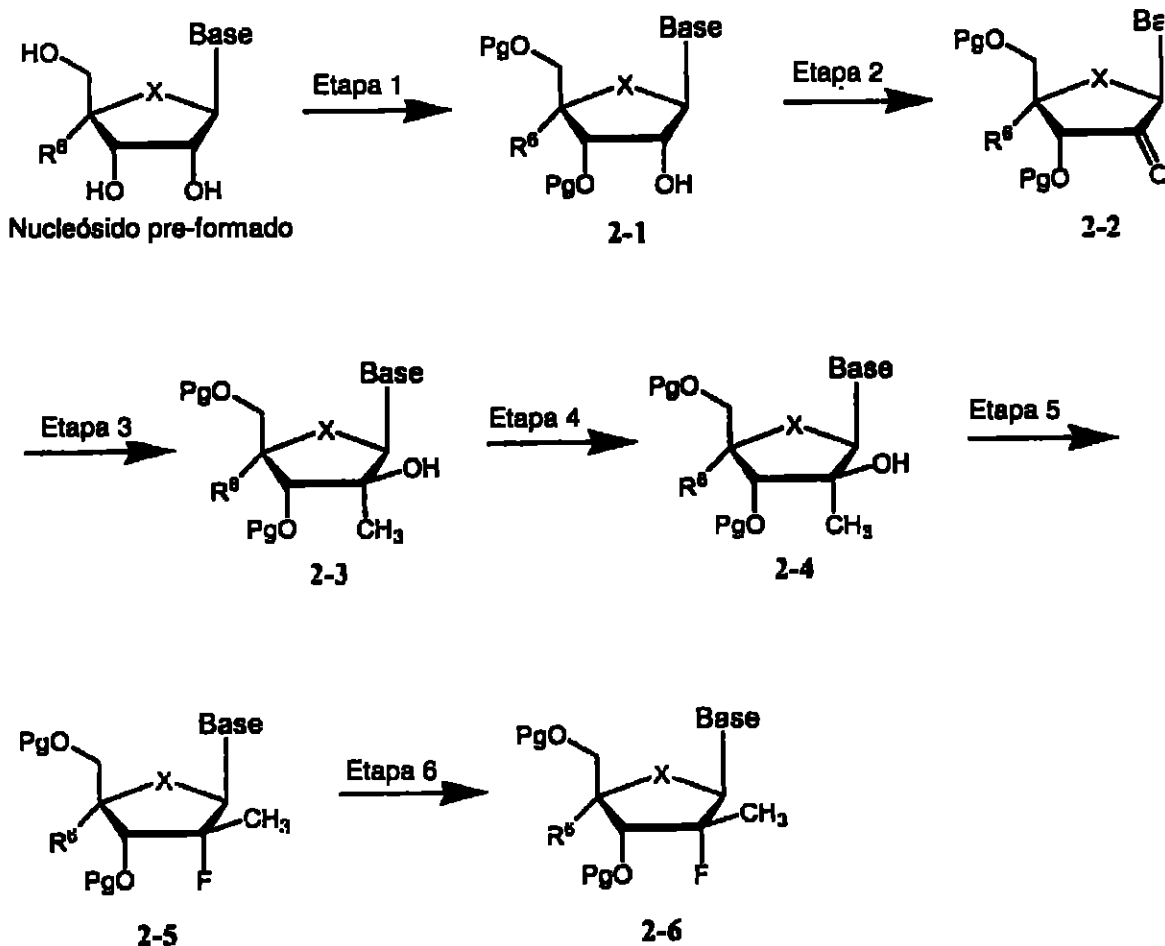
La unión nucleosídica se construye mediante tratamiento de intermedio 1-3 o 1-4 con una nucleobase persililada apropiada en la presencia de un ácido lewis tal como tetracloruro de estaño, tetracloruro de titanio, trimeltisiltriflato, un

reactivo de mercurio (II) (HgO/HgBr_2) usualmente en una temperatura elevada en un solvente aprótico tal como tolueno, acetonitrilo, benceno, o una mezcla de cualquiera o todos de estos solventes.

Los grupos protectores opcionales en los nucleósidos protegidos o de fórmula estructural 1-5 pueden ser clivados siguiendo las metodologías de desprotección establecidas (T.W. Greene y P.G.M. Wust, "Protective Groups in Organic Synthesis", tercera, ed John Wiley & Sons, 1999).

2. Modificación de un nucleósido preformado.

Esquema 2



Pg = Grupo protector

Base = como se define aquí (opcionalmente protegido)

X = como se define aquí

R⁶ = como se define aquí

El material de partida para este proceso es una purina sustituida apropiadamente o nucleósido de pirimidina con un 2'-OH y 2'-H. El nucleósido puede ser comprado o puede ser preparado mediante cualquier medio conocido que incluye las técnicas de acoplamiento estándar. El nucleósido puede ser opcionalmente protegido con grupos protectores adecuados,

preferiblemente con grupos acilo o sililo, mediante métodos bien conocidos por aquellos expertos en la técnica, como se enseña por T.W. Greene y P.G.M. Wust, "Protective Groups in Organic Synthesis", tercera, ed John Wiley & Sons, 1999.

La purina o nucleósido de pirimidina puede ser luego oxidado en la posición 2' con el agente de oxidación apropiado en un solvente compatible en una temperatura para producir en nucleósido 2' modificado. Los posibles agentes oxidantes son una mezcla de dimetilsufóxido, anhídrido trifluoracético o anhídrido acético (una oxidación Swern/Moffat), trióxido de cromo u otro reactivo de cromato, periodidano- Martin, o mediante periodato de tetróxido/sodio de rutenio.

La cetona 2' de nucleósido opcionalmente protegida es luego alquilatada utilizando tales agentes de alquilación de metilicio, trimetilaluminio bromuro de metilmagnesio, o reactivo similares, en un solvente anhidro tal como hidrofurano (THF), cloroformo, o dietiléter usualmente a temperaturas por debajo de 0° C. compuestos de la fórmula estructural de la formula 2-3 se prefieren para tener la configuración 2' (S) o 2'-metil "abajo", 2'-OH "arriba".

1133

El nucleósido de la estructura 2-3 puede ser desprotegido y reprottegido con un numero de grupos protectores tales como un O-acilo (alquilo o arilo), O-sulfonilo, o un N-acilo (alquilo o arilo) para la base. Esta etapa de reprotección opcional no necesita ser limitado a grupos protectores que funciones como grupos protectores químicos. Otros grupos protectores tales como los grupos de acilo de cadena larga de entre 6 y 18 unidades de carbono o aminoácidos pueden ser introducidos independientemente en la nucleobase o azúcar. Los grupos protectores pueden servir como prodrogas de la sustancia activa.

La etapa 5 introduce el átomo de flúor en la posición 2' del nucleósido preformado. Este puede ser alcanzado mediante tratamiento de alcohol terciario, 2-4, con un reactivo de fluorinación comercialmente disponible, tal como (trifloruro de dietilamino) azufre, (DAST) o desoxoflúor en un solvente aprótico anhídrido tal como tetrahidrafurano, cloroformo, diclorometano, o tolueno. Preferiblemente la estequiometría procede con la inversión de la configuración 2'. Esto es, partiendo de un hidroxilo C-2' "arriba" (o arabinonucleósido) en la estructura -4, el flúor C-2' esta "abajo" en el nucleósido intermedio 2-5. La configuración absoluta de un nucleósido de la estructura 2-4 es (2'S) mientras que la

1134

configuración absoluta de un nucleósido de la estructura 2-5 es (2'R).

Posteriormente, los nucleósidos del tipo de estructura 2-5 pueden ser desprotegidos mediante los métodos bien conocidos por aquellos conocidos en la técnica, como lo enseña T.W. Greene y P.G.M. Wust, "Protective Groups in Organic Synthesis", tercera, ed John Wiley & Sons, 1999.

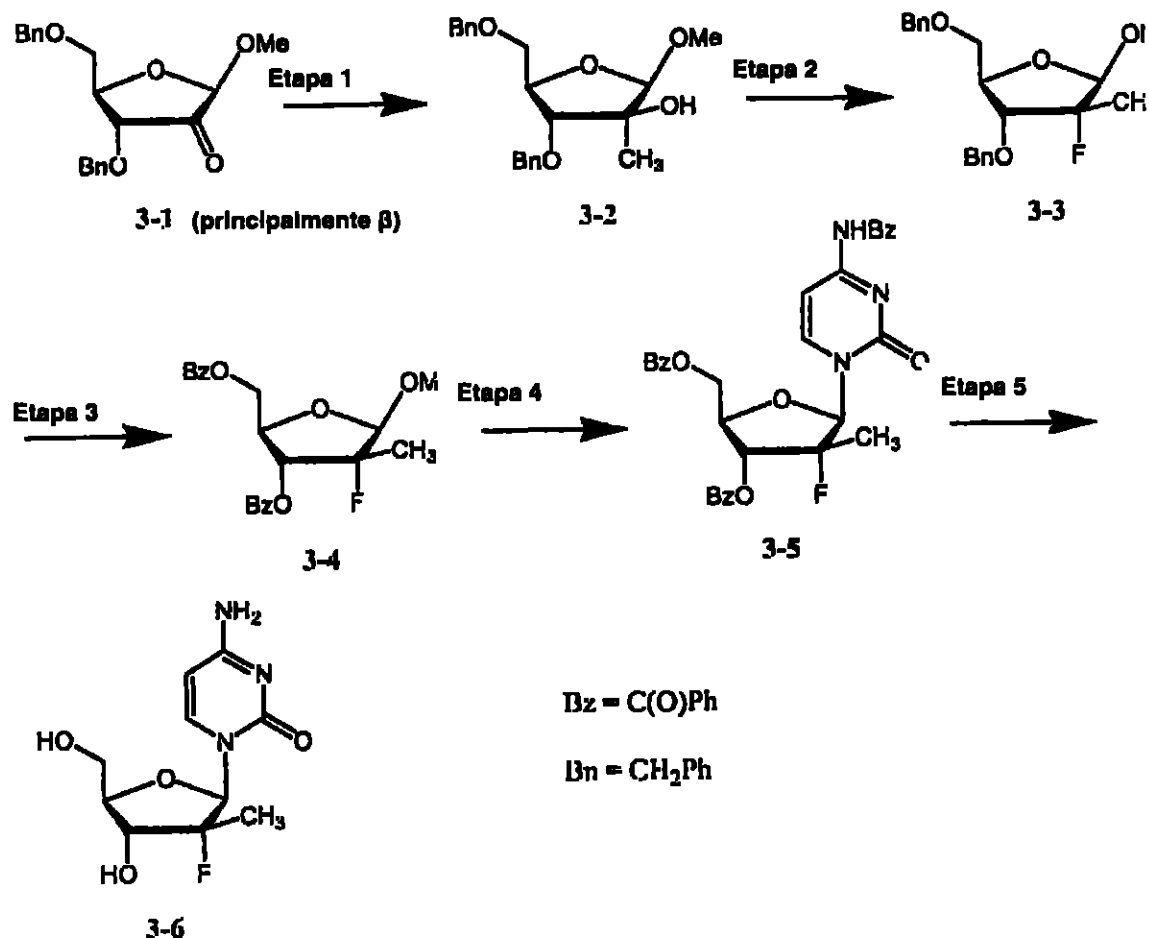
Los siguientes ejemplos de trabajo suministran un mayor entendimiento del método de la presente invención y ejemplifican además los ejemplos generales en los esquemas 1 y 2 anteriores. Estos ejemplos son de propósito ilustrativo y no significa que limiten el alcance de la invención. Condiciones de reacción o reactivos, solventes adecuados o similares, equivalentes pueden ser sustituidos por aquellos solventes particulares, reactivos o condiciones de reacción descritos sin apartarse del alcance general del método.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Síntesis de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina

Partiendo de un Carbohidrato.

Esquema 3

Etapa 1: se disolvió el compuesto 3-1 (7.7 g, 0.022 mmol) en dietil éter anhidro y se enfrió a menos 78° C. A esta solución se agregó MeLi (30 mL, 1.6 M en dietil éter). Después de que se completó la reacción, la mezcla se trató con cloruro de amonio (1 M, 65 mL) y la fase orgánica se separó, se seco (Na₂SO₄), se filtró y se concentró hasta secado. Cromatografía de gel de sílice seguido por

cristalización de hexanos de dietil éter produjeron el compuesto puro 3-2 (6.31 g).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1.40 (s, 3H), 3.41 (s, 3H), 3.49 (dd, 1H, $J = 10.3, 6.89$ Hz), 3.57 (dd, 1H, $J = 10.3, 3.88$ Hz), 3.84 (d, 1H, $J = 7.3$ Hz), 4.03 (m, 1H), 4.48 (s, 1H), 4.58 (m, 3H), 4.83 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz), 7.31-7.36 (m, 10H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): δ 18.4, 55.4, 72.2, 73.4, 79.4, 80.2, 84.7, 107.4, 127.7, 127.8, 127.83, 128.5, 138.2, 138.3.

Etapas 2: se disolvió el compuesto 3-2 en CH_2Cl_2 y se trató con DAST (4.0 mL, 30.3 mmol) a temperatura ambiente. La solución se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se así obtenida se vertió en NaHCO_3 saturado (100 mL) y se lavó con NaHCO_3 (1 x 15 mL). La capa orgánica fue trabajada adicionalmente de la forma usual. La cromatografía de gel de sílice (1: 5 EtOAc-hexanos) dio el compuesto crudo 3-3 (0.671 g) que fue suficientemente puro para la siguiente etapa. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1.43 (d, 3H, $J = 22.8$ Hz), 3.35 (s, 3H), 3.49 (dd, 1H, $J = 10.5, 5.4$ Hz), 3.55 (dd, 1H, $J = 10.5, 4.1$ Hz), 3.87 (dd, 1H, $J = 23.5, 7.5$ Hz), 4.26 (m, 1H), 4.56 (d, 2H, $J = 6.9$ Hz), 4.66 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz), 4.72 (d, 1H, $J = 10.8$ Hz), 7.29-7.36 (m, 10H); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): δ 17.0 (d, $J = 24.4$ Hz), 55.2, 77.1, 73.4, 73.8, 77.3, 80.3, 81.2 (d, $J = 16$ Hz), 99.7 (d, $J = 178.9$ Hz), 106.8 (d, $J = 32.0$ Hz).

1137

Hz), 127.7, 127.8, 128.1, 128.3, 128.5, 128.6, 137.8, 138.3; ^{19}F RMN (100 MHz, CDCl_3): δ -8.2 (m, 1F).

Etapla 3: el compuesto 3-3 (0.39 g, 1.1 mmol) se disolvió en 1:2 EtOH-EtOAc y se trató con Pd/C (~0.1 g) y ciclohexano (~1 mL). La mezcla se calentó hasta reflujo durante la noche y luego se filtró a través de celita. El solvente se removió en vacuo y el residuo se disolvió en piridina (~5 mL). A esta solución se agregó cloruro de benzoilo (0.22 mL, 1.83 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se removió piridina in vacuo y el residuo se particionó entre CH_2Cl_2 y NaHCO_3 saturado (10.0 mL). La fase orgánica se secó (Na_2SO_4), se filtró y la solución se concentró hasta secado. La cromatografía de columna suministró 0.350 g del compuesto puro 3-4. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1.53 (d, 3H, J = 22.4 Hz), 3.39 (s, 3H), 4.46 (dd, 1H, J = 11.6, 4.7 Hz), 4.58 (m, 1H), 4.65 (dd, 1H, J = 11.6, 3.9 Hz), 4.87 (d, 1H, J = 9.9 Hz), 5.64 (dd, 2H, J = 24.1, 7.8 Hz), 7.29-7.36 (m, 10H); ^{19}F RMN (100 MHz, CDCl_3): δ -7.5 (m, 1F).

Etapla 4: una solución de bis(trimetilsilil)-N-benzoilcitosina (0.28 g, 0.77 mmol) y el compuesto 3-4 (0.20 g, 0.5 mmol) en 1,2 dicloroetano (2 mL) y tolueno (2 mL) se trató con TMSOTf (0.15 mL, 0.77 mmol). Después que la mayoría de material de

partida desapareció como se juzgó mediante el TLC, la solución se enfrió a temperatura ambiente, se lavó con agua, (1 x 5 mL), solución salina (1 x 5 mL), se secó (Na_2SO_4), se filtró, y se concentró hasta secado. Cromatografía flash seguida por cristalización de hexanos CH_2Cl_2 produjo el compuesto 3-5 (68 mg). mp 241 °C ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1.49 (d, 3H, J = 22.4 Hz), 4.64 (dd, 1H, J = 12.9, 3.4 Hz), 4.73 (app d, 1H, J = 9.5 Hz), 4.89 (dd, 1H, J = 12.7, 2.2 Hz), 5.56 (dd, 1H, J = 20.7, 8.6 Hz), 6.52 (d, 1H, J = 15.9 Hz), 7.38-7.67 (m, 10H), 7.89 (d, 2H, J = 6.9 Hz), 8.07-8.11 (m, 5H), 8.67 (s, 1H); ^{19}F RMN (100 MHz, CDCl_3) : δ 2.85 (m, 1F).

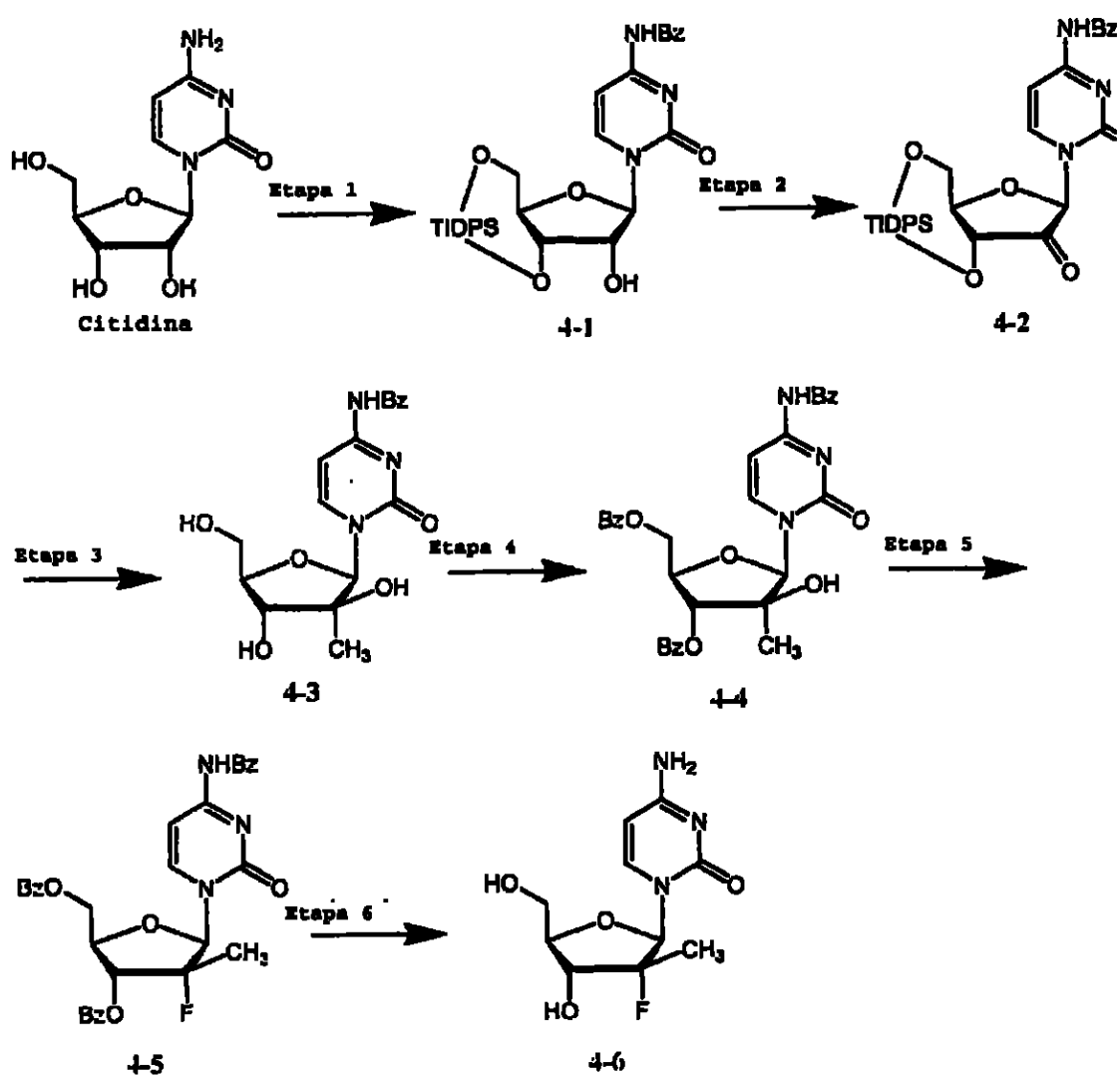
Etapas 5: el compuesto 3-5 (40 mg, 0.05 mmol) se disolvió en amonio metanólico y se agitó a temperatura ambiente durante 48 h la solución se concentró hasta secado y se cromatografió (SiO_2) eluyendo con 1:4 EtOH- CH_2Cl_2 . El rendimiento fue de cerca de 12 mg de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina puro, 3-6. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1.16 (d, 3H, J = 22.0 Hz), 3.61 (dd, 1H, J = 11.6, 5.2 Hz), 3.60-3.83 (m, 3H, J = 10.5, 5.4 Hz), 5.24 (s, 1H, intercambiable con D_2O), 5.59 (s, 1H, intercambiable con D_2O), 5.71 (d, 1H, J = 7.3 Hz), 6.08 (d, 1H, J = 19.0 Hz), 7.24 (d, 1H, J = 17.7 Hz, intercambiable con D_2O), 7.87 (d, 1H); ^{19}F RMN (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 4.13 (m, 1F).

1139

Ejemplo 2

Síntesis de (2'R)-2'-desoxi-2'-Fluoro-2'-C-Metilcitidina

Partiendo de Citidina

Esquema 4

1140

TIDPS= 1,3-(1,1,3,3-Tetraisopropildisiloxanilideno)

Etapas 1: a una suspensión de citidina (100 g, 0.411 mol) en DMF (2.06 L) se agrega anhídrido benzoico (102.4 g, 0.452 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. DMF se removió in vacuo y el residuo se trituro con dietil éter. El sólido resultante se recolecto mediante filtración de succión y se lavó con dietil éter (2 x 200 mL). Secado adicional in vacua a temperatura ambiente dio benzamida N⁴ (140.6 g, 98.3%). Una porción de este material (139.3 g, 0.401 mol) se disolvió en piridina anhidra (1.2 L) y se trató con 1,3-dicloro-1,1,3,3-tetraisopropil-disiloxano (141.4 mL, 0.441 mol) a temperatura ambiente. La solución se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró hasta cerca de secado en vacío y se coevaporó con tolueno (3 x 200 mL). El residuo se trató con EtOAc (1.8 L) y se lavó HCl (2 x 200 mL, 0.05 N), NaHCO₃ (5 %, 2 x 400 mL). La capa orgánica se lavó, se secó (Na₂SO₄), se filtró y evaporó hasta secado. El compuesto 4-1 (256.5 g, >100%) se aisló como una espuma blanca y se utilizó sin purificación adicional.

Etapas 2: el compuesto 4-1 (236.5 g, 0.40 mol) se disolvió en THF (1.22 L). dmsO anhidro (180.8 mL, 2.1 mol) se agregó y la solución resultante se enfrió entre -20 °C y -15 °C. se

agregó anhídrido trifluoroacético (90.6 mL, 0.64 mol) gota a gota durante 45 minutos y la solución se agitó entre -20 °C y -15 °C durante 2 horas después de lo cual se agregó trietilamina anhidra (223.5 mL, 1.6 mol) durante 20 min. La reacción cruda que contiene cetona 4-2 se disolvió en EtOAc (500 mL), y la solución resultante se lavó con H₂O (3 x 400 mL), secado (Na₂SO₄) y los solventes se removieron en vacío para dar un sólido amarillo que se purificó sobre columna de gel de sílice que eluye con un gradiente por etapas de Et₂O (0-60%) en hexanos seguido por un gradiente por etapas de EtOAc (50-100%) en hexanos. La cetona cruda así obtenida (~192 g) se cristalizó a partir de éter de petróleo para dar cetona 4-2 (138.91 g, 57.5% de citidina) como un sólido blanco y 22 g del material de partida que no ha reaccionado, 4-1, como un sólido amarillo.

Etapas 3: se disolvió el compuesto 4-2 (48.57 g, 8.26 mmol) en tolueno anhidro (~400 mL) y el solvente se removió in vacuo con exclusión de humedad. El residuo fue luego secado adicionalmente in vacuo (bomba de aceite) durante otras 2 h. Con exclusión estricta de humedad, la espuma residual se disolvió en dietil éter anhidro (1.03 L) bajo argón. La solución resultante se enfrió a -78 °C bajo y MeLi (1.6 M, 258.0 mL, 0.413 mol) se agregó gota a gota por vía de túnel

adicional. Después que se completó la adición, la mezcla se agitó durante 2 h a -78°C . Se agregó lentamente 1 M NH_4Cl acuoso (500 mL). Después de calentarse temperatura ambiente, la mezcla se lavó con H_2O (2 x 500 mL), se secó (Na_2SO_4), y se concentró hasta secado para dar una espuma marrón (~60 g, >100%). La reacción se desarrolló dos veces más utilizando 37.62 g y 56.4 g del compuesto 4-2. Los productos crudos combinados (128.0 g, 0.212 mol) se disolvieron en THF (1.28 L) y se trató con HOAc condicionado (23 mL, 0.402 mol). A la solución se agregó TBAF (384.0 mL, 1 M en THF). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 0.75 h y la mezcla se trató con gel de sílice (750 g) y se concentró hasta secado. El polvo se colocó sobre un paquete de columna de gel de sílice en CH_2Cl_2 . la elusión con 1:7 EtOH- CH_2Cl_2 produjo un sólido ceroso oscuro que fue preadsorbido sobre gel de sílice (300 g) y se cromatografió como se hizo anteriormente. El compuesto 4-3 (46.4 g, 53.0 % de 4-2) se aisló como un sólido blanco. ^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$): δ 1.20 (s, 3H, CH_3), 3.62-3.69 (m, 2H,), 3.73-3.78 (m, 2H,), 5.19 (t, 1H, $J = 5.4$ Hz, OH-5'), 5.25 (s, 1H, OH-2'), 5.52 (d, 1H, $J = 5.0$ Hz, OH-3'), 5.99 (s, 1H, H-1'), 7.32 (d, 1H, $J = 5.8$ Hz), 7.50 (ψ t, 2H, $J = 7.7$ Hz), 7.62 (ψ t, 1H, $J = 7.3$ Hz), 8.00 (d, 2H, $J = 7.3$ Hz), 8.14 (d, 1H, $J = 6.9$ Hz), 11.22 (s, 1H, NH). Análisi calculado para

$C_{17}H_{19}N_3O_6 \cdot 0.5 H_2O$: C, 55.13; H, 5.44; N, 11.35. Encontrado: C, 55.21; H, 5.47; N, 11.33.

Etapas 4: se disolvió el compuesto 4-3 (46.0 g, 0.13 mol) en piridina anhidra y se concentró hasta secado in vacuo. El jarabe resultante se disolvió en piridina anhidra bajo argón y se enfrió a 0 °C con agitación. La solución marrón se trató con cloruro de benzoil (30 mL, 0.250 mol) gota a gota durante 10 min. El baño de hielo se removió y se agitó continuamente durante 1.5 h por lo cual TLC no mostró material de partida restante. La mezcla se apagó mediante la adición de agua (5 mL) y se concentró hasta secado. El residuo se disolvió en una cantidad mínima de CH_2Cl_2 y se lavó con $NaHCO_3$ saturado (1 x 500 mL) y H_2O (1 x 500 mL). La fase orgánica se secó (Na_2SO_4) y se filtró, se concentró hasta secado y se cromatografió sobre gel de sílice que eluyó con un gradiente por etapas de EtOAc-hexanos (25-60%) para suministrar el compuesto 4-4 como una espuma amarilla (48.5 g, 67%). 1H RMN ($CDCl_3$): δ 1.64 (s, 3H, CH_3), 4.50 (m, 1H, H-4), 4.78-4.85 (m, 2H, H-5', 5a'), 5.50 (d, 1H, $J = 3.4$ Hz, H-3'), 6.42 (s, 1H, H-1'), 7.44-7.54 (m, 7H, Ar), 7.57-7.66 (m, 3H, Ar), 7.94 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz), 8.05-8.09 (m, 4H, Ar), 8.21 (d, 1H, $J = 7.3$ Hz). Análisis calculado para $C_{31}H_{27}N_3O_8$: C, 65.37; H, 4.76; N, 7.38. Encontrado: C, 65.59; H, 4.79; N, 7.16.

Etapla 5: el compuesto 4-4 (7.50 g, 0.013 mol) se disolvió en tolueno anhidro (150 mL) bajo argón y se enfrió a -20 °C. se agregó lentamente DAST (2.5 mL, 18.9 mmol) y se removió el baño de enfriamiento después de que se completó la adición. Se continuó la agitación durante 1 h y la mezcla se vertió dentro de NaHCO₃ saturado (100 mL) y se lavó hasta que cesó la evolución del gas. La fase orgánica se secó (Na₂SO₄), se concentro, y se purificó por cromatografía de gel sílice que eluye con 1:1 EtOAc-hexanos. El producto fue 1.22 g (16.3%) de 4-5 puro como un sólido blanco. Pf 241 °C (CH₂Cl₂-hexanos); ¹H RMN (CDCl₃): δ 1.49 (d, 3H, J = 22.4 Hz, CH₃), 4.64 (dd, 1H, J= 3.44, 12.9 Hz, H-5'), 4.73 (d, 1H, J= 9.5 Hz, H-4'), 4.90 (dd, 1H, J= 2.4, 12.7 Hz, H-5a'), 5.56 (dd, 1H, J= 8.6, 20.7 Hz, H-3'), 6.52 (d, 1H, J= 18.0 Hz, H-1'), 7.47-7.57 (m, 7H, Ar), 7.62-7.71 (m, 3H, Ar), 7.89 (d, 2H, J= 6.9 Hz), 8.07-8.11 (m, 5H, Ar), 8.67 (bs, 1H, NH). ¹⁹F RMN (CDCl₃): δ 3.3 (m). Análisis calculado para C₃₁H₂₆FN₃O₇ 0.7 H₂O: C, 63.74; H, 4.72; N, 7.20. Encontrado: C, 63.71; H, 4.54; N, 7.20.

Etapla 6: se suspendió el compuesto 4-5 (6.30 g, 0.011 mol) en amoniaco metanólico (ca 7 N, 150 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se removió in vacuo, se co-evaporó con metanol (1 x 20 mL), y preabsorbió sobre

gel de sílice. El polvo blanco se colocó sobre una columna de gel de sílice (empacado CHCl_3) y la columna se eluyó con 9% de EtOH en CHCl_3 , luego 17% EtOH y finalmente 25% EtOH en CHCl_3 . la concentración de las fracciones que contienen el producto, filtración a través de un disco de $0.4\mu\text{m}$, y liofilización a partir de agua producida del compuesto 4-6, 2.18 g (76%). ^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$): δ 1.17 (d, 3H, $J = 22.3$ Hz, CH_3), 3.63 (dd, 1H, $J = 2.7, 13.7$ Hz, H-5'), 3.70-3.84 (m, 3H, H-3', H-4', H-5a'), 5.24 (app s, 1H, OH-3'), 5.60 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz, H-5'), 5.74 (d, 1H, $J = 7.71$ Hz, H-5), 6.07 (d, 1H, $J = 18.9$ Hz, H-1'), 7.31 (s, 1H, NH_2), 7.42 (s, 1H, NH_2), 7.90 (d, 1H, $J = 7.3$ Hz, H-6). ^{19}F RMN ($\text{DMSO}-d_6$): δ 2.60 (m). Análisis calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{FN}_3\text{O}_4 \cdot 1.4 \text{ H}_2\text{O}$: C, 44.22; H, 5.95; N, 14.77. Encontrado: C, 42.24; H, 5.63; N, 14.54. El compuesto 4-6 (0.10 g, 0.386 mmol) se convirtió a la sal de clorhidrato al disolver en agua (2 mL) y ajustar el pH a aproximadamente 3.0 con 1 M HCl. El agua se removió in vacuo y el residuo se cristalizó a partir de EtOH acuoso para dar 4-6 como una sal de clorhidrato (71.0 mg). Pf 243°C (dec); ^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$): δ 1.29 (d, 3H, $J = 22.6$ Hz, CH_3), 3.65 (dd, 1H, $J = 2.3, 12.7$ Hz, H-5'), 3.76-3.90 (m, 3H, H-3', H-4', H-5a'), 5.96 (d, 1H, $J = 17.3$ Hz, H-1'), 6.15 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, H-5), 8.33 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, H-6), 8.69 (s, 1.5H, NH), 9.78 (s, 1.5H, NH). ^{19}F RMN ($\text{DMSO}-d_6$): δ 1.69 (m). Análisis

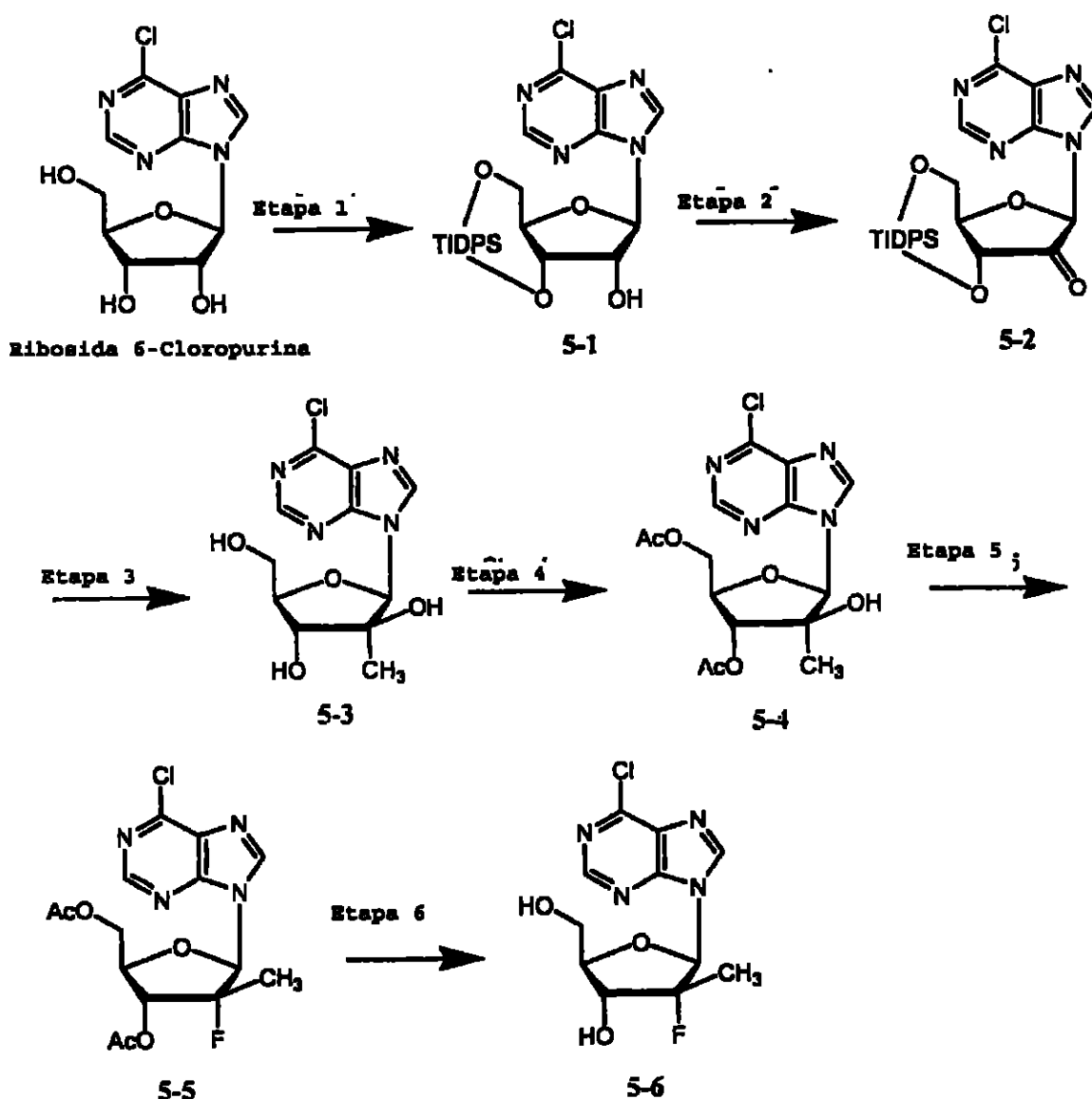
calculado para $C_{10}H_{14}FN_3O_4 \cdot HCl$: C, 40.62; H, 5.11; N, 14.21.

Encontrado: C, 40.80; H, 5.09; N, 14.23.

Ejemplo 3

Síntesis de (2'R)-6-Cloro-2'-desoxi-2'-Fluoro-2'-C-Metilpurina Partiendo de Ribosida de 6-Cloropurina.

Esquema 5



TIDPS= 1,3-(1,1,3,3-Tetraisopropildisiloxanilideno)

Etapa 1: El nucleósido, ribosida de 6-cloropurina (3.18 g, 11.09 mmol) se disolvió en piridina anhidro (300ml) y se trató gota a gota con 1,1,3,3-tetraisopropil-disiloxano (4.08 ml, 12.75 mmol) a 0° C bajo una atmósfera de argón. La solución se llevó a temperatura ambiente y se agitó durante

la noche. La mezcla se concentró cerca de secado in vacuo se disolvió en una cantidad mínima de cloroformo, y se lavó con HCL (100 ml, 0.05 N) y NaHCO_3 (5%, 100 ml). La capa orgánica se secó (Na_2SO_4), se filtró, y se evaporó hasta secado para producir el compuesto 5-1 como un vidrio ámbar (6.10 g, >100%) que se utilizó sin purificaron adicional. ^1H RMN (CDCl_3): δ 1.01-1.13 (m, 24H), 4.03-4.18 (m, 3H), 4.58 (d, 1H, $J = 5.2$ Hz), 5.01 (m, 1H), 6.07 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.71 (s, 1H).

Etapas 2: Se disolvió el compuesto 5-1 (7.13 g, 13.47 mmol) en THF (35 mL). DMSO Anhidro se agregó (5.11 mL, 72.06 mmol) y la solución resultante se enfrió entre -20°C y -15°C . Se agregó anhídrido trifluoroacético (3.06 mL, 21.69 mmol) gota a gota durante 45 minutos y la solución se agregó entre -20°C y -15°C durante 2 hrs después que se agregó trietilamina anhidro (8.08 mL, 57.92 mmol) durante 20 min. La reacción cruda que contiene cetona 5-2 se disolvió en Et₂O (25 mL), y la solución resultante se lavó con H₂O (2 x 50 mL), se secó (Na_2SO_4) y los solventes se removieron in vacuo para dar un sólido amarillo que fue purificado sobre una columna de gel de sílice que eluye con un gradiente por pasos de 0-50% de éter de dietilo-éter de petróleo produjo el compuesto 5-2 como una mezcla con el diol germinal correspondiente. El

vidrio se disolvió en CH_2Cl_2 y se agitó sobre un exceso de MgSO_4 durante 36 h. la mezcla, libre del diol geminal se filtró, y evaporó hasta secado para producir el compuesto 5-2 como un vidrio ámbar (7.0 g, 97%). ^1H RMN (CDCl_3) : δ 1.01-1.13 (m, 24H), 4.09-4.22 (m, 3H), 5.55 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz), 5.80 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.61 (s, 1H).

Etapas 3: una solución de compuesto 5-2 (7.0 g, 13.26 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (45 mL) se enfrió a -78°C con agitación bajo una atmósfera de argón. A la solución se agregó bromuro de metilmagnesio (15.85 mL, 3.0 M en éter de etilo) gota a gota durante un periodo de 30 min. Después de agitar durante 3 h adicional a -78°C , la reacción se apago mediante adición cuidadosa de NH_4Cl 1 M acuoso (50.0 mL). Después de calentar a temperatura ambiente, la mezcla se lavó con H_2O (2 x 500 mL), se secó (Na_2SO_4), y se concentró hasta secado para dar un espuma marrón (3.8 g) que se disolvió en tetrahidrofurano (50 mL) y se trató con una solución de TBAF (18.9 mL, 1 M solución en THF) y ácido acético glacial (0.85 mL) a temperatura ambiente. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 2h, y se concentró hasta secado, y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice para dar el compuesto 5-3 (2.0 g, 50%).

Etapa 4: se disolvió el compuesto 5-3 (0.491 g, 1.63 mmol) en piridina (3 mL) y se trató con anhídrido acético (0.38 mL, 4.08 mL) a temperatura ambiente. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 h después de tal tiempo, la solución se concentró hasta secado y se trató con dietil éter (10 mL) y agua (5 mL). La capa orgánica se lavó adicionalmente con agua (2 x 10 mL), se secó (Na_2SO_4), se filtró, y evaporó hasta secado para dar un compuesto 5-4 como una espuma (0.450 g, 91.0%). ^1H RMN (CDCl_3): δ 1.39 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 4.27 (m, 1H), 4.49 (dd, 1H, $J=4.2, 11.9$ Hz), 4.57 (dd, 1H, $J=6.16, 11.9$ Hz), 5.14 (d, 1H, $J=3.1$ Hz), 6.25 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.75 (s, 1H).

Etapa 5: Se disolvió el compuesto 5-4 (0.100 g, 0.259 mmol) en tolueno anhidro (3.0 mL) bajo argón y se enfrió a -20°C . Se agregó DAST (0.2 mL, 1.55 mmol) lentamente y el baño de enfriamiento se removió después que se completo la adición. La agitación se continuó durante 1 h y la mezcla se vertió en NaHCO_3 saturado (100 mL) y se lavó hasta que cesó la evolución del gas. La fase orgánica se secó (Na_2SO_4), se concentró y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice que elua con 30% de éter de petróleo Et20 que dio 5-5 puro (0.028 g, 27.9%). ^1H RMN (CDCl_3): δ 1.24 (d, 3H, $J=22.8$ Hz), 2.20 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 4.41-4.55 (m, 3H),

1151

4.47 (dd, 1H, J= 9.2, 22.0 Hz), 6.37 (d, 1H, J= 17. 6 Hz),
8.45 (s, 1H), 8.82 (s, 1H).

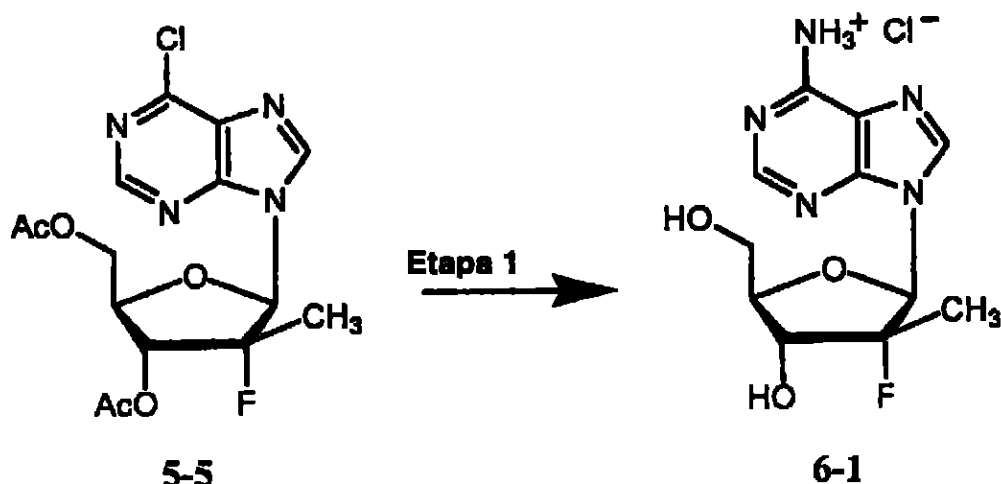
Etapas 6: Se disolvió el compuesto 5-5 (0.018 g, 0.047 mmol) en metanol (5 mL) y se trató con una solución de metóxido de sodio (3.6 mg, 0.67 mmol) en metanol (5 mL). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, se neutralizó con ácido acético concentrado y se cromatografió sobre gel de sílice que elua con un gradiente por pasos de Et2O/metanol (0-5%) para producir el compuesto 5-6 (0.010 g, 70. 9%). ¹H RMN (CDCl₃): δ 1. 23 (d, 3H, J = 22.4 Hz), 4.04 (dd, 1H, J= 2.11, 12.5 Hz), 4.17 (dd, 1H, J= 1.5, 9.2 Hz,), 4.25 (dd, 1H, J= 1. 9, 12. 3 Hz), 4.61 (dd, 1H, J= 9.2, 22.3 Hz), 6.37 (d, 1H, J= 17. 3 Hz), 8. 70 (s, 1H), 8.78 (s, 1H).

Ejemplo 4

*Síntesis de (2'R)-2'-Desoxi-2'-Fluoro-2'-C-Metiladenosina
partiendo de (2'R)-6-Cloro-2'-Desoxi-2'-Fluoro-2'-C-
Metilpurina*

Esquema 6

1152



Etapa 1: se calentó el Compuesto 5-5 (0.100 g, 0.26 mmol) en un tubo de presión con amoníaco metanólico (ca. 7 N, 25 mL) a 80°C durante 12 h. La reacción cruda fue pre-adsorbida sobre gel de sílice y purificada mediante cromatografía de columna que elúa con un gradiente por etapas de Et₂O-MeOH (0-5%). El producto impuro se convirtió a la sal de clorhidrato al disolver el compuesto en una cantidad mínima de etanol y tratar la solución con 0.5 mL de una solución de 0.6 M HCl. La concentración cerca de secado dio compuesto 6-1 como cristales blancos (0.020g, 24. 2%). ¹H RMN (CD₃OD) : δ 1. 19 (d, 3H, J = 22.3 Hz), 3.88 (dd, 1H, J= 2.7, 12.7 Hz), 4.06 (dd, 1H, J= 2.1, 12.5 Hz,), 4.11 (app d, 1H, J= 9.2 Hz), 4.35 (dd, 1H, J= 9.4, 24.5 Hz), 6. 35 (d, 1H, J= 16.5 Hz), 8.43 (s, 1H), 8. 85 (s, 1H).

Ejemplo 5

Actividad Antiviral de (2'R)-2'-Desoxi-2'-Fluoro-2'-C-Metilecitidina

Ensayo de Replicón HCV

La actividad del anti-flavivirus de los compuestos se determinó como se describe por Stuyver, et al. ("Análogo de ribonucleósido que bloquea la replicación de virus de hepatitis c y de diarrea viral bobina en cultivos", agentes antimicrobiales y de quimioterapia 47: 244-254 (2003)). El compuesto se disolvió en DMSO y se agregó al medio de cultivo en concentraciones finales que varían de 3 a 100 μM . Una incubación de 4 días resultó en reducción de dosis dependiente de RNA HCV replicón (Figura 1A). Una reducción de 1-log de RNA de replicón (o valor EC_{90}) se alcanzo en aproximadamente 2.5 μM . La medición de la reducción del rRNA dio una indicación del afecto inhibitorio sobre las polimerasas celulares. La sustracción de este valor de toxicidad celular de los valores antivirales resultó en la línea de índice terapéutico y valor EC_{90} . Basado en estos cálculos, un valor es EC_{90} promedio, corregido para toxicidad celular, de aproximadamente 2.5 μM se obtuvo. La figura 1A muestra la reducción dependiente de dosis del RNA HCV replicón basado en el tratamiento con (2'R)-2'-desoxi-2'-

fluoro-2'-C-metilcitidina. La reducción viral de comparo con la reacción de los niveles RNA celular (RNA ribosomal) para obtener valores de índice terapéutico. El EC₉₀ representa la concentración efectiva 90% a 96 horas luego de la administración dependiente de dosis de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina. La Figura 1B muestra la reducción prolongada en el RNA HCV replicón hasta 7 días luego del tratamiento con 5 y 25, μ M.

La actividad de (2R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina en el sistema replicón se resume en la tabla 1. Los valores EC₉₀ para (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina así como también 2'-C-metilcitidina y 2'-C-metiladenosina se muestran para 3 clones replicón separados (HCV-WT (tipo silvestre), 9-13 y 21-5) así como también otros dos clones (S282T y rRNA). Los valores EC₉₀ para (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina estaban en el rango de 1.6 a 4.6, μ M para los clones replicón. Encontraste los valores EC₉₀ para 2'-C-metilcitidina estaban en el rango de 6.6-37. 4 μ M. De forma interesante, los valores EC₉₀ para 2'-C-metiladenosina fueron comparables con aquellos de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina. La actividad de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina y 2'-C-metilcitidina y otros replicones ensayados se muestra en la tabla 2.

Ensayo de Polimerasa

La tabla 3 muestra la potencia de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina-5'-trifosfato (TP) en el ensayo de polimerasa NS5B. La concertación inhibitoria 50% se determinó para estar en el rango de 1.7 a 7.7, μM .

Toxicidad

Un resumen de los datos de toxicidad para (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina que utiliza el ensayo de toxicidad mitocondrial se muestra en las tablas 6 y 7. La tabla 7 muestra la falta de efectos de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina y 2'-C-metilcitidina en la síntesis de ADN mitocondrial y la falta de efectos sobre el incremento de ácido láctico en este ensayo. Los resultados muestran la falta relativa de toxicidad de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina. La tabla 6 muestra un análisis de citotoxicidad en varias líneas de células (Clon A, Huh7, HepG2, MDBK, PBM, CEM, Vero, MRC-5). 50% de concentración de citotoxicidad (CC50) fue mayor que 75-100 μM en todos los clones ensayados para (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-

1156

metilcitidina así como también 2'-C-metilcitidina. En contraste es la toxicidad relativa de 2'-C-metiladenosina.

Los efectos de los análogos de nucleósido ensayados sobre células de medula de hueso humana se describen en la tabal 9. Como se muestra los valores IC_{50} para 2'-metil-2'-fluorocitidino fueron significativamente mayores (98.2, BFU-E) y 93.9 (CFU-GM) según se comparo con 2'-metilcitadina o AZT. Los resultados muestran que 2'-metil-2'-fluorocitidina era significativamente menos toxico que el comparado con los otros compuestos de nucleósido.

Estudios en Animales

La figura 2 describe el cambio de peso promedio (%) de ratones suizos hembra in vivo del análisis de toxicidad de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina en varias dosis. Se dan inyecciones intraperitoneales en los días 0 a días 5 de los 0,3. 3,10, 33, 100 mg/kg. Cada grupo de dosificación contenía 5 ratones y ningún ratón murió durante los 30 días de estudio. No se observo toxicidad importante en los ratones.

La figura 3 y la tabla 6 resumen los parámetros farmacocinéticos de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina en monos Rhesus dada una dosis sencilla (33.3 mg/kg) oral (tabla 6, Figure 3) o dosis intravenosa (Figure 3) de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina.

Otra actividad antiviral

El resumen del rango de la actividad antiviral de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina se muestra en la Tabla 4. La tabla muestra que además que (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina de virus HCV muestra actividad contra Rinovirus, virus del Nilo Occidental, virus de Fiebre Amarilla, y virus del Dengue.

La Tabla 5 muestra la falta de actividad de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina en modelos sustitutos de HCV BVDV así como también otros virus que incluyen HIV, HBV y virus Corona. En contraste, 2'-C-metilcitidina y 2'-C-metiladenosina muestran mayor actividad en el modelo sustituto de HCV, BVDV. Estos resultados muestran la necesidad de seleccionar esta serie de compuestos contra el sistema replicón HCV versus los sistemas HCV sustitutos.

1158

Tabla 1: Resumen de la Actividad Replicación Anti-HCV de (2'R)-
2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina*

Replicón	(2'R)-2'- desoxi-2'-C- metilcitidina	2'-C- metilcitidina	2'-C- metiladenosina
HCV-WT 1b	4.6 ± 2.0	21.9 ± 4.3	2.1 ± 0.27
S282T mut. 1b	30.7 ± 11.7	37.4 ± 12.1	>100
9-13 (subgenómico)	4.6 ± 2.3	13.0	0.7
21-5 (longitud completa)	1.6 ± 0.7	6.6	0.6

*Valores que representan EC₅₀ (µM)

Tabla 2: Actividad de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-
metilcitidina y 2'-C-metilcitidina en otros Replicones

Replicón	(2'R)-2'-desoxi-2'- fluoro-2'-C-metilcitidina			2'-C-metilcitidina		
	EC ₅₀ (µM)	IC ₅₀ (µM)		EC ₅₀ (µM)	IC ₅₀ (µM)	
		GAPDH	MTT		GAPDH	MTT
1b (Ntat)	3.8	>100	>100	27.2	>100	>100
1b (Btat)	11.5	>100	>100	31.1	>100	>100
1a	34.7	>100	>100	35.0	>100	>100

1159

(pp1aSI-7)						
------------	--	--	--	--	--	--

Tabla 3: Ensayo de Polimerasa HCV 1b NS5B (IC₅₀, μM)

	(2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina	2'-C-metilcitidina TP	2'-C-metiladenosina TP
NS5B Tipo Silvestre	1.7 ± 0.4 ^a	6.0 ± 0.5	20.6 ± 5.2
	7.7 ± 1.2 ^b		
S282T	2.0 ^a	26.9 ± 5.5	>100
	8.3 ± 2.4 ^c		

^aValores determinados utilizando lote 1; ^bValor determinado utilizando lote 2 y 3; y ^cValor determinado utilizando lote 2.

Tabla 4: Resumen de Actividad Antiviral de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina

Virus	Célula	EC ₅₀ , CPE (μM)	EC ₅₀ , NR ^a (μM)	CC ₅₀ , CPE (μM)	CC ₅₀ , NR ^a (μM)
Nilo Occidental	Vero	32	12	>100	32

1160

Dengue Tipo 2	Vero	32/55	>100/>100	>100	>100
Fiebre Amarilla	Vero	19/3.2	32/12	>100	>100
Influenza A (H1N1)	MDCK	>100	>100	>100	>100
Influenza A (H3N2)	MDCK	>100	>100	>100	>100
Influenza B	MDCK	>100	>100	>100	>100
Rinovirus Tipo 2	KB	25	20	>100	>100
VEE	Vero	>100	>100	>100	>100
SARSCoV	Vero	>100	>100	>100	>100

^aNR = Red. Neutro

Tabla 5: Resumen de Actividad Antiviral de (2'R)-2'-desoxi-
2'-fluoro-2'-C-metilcitidina

Virus	(2'R)-2'- desoxi-2'- fluoro-2'-C- metilcitidina (EC ₉₀ , μM)	2'-C- metilcitidina (EC ₉₀ , μM)	2'-C- metiladenosina (EC ₉₀ , μM)
BVDVncp	>22	0.5	1.2
BVDVcp	>100	2	1.5
RSV	>100	>100	>100
HIV ^a	>100	ND	ND

HBV	>10	>10	ND
Coronavirus 229E	>100	ND	ND

ND = No determinado

Tabla 6: Estudios de Citotoxicidad^a

Línea de célula	(2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina CC ₅₀ , μM	2'-C-metilcitidina CC ₅₀ , μM	2'-C-metiladenosina CC ₅₀ , μM
ClonA	>100	>100	37
Huh7	>100	>100	30
HepG2	75	>100	58
MDBK	>100	>100	
PBM	>100		
CEM	>100		
Vero	>100		
MRC-5	>100		

^aResultados determinados utilizando el ensayo MTS.

Tabla 7: Estudio de Toxicidad Mitocondrial

Compuesto	Síntesis mtADN (IC ₅₀ , μM)	Incremento de Ácido Láctico
-----------	---	--------------------------------

1162

(2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina	>25	Sin efecto≥33μM
2'-C-metilcitidina	>25	Sin efecto≥33μM

Tabla 8: Parámetros PK Preliminares en Monos Rhesus que Siguen una Dosis Oral Sencilla de (2'R)-2'-desoxi-2'-fluoro-2'-C-metilcitidina a 33.3 mg/kg

Parámetro	Unidades	Media ± SD
C _{max}	μM	9.6 ± 2.7
T _{max}	Horas	2 ± 1
AUC _{0-último}	μMxh	44.2 ± 22.2
T _{1/2}	Horas	3.9 ± 0.1
Biodisponibilidad	F%	21 ± 11

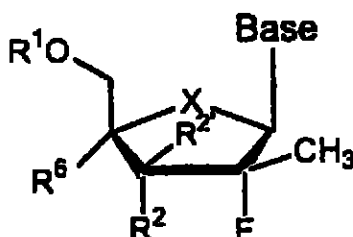
Tabla 9: Efecto de Análogos de Nucleósido en Células de Médula Ósea Humanas

Compuesto (β-D-análogo)	BFU-E	CFU-GM
	IC ₅₀ (μM)	
2'-fluoro-2'-C-metilcitidina	98.2	93.9
2'-C-metilcitidina	20.1	13.2

AZT	0.08	0.95
-----	------	------

REIVINDICACIONES

1. Un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) de la fórmula:



en donde Base es una base de purina o pirimidina;

X es O, S, CH₂, Se, NH, N-alquilo, CHW (R, S, o racémico), C(W)₂, en donde W es F, Cl, Br, o I;

R¹ y R⁷ son independientemente H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D (o mezcla racémica), un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro

grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra *in vivo* es capaz de suministrar un compuesto en donde R^1 es H o fosfato; R^2 es H o fosfato; R^1 y R^2 o R^7 también se pueden ligar con el grupo fosfato cíclico;

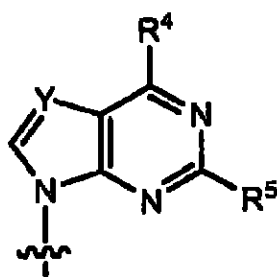
R^2 y R^2' son independientemente H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{1-4} , alquinilo C_{1-4} , vinilo, N_3 , CN, Cl, Br, F, I, NO_2 , $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O(\text{acilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $S(\text{acilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{acilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, NH_2 , $NH(\text{alquilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $NH(\text{acilo } C_{1-4})$, $N(\text{alquilo } C_{1-4})_2$, $N(\text{acilo } C_{1-18})_2$, en donde alquilo, alquinilo, alquenilo y vinilo son opcionalmente sustituidos por N_3 , CN, uno a tres halógenos (Cl, Br, F, I), NO_2 , $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O(\text{acilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $S(\text{acilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquenilo } C_{1-4})$,

$\text{O}_3\text{S}(\text{acilo } \text{C}_{1-4})$, $\text{O}_3\text{S}(\text{alquilo } \text{C}_{1-4})$, $\text{O}_3\text{S}(\text{alquenilo } \text{C}_{1-4})$, NH_2 , $\text{NH}(\text{alquilo } \text{C}_{1-4})$, $\text{NH}(\text{alquenilo } \text{C}_{1-4})$, $\text{NH}(\text{alquinilo } \text{C}_{1-4})$, $\text{NH}(\text{acilo } \text{C}_{1-4})$, $\text{N}(\text{alquilo } \text{C}_{1-4})_2$, $\text{N}(\text{acilo } \text{C}_{1-4})_3$, OR^7 ; R^2 y $\text{R}^{2'}$ pueden ser ligados juntos para formar un vinilo opcionalmente sustituido por uno o dos de N_3 , CN , Cl , Br , F , I , NO_2 ; y

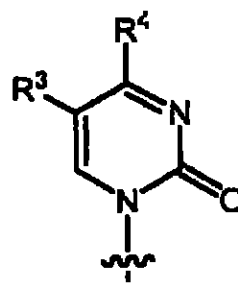
R^6 es un alquilo opcionalmente sustituido (que incluye alquilo inferior), ciano (CN), CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , hidroximetilo (CH_2OH), fluorometilo (CH_2F), azido (N_3), CHCN , CH_2N_3 , CH_2NH_2 , CH_2NHCH_3 , $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, alquino (opcionalmente sustituido), o fluoro;

o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste.

2. El nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o P-L) de la reivindicación 1 o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste, en donde Base se selecciona del grupo que consiste de:



(a)



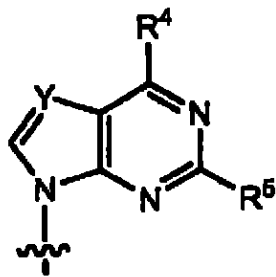
(b)

en donde Y es N o CH.

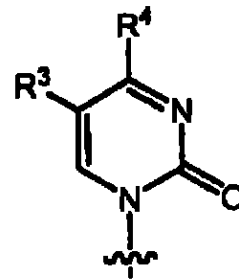
R^3 , R^4 y R^5 son independientemente H, halógeno que incluye F, Cl, Br, I, OH, OR', SH, SR', NH_2 , NHR', NR'_2 , alquilo inferior de C_1-C_6 , alquilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C_1-C_6 tal como CF_3 y CH_2CH_2F , alqueno inferior de C_2-C_6 tal como $CH=CH_2$, alqueno inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C_2-C_6 tal como $CH=CHCl$, $CH=CHBr$ y $CH=CHI$, alquino inferior de C_2-C_6 tal como $C\equiv CH$, alquino inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C_2-C_6 , alcoxi inferior de C_1-C_6 tal como CH_2OH y CH_2CH_2OH , alcoxi inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C_1-C_6 , CO_2H , CO_2R' , $CONH_2$, $CONHR'$, $CONR'_2$, $CH=CHCO_2H$, $CH=CHCO_2R'$; y,

R' es un alquilo opcionalmente sustituido de C_1-C_{12} (particularmente cuando el alquilo es un residuo de aminoácido), cicloalquilo, alquino opcionalmente sustituido de C_2-C_6 , alqueno inferior opcionalmente sustituido de C_2-C_6 , o acilo opcionalmente sustituido.

3. El nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D) de la reivindicación 1 o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste, en donde Base se selecciona del grupo que consiste de (a) o (b):



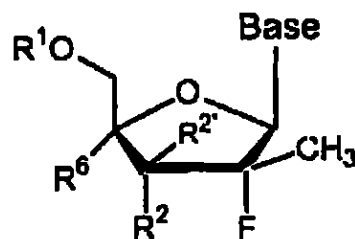
(a)



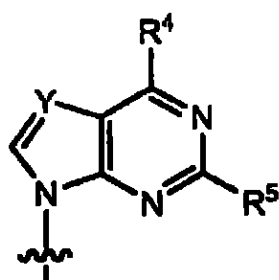
(b)

y en donde R^1 es H, R^2 es OH, R^3 es H, R^3 es H, y R^4 es NH_2 u OH, y R^5 es NH_2 .

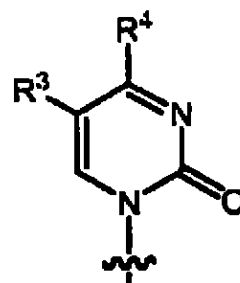
4. Un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) de la fórmula:



en donde Base se selecciona del grupo que consiste de



(a)



(b)

Y es N o CH;

R¹ y R⁷ son independientemente H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D (o mezcla racémica), un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra *in vivo* es capaz de suministrar un compuesto en donde R¹ es H o fosfato; R² es H o fosfato; R¹ y R³ o R⁷ también se pueden ligar con el grupo fosfato cíclico;

1170

R^2 y $R^{2'}$ son independientemente H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{1-4} , alquinilo C_{1-4} , vinilo, N_3 , CN, Cl, Br, F, I, NO_2 , $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O(\text{acilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $S(\text{acilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{acilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, NH_2 , $NH(\text{alquilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $NH(\text{acilo } C_{1-4})$, $N(\text{alquilo } C_{1-4})_2$, $N(\text{acilo } C_{1-18})_2$, en donde alquilo, alquinilo, alquenilo y vinilo son opcionalmente sustituidos por N_3 , CN, uno a tres halógenos (Cl, Br, F, I), NO_2 , $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O(\text{acilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $S(\text{acilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{acilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, NH_2 , $NH(\text{alquilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $NH(\text{acilo } C_{1-4})$, $N(\text{alquilo } C_{1-4})_2$, $N(\text{acilo } C_{1-4})_2$, OR^7 ; R^2 y $R^{2'}$

(17)

pueden ser ligados juntos para formar un vinilo opcionalmente sustituido por uno o dos de N₃, CN, Cl, Br, F, I, NO₂;

R³, R⁴ y R⁵ son independientemente H, halógeno que incluye F, Cl, Br, I, OH, OR', SH, SR', NH₂, NHR', NR'₂, alquilo inferior de C₁-C₆, alquilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₁-C₆ tal como CF₃ y CH₂CH₂F, alqueno inferior de C₂-C₆ tal como CH=CH₂, alqueno inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₂-C₆ tal como CH=CHCl, CH=CHBr y CH=CHI, alquino inferior de C₂-C₆ tal como C=CH, alquino inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₂-C₆, alcoxi inferior de C₁-C₆ tal como CH₂OH y CH₂CH₂OH, alcoxi inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₁-C₆, CO₂H, CO₂R', CONH₂, CONHR', CONR'₂, CH=CHCO₂H, CH=CHCO₂R';

R' es un alquilo opcionalmente sustituido de C₁-C₁₂ (particularmente cuando el alquilo es un residuo de aminoácido), cicloalquilo, alquino opcionalmente sustituido de C₂-C₆, alqueno inferior opcionalmente sustituido de C₂-C₆, o acilo opcionalmente sustituido;

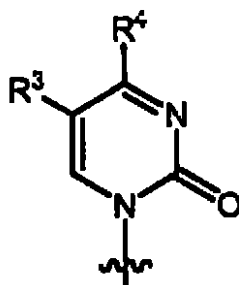
R⁶ es un alquilo opcionalmente sustituido (que incluye alquilo inferior), ciano (CN), CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, hidroximetilo (CH₂OH), fluorometilo (CH₂F), azido (N₃), CHCN, CH₂N₃,

1172

CH_2NH_2 , CH_2NHCH_3 , $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, alquino (opcionalmente sustituido), o fluoro;

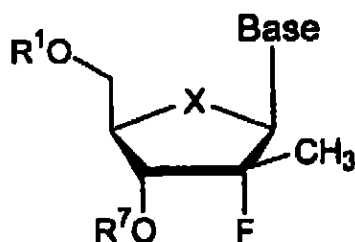
o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste.

5. El nucleósido de (2'R)-2-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D) de la reivindicación 4 o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste, en donde Base es



y R^1 es H, R^2 es OH, $\text{R}^{2'}$ es H, R^3 es H, R^4 es NH_2 u OH, y R^6 es H.

6. Un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la estructura:



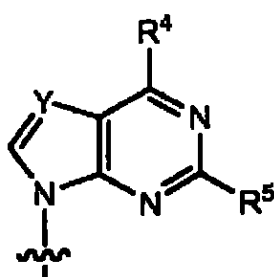
en donde Base es una base de purina o pirimidina;

X es O, S, CH₂, Se, NH, N-alquilo, CHW (R, S, o racémico), C(W)₂, en donde W es F, Cl, Br, o I; y,

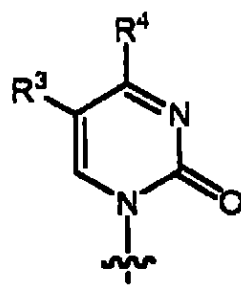
R¹ y R⁷ son independientemente H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D, un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra in vivo es capaz de suministrar un compuesto en donde R¹ o R⁷ es

independientemente H o fosfato; R^1 y R^7 también se pueden ligar con el grupo fosfato cíclico.

7. El nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) de la reivindicación 6 o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste, en donde Base se selecciona del grupo que consiste de:



(a)



(b)

Y es N o CH;

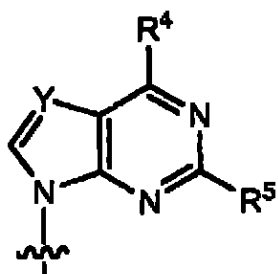
R^3 , R^4 y R^5 son independientemente H, halógeno que incluye F, Cl, Br, I, OH, OR', SH, SR', NH₂, NHR', NR'₂, alquilo inferior de C₁-C₆, alquilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₁-C₆ tal como CF₃ y CH₂CH₂F, alqueno inferior de C₂-C₆ tal como CH=CH₂, alqueno inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₂-C₆ tal como CH=CHCl, CH=CHBr y CH=CHI, alquino inferior de C₂-C₆ tal como C≡CH, alquino inferior halogenado (F, Cl, Br,

1175

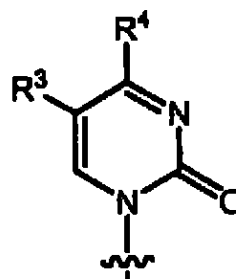
I) de C_2-C_6 , alcoxi inferior de C_1-C_6 tal como CH_2OH y CH_2CH_2OH , alcoxi inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C_1-C_6 , CO_2H , CO_2R' , $CONH_2$, $CONHR'$, $CONR'_2$, $CH=CHCO_2H$, $CH=CHCO_2R'$; y,

R' es un alquilo opcionalmente sustituido de C_1-C_{12} (particularmente cuando el alquilo es un residuo de aminoácido), cicloalquilo, alquinilo opcionalmente sustituido de C_2-C_6 , alquenilo inferior opcionalmente sustituido de C_2-C_6 , o acilo opcionalmente sustituido.

8. El nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D) de la reivindicación 6 o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste, en donde Base se selecciona del grupo que consiste de (a) o (b):



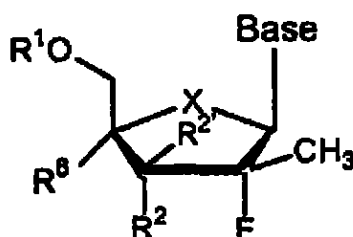
(a)



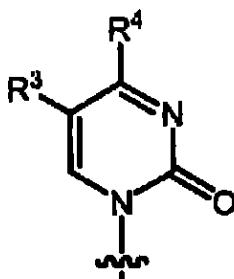
(b)

y en donde R^1 y R^7 son H, R^3 es H, y R^4 es NH_2 u OH, y R^5 es NH_2 .

9. Un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) de la fórmula:



en donde Base es



X es O, S, CH₂, Se, NH, N-alquilo, CHW (R, S, o racémico), C(W)₂, en donde W es F, Cl, Br, o I;

R¹ y R⁷ son independientemente H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo

inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D (o mezcla racémica), un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra *in vivo* es capaz de suministrar un compuesto en donde R^1 es H o fosfato; R^2 es H o fosfato; R^1 y R^2 o R^7 también se pueden ligar con el grupo fosfato cíclico;

R^2 y R^2' son independientemente H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{1-4} , alquinilo C_{1-4} , vinilo, N_3 , CN, Cl, Br, F, I, NO_2 , $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O(\text{acilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $S(\text{acilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{acilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, NH_2 , $NH(\text{alquilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $NH(\text{acilo } C_{1-4})$, $N(\text{alquilo } C_{1-4})_3$, $N(\text{acilo } C_{1-18})_2$, en donde alquilo, alquinilo, alquenilo y vinilo son opcionalmente sustituidos por N_3 , CN, uno a tres halógenos (Cl, Br, F, I),

NO₂, C(O)O(alquilo C₁₋₄), C(O)O(alquilo C₁₋₄), C(O)O(alquinilo C₁₋₄), C(O)O(alquenilo C₁₋₄), O(acilo C₁₋₄), O(alquilo C₁₋₄), O(alquenilo C₁₋₄), S(acilo C₁₋₄), S(alquilo C₁₋₄), S(alquinilo C₁₋₄), S(alquenilo C₁₋₄), SO(acilo C₁₋₄), SO(alquilo C₁₋₄), SO(alquinilo C₁₋₄), SO(alquenilo C₁₋₄), SO₂(acilo C₁₋₄), SO₂(alquilo C₁₋₄), SO₂(alquinilo C₁₋₄), SO₂(alquenilo C₁₋₄), O₃S(acilo C₁₋₄), O₃S(alquilo C₁₋₄), O₃S(alquenilo C₁₋₄), NH₂, NH(alquilo C₁₋₄), NH(alquenilo C₁₋₄), NH(alquinilo C₁₋₄), NH(acilo C₁₋₄), N(alquilo C₁₋₄)₂, N(acilo C₁₋₄)₂, OR⁷; R y R² pueden ser ligados juntos para formar un vinilo opcionalmente sustituido por uno o dos de N₃, CN, Cl, Br, F, I, NO₂;

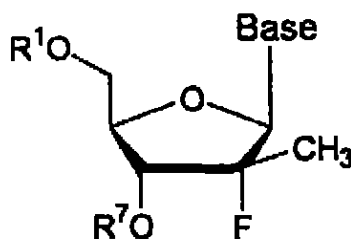
R³ y R⁴ son independientemente H, halógeno que incluye F, Cl, Br, I, OH, OR', SH, SR', NH₂, NHR', NR'₂, alquilo inferior de C₁-C₆, alquilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₁-C₆ tal como CF₃ y CH₂CH₂F, alquenilo inferior de C₂-C₆ tal como CH=CH₂, alquenilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₂-C₆ tal como CH=CHCl, CH=CHBr y CH=CHI, alquinilo inferior de C₂-C₆ tal como C=CH, alquinilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₂-C₆, alcoxi inferior de C₁-C₆ tal como CH₂OH y CH₂CH₂OH, alcoxi inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₁-C₆, CO₂H, CO₂R', CONH₂, CONHR', CONR'₂, CH=CHCO₂H, CH=CHCO₂R'; y,

R' es un alquilo opcionalmente sustituido Of C₁-C₁₂ (particularmente cuando el alquilo es un residuo de aminoácido), cicloalquilo, alquinilo opcionalmente sustituido de C₂-C₆, alquenilo inferior opcionalmente sustituido de C₂-C₆, o acilo opcionalmente sustituido.

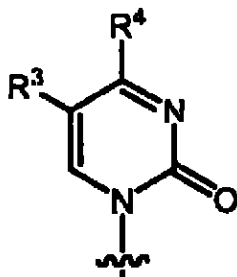
R⁶ es un alquilo opcionalmente sustituido (que incluye alquilo inferior), ciano (CN), CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, hidroximetilo (CH₂OH), fluorometilo (CH₂F), azido (N₃), CHCN, CH₂N₃, CH₂NH₂, CH₂NHCH₃, CH₂N(CH₃)₂, alquino (opcionalmente sustituido), o fluoro;

o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste.

10. Un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β-D o β-L) de la fórmula



en donde Base es



R^1 y R^7 son independientemente H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D (o mezcla racémica), un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra *in vivo* es capaz de suministrar un compuesto en donde R^1 es H o fosfato; R^2 es H o fosfato; R^1 y R^2 o R^7 también se pueden ligar con el grupo fosfato cíclico;

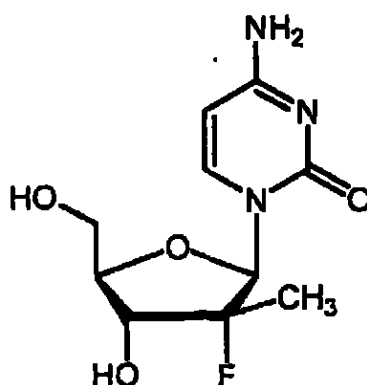
R^3 y R^4 son independientemente H, halógeno que incluye F, Cl, Br, I, OH, OR', SH, SR', NH₂, NHR', NR'₂, alquilo inferior de C₁-C₆, alquilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₁-C₆ tal

como CF_3 y $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$, alqueno inferior de $\text{C}_2\text{-C}_6$ tal como $\text{CH}=\text{CH}_2$, alqueno inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de $\text{C}_2\text{-C}_6$ tal como $\text{CH}=\text{CHCl}$, $\text{CH}=\text{CHBr}$ y $\text{CH}=\text{CHI}$, alquino inferior de $\text{C}_2\text{-C}_6$ tal como $\text{C}=\text{CH}$, alquino inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de $\text{C}_2\text{-C}_6$, alcoxi inferior de $\text{C}_1\text{-C}_6$ tal como CH_2OH y $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, alcoxi inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de $\text{C}_1\text{-C}_6$, CO_2H , $\text{CO}_2\text{R}'$, CONH_2 , CONHR' , CONR'_2 , $\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{H}$, $\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{R}'$;

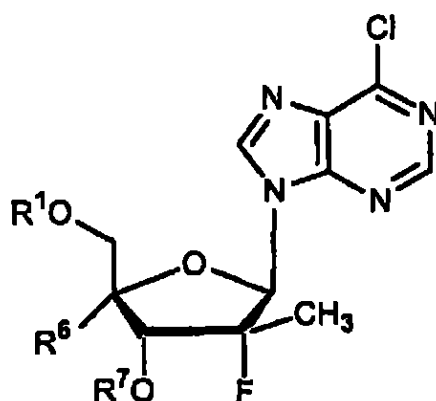
R' es un alquilo opcionalmente sustituido de $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ (particularmente cuando el alquilo es un residuo de aminoácido), cicloalquilo, alquino opcionalmente sustituido de $\text{C}_2\text{-C}_6$, alqueno inferior opcionalmente sustituido de $\text{C}_2\text{-C}_6$, o acilo opcionalmente sustituido;

o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste.

11. Un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D) o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la fórmula:



12. Un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D) o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la fórmula:

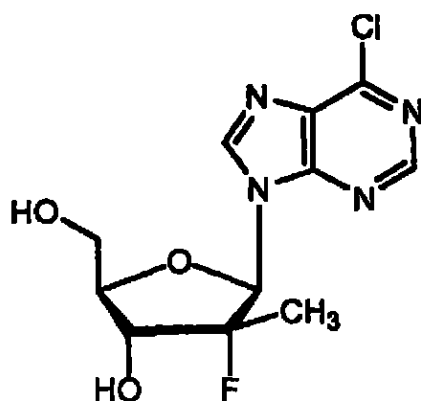


en donde R^1 y R^7 son independientemente H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de

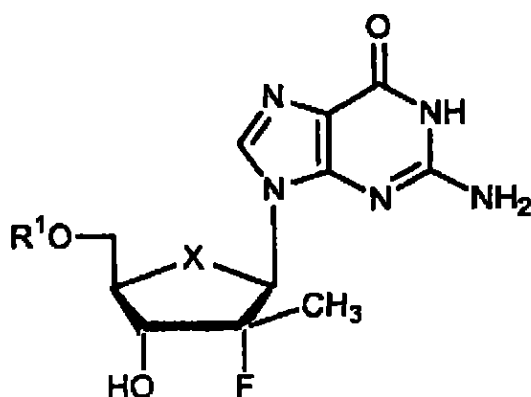
péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D, un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra *in vivo* es capaz de suministrar un compuesto en donde R^1 o R^7 es independientemente H o fosfato; R^1 y R^7 también se pueden ligar con el grupo fosfato cíclico; y,

R^6 es un alquilo opcionalmente sustituido (que incluye alquilo inferior), ciano (CN), CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , hidroximetilo (CH_2OH), fluorometilo (CH_2F), azido (N_3), $CHCN$, CH_2N_3 , CH_2NH_2 , CH_2NHCH_3 , $CH_2N(CH_3)_3$, alquino (opcionalmente sustituido), o fluoro.

13. Un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D) o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la fórmula:



14. Un nucleósido de (2'R)-2-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D) o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la fórmula:

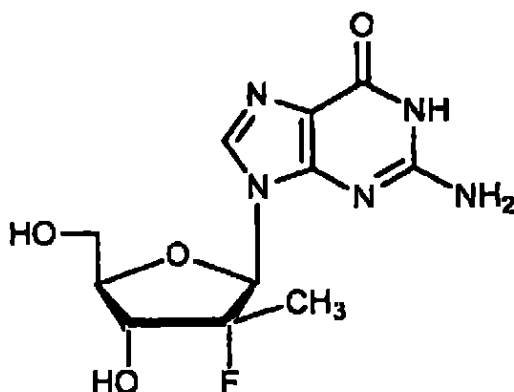


en donde X es O, S, CH₂, Se, NH, N-alquilo, CHW (R, S, o racémico), C(W)₂, en donde W es F, Cl, Br, o I; y

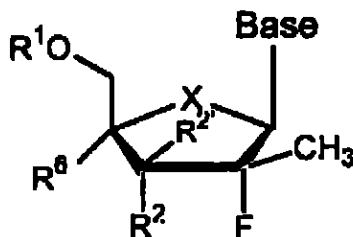
R¹ es H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye

fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D, un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra *in vivo* es capaz de suministrar un compuesto en donde R¹ es H o fosfato.

15. Un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D) o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste de la fórmula:



16. Una composición farmacéutica que comprende un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) de la fórmula:



en donde Base es una base de purina o pirimidina;

X es O, S, CH₂, Se, NH, N-alquilo, CHW (R, S, o racémico), C(W)₂, en donde W es F, Cl, Br, o I;

R¹ y R⁷ son independientemente H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D (o mezcla

racémica), un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra *in vivo* es capaz de suministrar un compuesto en donde R^1 es H o fosfato; R^2 es H o fosfato; R^1 y R^2 o R^7 también se pueden ligar con el grupo fosfato cíclico;

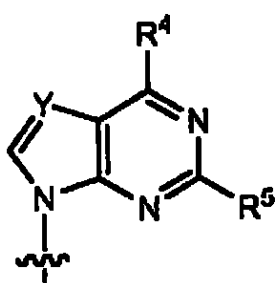
R^2 y $R^{2'}$ son independientemente H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{1-4} , alquinilo C_{1-4} , vinilo, N_3 , CN, Cl, Br, F, I, NO_2 , $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O(\text{acilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $S(\text{acilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{acilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, NH_2 , $NH(\text{alquilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $NH(\text{acilo } C_{1-4})$, $N(\text{alquilo } C_{1-4})_2$, $N(\text{acilo } C_{1-18})_2$, en donde alquilo, alquinilo, alquenilo y vinilo son opcionalmente sustituidos por N_3 , CN, uno a tres halógenos (Cl, Br, F, I), NO_2 , $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O(\text{acilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $S(\text{acilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{acilo } C_{1-4})$,

$\text{SO}_2(\text{alquilo } \text{C}_{1-4})$, $\text{SO}_2(\text{alquinilo } \text{C}_{1-4})$, $\text{SO}_2(\text{alquenilo } \text{C}_{1-4})$, $\text{O}_3\text{S}(\text{acilo } \text{C}_{1-4})$, $\text{O}_3\text{S}(\text{alquilo } \text{C}_{1-4})$, $\text{O}_3\text{S}(\text{alquenilo } \text{C}_{1-4})$, NH_2 , $\text{NH}(\text{alquilo } \text{C}_{1-4})$, $\text{NH}(\text{alquenilo } \text{C}_{1-4})$, $\text{NH}(\text{alquinilo } \text{C}_{1-4})$, $\text{NH}(\text{acilo } \text{C}_{1-4})$, $\text{N}(\text{alquilo } \text{C}_{1-4})_2$, $\text{N}(\text{acilo } \text{C}_{1-4})_2$, OR^7 ; R^2 y $\text{R}^{2'}$ pueden ser ligados juntos para formar un vinilo opcionalmente sustituido por uno o dos de N_3 , CN , Cl , Br , F , I , NO_2 ;

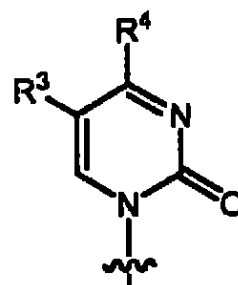
R^6 es un alquilo opcionalmente sustituido (que incluye alquilo inferior), ciano (CN), CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , hidroximetilo (CH_2OH), fluorometilo (CH_2F), azido (N_3), CHCN , CH_2N_3 , CH_2NH_2 , CH_2NHCH_3 , $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, alquino (opcionalmente sustituido), o fluoro;

o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste, un portador farmacéuticamente aceptable.

17. La composición de la reivindicación 16, en donde Base se selecciona del grupo que consiste de:



(a)



(b)

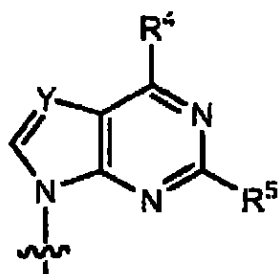
en donde Y es N o CH.

R^1 , R^4 y R^5 son independientemente H, halógeno que incluye F, Cl, Br, I, OH, OR', SH, SR', NH₂, NHR', NR'₂, alquilo inferior de C₁-C₆, alquilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₁-C₆ tal como CF₃ y CH₂CH₂F, alqueno inferior de C₂-C₆ tal como CH=CH₂, alqueno inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₂-C₆ tal como CH=CHCl, CH=CHBr y CH=CHI, alquino inferior de C₂-C₆ tal como C=CH, alquino inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₂-C₆, alcoxi inferior de C₁-C₆ tal como CH₂OH y CH₂CH₂OH, alcoxi inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₁-C₆, CO₂H, CO₂R', CONH₂, CONHR', CONR'₂, CH=CHCO₂H, CH=CHCO₂R'; y,

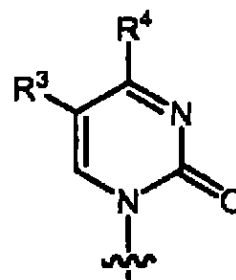
R' es un alquilo opcionalmente sustituido de C₁-C₁₂ (particularmente cuando el alquilo es un residuo de aminoácido), cicloalquilo, alquino opcionalmente sustituido

de C₂-C₆, alqueno inferior opcionalmente sustituido de C₂-C₆, o acilo opcionalmente sustituido.

18. La composición de la reivindicación 16, en donde Base se selecciona del grupo que consiste de (a) o (b):



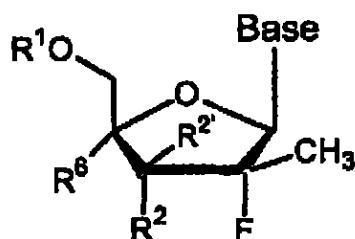
(a)



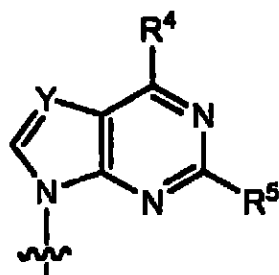
(b)

y en donde R¹ es H, R² es OH, R^{2'} es H, R³ es H, y R⁴ es NH₂ u OH, y R⁵ es NH₂.

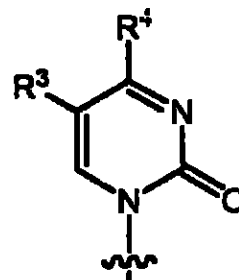
19. Una composición farmacéutica que comprende un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β-D o β-L) de la fórmula:



en donde Base se selecciona del grupo que consiste de



(a)



(b)

Y es N o CH;

R¹ y R⁷ son independientemente H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D (o mezcla racémica), un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se

administra *in vivo* es capaz de suministrar un compuesto en donde R¹ es H o fosfato; R² es H o fosfato; R¹ y R² o R⁷ también se pueden ligar con el grupo fosfato cíclico;

R² y R³ son independientemente H, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₁₋₄, alquinilo C₁₋₄, vinilo, N₃, CN, Cl, Br, F, I, NO₂, C(O)O(alquilo C₁₋₄), C(O)O(alquilo C₁₋₄), C(O)O(alquinilo C₁₋₄), C(O)O(alquenilo C₁₋₄), O(acilo C₁₋₄), O(alquilo C₁₋₄), O(alquenilo C₁₋₄), S(acilo C₁₋₄), S(alquilo C₁₋₄), S(alquinilo C₁₋₄), S(alquenilo C₁₋₄), SO(acilo C₁₋₄), SO(alquilo C₁₋₄), SO(alquinilo C₁₋₄), SO(alquenilo C₁₋₄), SO₂(acilo C₁₋₄), SO₂(alquilo C₁₋₄), SO₂(alquinilo C₁₋₄), SO₂(alquenilo C₁₋₄), O₃S(acilo C₁₋₄), O₃S(alquilo C₁₋₄), O₃S(alquenilo C₁₋₄), NH₂, NH(alquilo C₁₋₄), NH(alquenilo C₁₋₄), NH(alquinilo C₁₋₄), NH(acilo C₁₋₄), N(alquilo C₁₋₄)₂, N(acilo C₁₋₁₈)₂, en donde alquilo, alquinilo, alquenilo y vinilo son opcionalmente sustituidos por N₃, CN, uno a tres halógenos (Cl, Br, F, I), NO₂, C(O)O(alquilo C₁₋₄), C(O)O(alquilo C₁₋₄), C(O)O(alquinilo C₁₋₄), C(O)O(alquenilo C₁₋₄), O(acilo C₁₋₄), O(alquilo C₁₋₄), O(alquenilo C₁₋₄), S(acilo C₁₋₄), S(alquilo C₁₋₄), S(alquinilo C₁₋₄), S(alquenilo C₁₋₄), SO(acilo C₁₋₄), SO(alquilo C₁₋₄), SO(alquinilo C₁₋₄), SO(alquenilo C₁₋₄), SO₂(acilo C₁₋₄), SO₂(alquilo C₁₋₄), SO₂(alquinilo C₁₋₄), SO₂(alquenilo C₁₋₄), O₃S(acilo C₁₋₄), O₃S(alquilo C₁₋₄), O₃S(alquenilo C₁₋₄), NH₂,

NH(alquilo C₁₋₄), NH(alquenilo C₁₋₄), NH(alquinilo C₁₋₄), NH(acilo C₁₋₄), N(alquilo C₁₋₄)₂, N(acilo C₁₋₄)₂, OR⁷; R² y R^{2'} pueden ser ligados juntos para formar un vinilo opcionalmente sustituido por uno o dos de N₃, CN, Cl, Br, F, I, NO₂;

R³, R⁴ y R⁵ son independientemente H, halógeno que incluye F, Cl, Br, I, OH, OR', SH, SR', NH₂, NHR', NR'₂, alquilo inferior de C₁-C₆, alquilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₁-C₆ tal como CF₃ y CH₂CH₂F, alquenilo inferior de C₂-C₆ tal como CH=CH₂, alquenilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₂-C₆ tal como CH=CHCl, CH=CHBr y CH=CHI, alquinilo inferior de C₂-C₆ tal como C≡CH, alquinilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₂-C₆, alcoxi inferior de C₁-C₆ tal como CH₂OH y CH₂CH₂OH, alcoxi inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₁-C₆, CO₂H, CO₂R', CONH₂, CONHR', CONR'₂, CH=CHCO₂H, CH=CHCO₂R';

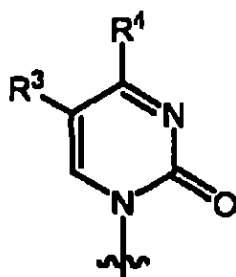
R' es un alquilo opcionalmente sustituido de C₁-C₁₂ (particularmente cuando el alquilo es un residuo de aminoácido), cicloalquilo, alquinilo opcionalmente sustituido de C₂-C₆, alquenilo inferior opcionalmente sustituido de C₂-C₆, o acilo opcionalmente sustituido;

R⁶ es un alquilo opcionalmente sustituido (que incluye alquilo inferior), ciano (CN), CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, hidroxí

metilo (CH_2OH), fluorometilo (CH_2F), azido (N_3), CHCN , CH_2N_3 , CH_2NH_2 , CH_2NHCH_3 , $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, alquino (opcionalmente sustituido), o fluoro;

o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste en un portador farmacéuticamente aceptable.

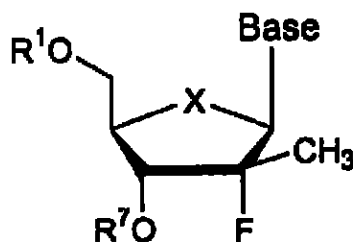
20. La composición de la reivindicación 19, en donde Base es



y R^1 es H, R^2 es OH, $\text{R}^{2'}$ es H, R^3 es H, R^4 es NH_2 u OH, y R^6 es H.

21. Una composición farmacéutica que comprende un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste, en un portador farmacéuticamente aceptable, de la estructura:

1195



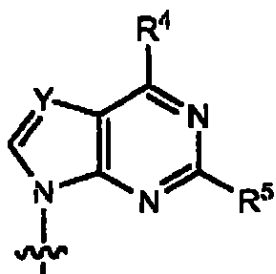
en donde Base es una base de purina o pirimidina;

X es O, S, CH_2 , Se, NH, N-alquilo, CHW (R, S, o racémico), C(W)_2 , en donde W es F, Cl, Br, o I; y,

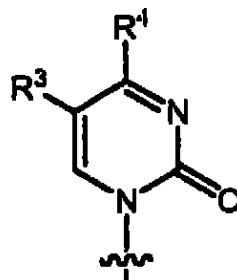
R^1 y R^7 son independientemente H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D, un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra *in vivo* es capaz de suministrar un compuesto en donde R^1 o R^7 es

independientemente H o fosfato; R^1 y R^7 también se pueden ligar con el grupo fosfato cíclico.

22. La composición de la reivindicación 21, en donde Base se selecciona del grupo que consiste de:



(a)



(b)

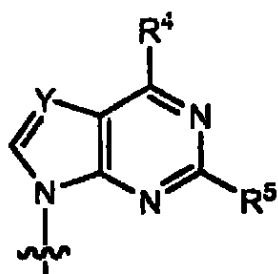
Y es N o CH;

R^3 , R^4 y R^5 son independientemente H, halógeno que incluye F, Cl, Br, I, OH, OR', SH, SR', NH₂, NHR', NR'₂, alquilo inferior de C₁-C₆, alquilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₁-C₆ tal como CF₃ y CH₂CH₂F, alqueno inferior de C₂-C₆ tal como CH=CH₂, alqueno inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₂-C₆ tal como CH=CHCl, CH=CHBr y CH=CHI, alquino inferior de C₂-C₆ tal como C≡CH, alquino inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₂-C₆, alcoxi inferior de C₁-C₆ tal como CH₂OH y

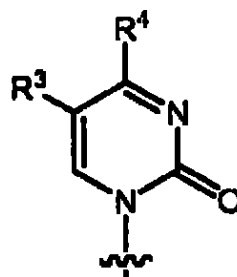
$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, alcoxi inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de $\text{C}_1\text{-C}_6$, CO_2H , $\text{CO}_2\text{R}'$, CONH_2 , CONHR' , CONR'_2 , $\text{CH=CHCO}_2\text{H}$, $\text{CH=CHCO}_2\text{R}'$; y,

R' es un alquilo opcionalmente sustituido de $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ (particularmente cuando el alquilo es un residuo de aminoácido), cicloalquilo, alquinilo opcionalmente sustituido de $\text{C}_2\text{-C}_6$, alquenilo inferior opcionalmente sustituido de $\text{C}_2\text{-C}_6$, o acilo opcionalmente sustituido.

23. La composición de la reivindicación 21, en donde Base se selecciona del grupo que consiste de (a) o (b):



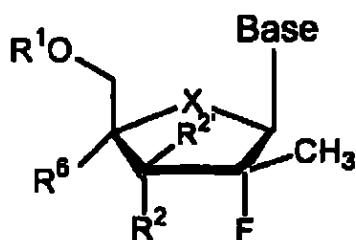
(a)



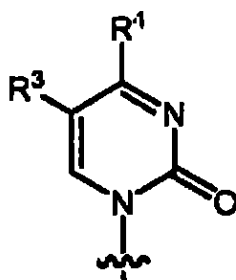
(b)

y en donde R^1 y R^7 son H, R^3 es H, y R^4 es NH_2 u OH, y R^5 es NH_2 .

24. Una composición farmacéutica que comprende un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) de la fórmula:



en donde Base es



X es O, S, CH₂, Se, NH, N-alquilo, CHW (R, S, o racémico), C(W)₂, en donde W es F, Cl, Br, o I;

R¹ y R⁷ son independientemente H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo

1199

inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D (o mezcla racémica), un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra *in vivo* es capaz de suministrar un compuesto en donde R^1 es H o fosfato; R^2 es H o fosfato; R^1 y R^2 o R^2 también se pueden ligar con el grupo fosfato cíclico;

R^2 y R^2 son independientemente H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{1-4} , alquinilo C_{1-4} , vinilo, N_3 , CN, Cl, Br, F, I, NO_2 , $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $C(O)O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O(\text{acilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $S(\text{acilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{acilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $O_3S(\text{acilo } C_{1-4})$, $O_3S O_3S(\text{alquilo } C_{1-4})$, $O_3S O_3S(\text{alquenilo } C_{1-4})$, NH_2 , $NH(\text{alquilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquenilo } C_{1-4})$, $NH(\text{alquinilo } C_{1-4})$, $NH(\text{acilo } C_{1-4})$, $N(\text{alquilo } C_{1-4})_2$, $N(\text{acilo } C_{1-18})_2$, en donde alquilo, alquinilo, alquenilo y vinilo son opcionalmente sustituidos por N_3 , CN, uno a tres halógenos (Cl, Br, F, I),

1200

NO₂, C(O)O(alquilo C₁₋₄), C(O)O(alquilo C₁₋₄), C(O)O(alquinilo C₁₋₄), C(O)O(alquenilo C₁₋₄), O(acilo C₁₋₄), O(alquilo C₁₋₄), O(alquenilo C₁₋₄), S(acilo C₁₋₄), S(alquilo C₁₋₄), S(alquinilo C₁₋₄), S(alquenilo C₁₋₄), SO(acilo C₁₋₄), SO(alquilo C₁₋₄), SO(alquinilo C₁₋₄), SO(alquenilo C₁₋₄), SO₂(Co4 acilo), SO₂(alquilo C₁₋₄), SO₂(alquinilo C₁₋₄), SO₂(alquenilo C₁₋₄), O₃S(acilo C₁₋₄), O₃S(alquilo C₁₋₄), O₃S(alquenilo C₁₋₄), NH₂, NH(alquilo C₁₋₄), NH(alquenilo C₁₋₄), NH(alquinilo C₁₋₄), NH(acilo C₁₋₄), N(alquilo C₁₋₄)₂, N(acilo C₁₋₄)₂, OR⁷; R² y R³ pueden ser ligados juntos para formar un vinilo opcionalmente sustituido por uno o dos de N₃, CN, Cl, Br, F, I, NO₂;

R³ y R⁴ son independientemente H, halógeno que incluye F, Cl, Br, I, OH, OR', SH, SR', NH₂, NHR', NR'₂, alquilo inferior de C₁-C₆, alquilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₁-C₆ tal como CF₃ y CH₂CH₂F, alquenilo inferior de C₂-C₆ tal como CH=CH₂, alquenilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₂-C₆ tal como CH=CHCl, CH=CHBr y CH=CHI, alquinilo inferior de C₂-C₆ tal como C≡CH, alquinilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₂-C₆, alcoxi inferior de C₁-C₆ tal como CH₂OH y CH₂CH₂OH, alcoxi inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C₁-C₆, CO₂H, CO₂R', CONH₂, CONHR', CONR'₂, CH=CHCO₂H, CH=CHCO₂R';

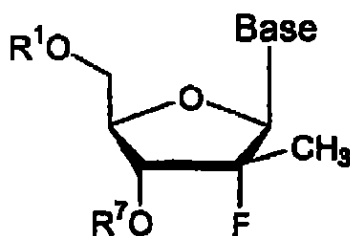
1291

R' es un alquilo opcionalmente sustituido de C₁-C₁₂ (particularmente cuando el alquilo es un residuo de aminoácido), cicloalquilo, alquinilo opcionalmente sustituido de C₂-C₆, alquenilo inferior opcionalmente sustituido de C₂-C₆, o acilo opcionalmente sustituido; y

R⁵ es un alquilo opcionalmente sustituido (que incluye alquilo inferior), ciano (CN), CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃, hidroximetilo (CH₂OH), fluorometilo (CH₂F), azido (N₃), CHCN, CH₂N₃, CH₂NH₂, CH₂NHCH₃, CH₂N(CH₃)₂, alquino (opcionalmente sustituido), o fluoro;

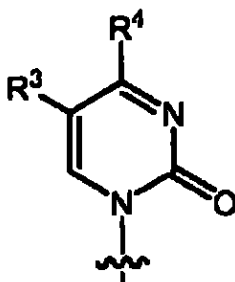
o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste y un portador farmacéuticamente aceptable.

25. Una composición farmacéutica que comprende un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β-D o β-L) de la fórmula:



1202

en donde Base es



R¹ y R⁷ son independientemente H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D, un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra *in vivo* es capaz de suministrar un compuesto en donde R¹ o R⁷ es independientemente H o fosfato; R¹ y R⁷ también se pueden ligar con el grupo fosfato cíclico;

203

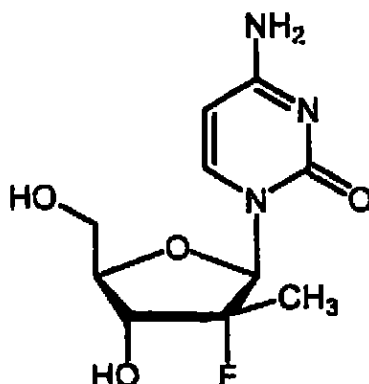
R^3 y R^4 son independientemente H, halógeno que incluye F, Cl, Br, I, OH, OR', SH, SR', NH_2 , NHR', NR'_2 , alquilo inferior de C_1-C_6 , alquilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C_1-C_6 tal como CF_3 y CH_2CH_2F , alquenilo inferior de C_2-C_6 tal como $CH=CH_2$, alquenilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C_2-C_6 tal como $CH=CHCl$, $CH=CHBr$ y $CH=CHI$, alquinilo inferior de C_2-C_6 tal como $C=CH$, alquinilo inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C_2-C_6 , alcoxi inferior de C_1-C_6 tal como CH_2OH y CH_2CH_2OH , alcoxi inferior halogenado (F, Cl, Br, I) de C_1-C_6 , CO_2H , CO_2R' , $CONH_2$, $CONHR'$, $CONR'_2$, $CH=CHCO_2H$, $CH=CHCO_2R'$;

R' es un alquilo opcionalmente sustituido de C_1-C_{12} (particularmente cuando el alquilo es un residuo de aminoácido), cicloalquilo, alquinilo opcionalmente sustituido de C_2-C_6 , alquenilo inferior opcionalmente sustituido de C_2-C_6 , o acilo opcionalmente sustituido;

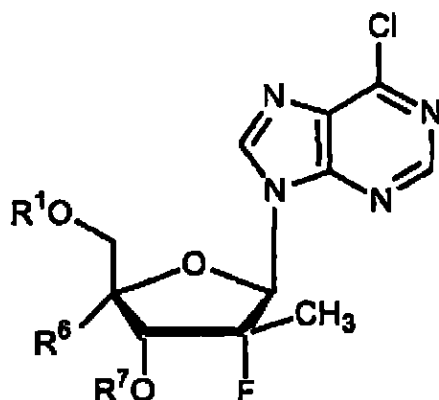
o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste, en un portador farmacéuticamente aceptable.

26. Una composición farmacéutica que comprende a un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D) o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste, en un portador farmacéuticamente aceptable de la fórmula:

204



27. Una composición farmacéutica que comprende un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L), o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste, en un portador farmacéuticamente aceptable, de la fórmula:



en donde R^1 y R^7 son independientemente H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente

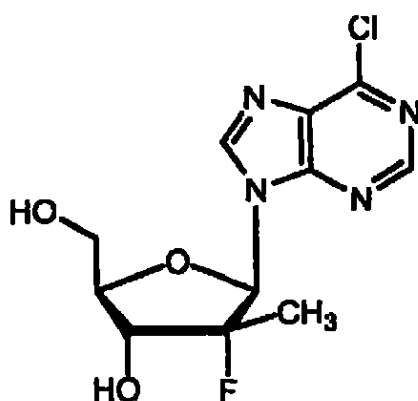
1205

sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D, un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra in vivo es capaz de suministrar un compuesto en donde R^1 o R^7 es independientemente H o fosfato; R^1 y R^7 también se pueden ligar con el grupo fosfato cíclico; y,

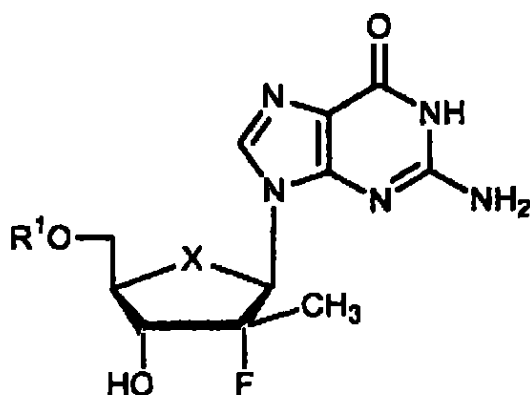
R^6 es un alquilo opcionalmente sustituido (que incluye alquilo inferior), ciano (CN), CH_3 , OCH_3 , OCH_2CH_3 , hidroximetilo (CH_2OH), fluorometilo (CH_2F), azido (N_3), $CHCN$, CH_2N_3 , CH_2NH_2 , CH_2NHCH_3 , $CH_2N(CH_3)_2$, alquino (opcionalmente sustituido), o fluoro.

28. Una composición farmacéutica que comprende un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D) o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste, en un portador farmacéuticamente aceptable, de la fórmula:

1206



29. Una composición farmacéutica que comprende un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D) o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste en un portador farmacéuticamente aceptable de la fórmula:



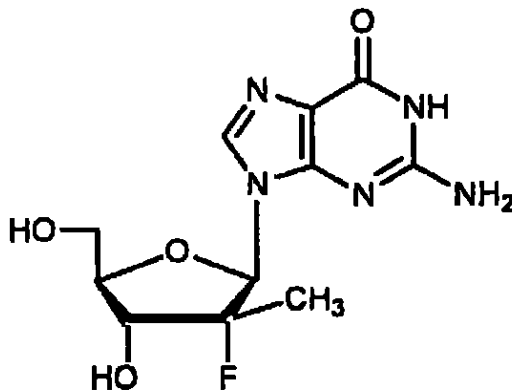
en donde X es O, S, CH₂, Se, NH, N-alquilo, CHW (R, S, o racémico), C(W)₂, en donde W es F, Cl, Br, o I; y

R¹ es H, fosfato, que incluye monofosfato, difosfato, trifosfato, o una prodroga de fosfato estabilizado, fosfonato

1207

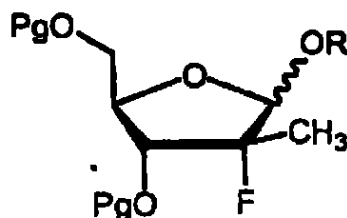
H, que incluye fosfonatos H estabilizados, acilo, que incluye fenilo opcionalmente sustituido y acilo inferior, alquilo, que incluye alquilo inferior, carboxialquilamino O-sustituido o sus derivados de péptido, éster de sulfonato, que incluye alquil o arilalquil sulfonilo, que incluye metanosulfonilo y benzilo, en donde el grupo fenilo es opcionalmente sustituido, un lípido, que incluye un fosfolípido, un aminoácido L o D, un carbohidrato, un péptido, un colesterol, u otro grupo saliente farmacéuticamente aceptable que cuando se administra *in vivo* es capaz de suministrar un compuesto en donde R¹ es H o fosfato;

30. Una composición farmacéutica que comprende un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D) o su sal farmacéuticamente aceptable o prodroga de éste, en un portador farmacéuticamente aceptable, de la estructura:



108

31. Un método para sintetizar un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) que comprende glicosilación de una nucleobase con una estructura intermedia:

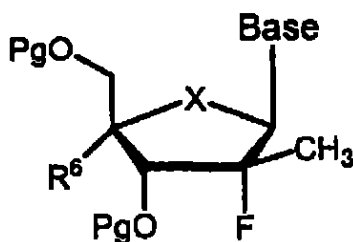


1-4

en donde R es alquilo, acilo, benzoilo, o mesilo inferior; y Pg es cualquier grupo protector aceptable que consiste de pero no está limitado a (O)-alquilo, C(O)Ph, C(O)arilo, CH₃, CH₂-alquilo, CH₂-alquenilo, CH₂Ph, CH₂-arilo, CH₂O-alquilo, CH₂O-arilo, SO₂-alquilo, SO₂-arilo, terc-butildimetilsililo, terc-butildifenilsililo, o ambos Pg pueden llegar juntos para un 1,3-(1,1,3,3-tetraisopropildisiloxanilideno).

32. Un método para sintetizar un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L) que comprende la desprotección selectiva de Pg en un intermedio de la estructura:

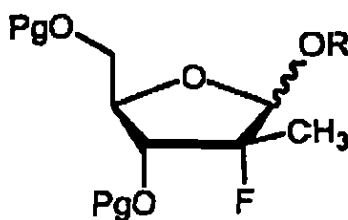
1209



2-5

en donde, X es O, S, CH₂, Se, NH, N-alquilo, CHW (R, S, o racémico), C(W)₂, en donde W es F, Cl, Br, o I; y Pg es independientemente cualquier grupo protector farmacéuticamente aceptable seleccionado del grupo que consiste de C(O)-alquilo, C(O)Ph, C(O)arilo, CH₃, CH₂-alquilo, CH₂-alquenilo, CH₃Ph, CH₂-arilo, CH₂O-alquilo, CH₂O-arilo, SO₂-alquilo, SO₂-arilo, terc-butildimetilsililo, terc-butildifenilsililo, o ambos Pg pueden llegar juntos para un 1,3-(1,1,3,3-tetraisopropildisiloxanilideno).

33. Un intermedio en la síntesis de un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β-D o β-L), en donde el intermedio es de la estructura:

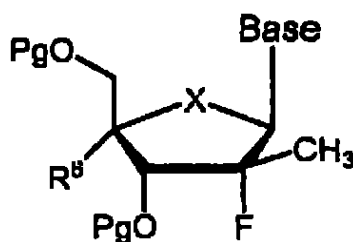


1-4

1210

en donde R es alquilo, acilo, benzoilo, o mesilo inferior; y Pg es cualquier grupo protector aceptable que consiste de pero no está limitado a C(O)-alquilo, C(O)Ph, C(O)arilo, CH₃, CH₂-alquilo, CH₂-alquenilo, CH₂Ph, CH₂-arilo, CH₂O-alquilo, CH₂O-arilo, SO₂-alquilo, SO₂-arilo, terc-butildimetilsililo, terc-butildifenilsililo, o ambos Pg pueden llegar juntos para un 1,3-(1,1,3,3-tetraisopropildisiloxanilideno).

34. Un intermedio en la síntesis de un nucleósido de (2'R)-2'-deoxi-2'-fluoro-2'-C-metilo (β -D o β -L), en donde el intermedio es de la estructura:



2-5

en donde, X es O, S, CH₂, Se, NH, N-alquilo, CHW (R, S, o racémico), C(W)₂, en donde W es F, Cl, Br, o I; y Pg es independientemente cualquier grupo protector farmacéuticamente aceptable seleccionado del grupo que consiste de C(O)-alquilo, C(O)Ph, C(O)arilo, CH₃, CH₂-alquilo, CH₂-alquenilo, CH₂Ph, CH₂-arilo, CH₂O-alquilo, CH₂O-arilo, SO₂-

1211

alquilo, SO₂-arilo, terc-butildimetilsililo, terc-butildifenilsililo, o ambos Pg pueden llegar juntos para un 1,3-(1,1,3,3-tetraisopropildisiloxanilideno).