



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 358 853**

51 Int. Cl.:
C07H 19/073 (2006.01)
A61K 31/513 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07820934 .3**
96 Fecha de presentación : **04.10.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2084175**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **05.08.2009**

54 Título: **Inhibidor nucleosídico de VHC.**

30 Prioridad: **10.10.2006 US 850926 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.05.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.05.2011

73 Titular/es: **MEDIVIR AB.**
P.O. Box 1086
141 22 Huddinge, SE

72 Inventor/es: **Johansson, Nils-Gunnar;**
Kalayanov, Genadiy;
Martin, Joseph Armstrong;
Smith, David Bernard y
Winqvist, Anna

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 358 853 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidor nucleosídico de VHC

La presente invención proporciona compuestos nucleosídicos y ciertos derivados de los mismos que son inhibidores de la ARN polimerasa viral dependiente de ARN. Estos compuestos son inhibidores de la replicación de virus de ARN dependientes de ARN y son útiles para el tratamiento de la infección por virus de ARN dependientes de ARN. Son particularmente útiles como inhibidores de la polimerasa NS5B del virus de la hepatitis C (VHC), como inhibidores de la replicación de VHC, y para el tratamiento de la infección por hepatitis C.

La invención se refiere a inhibidores nucleosídicos de la replicación de ARN de replicones de VHC. En particular, la invención se refiere al uso de compuestos nucleosídicos de pirimidina como inhibidores de la replicación de ARN subgenómico de VHC y a composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos.

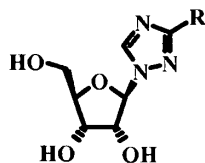
El virus de la hepatitis C es la causa principal de enfermedad hepática crónica en todo el mundo. (Boyer, N. y col. J. Hepatol. 2000 32:98-112). Los pacientes infectados con VHC tienen riesgo de desarrollar cirrosis hepática y el posterior carcinoma hepatocelular y, por lo tanto, el VHC es la indicación principal para trasplante hepático.

El VHC se ha clasificado como un miembro de la familia de virus *Flaviviridae* que incluye los géneros flavivirus, pestivirus y hepacivirus, que incluyen los virus de la hepatitis C (Rice, C. M., *Flaviviridae: The viruses and their replication*, en: *Fields Virology*, Editors: Fields, B. N., Knipe, D. M., y Howley, P. M., Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, Pa., Capítulo 30, 931-959, 1996). El VHC es un virus con envuelta que contiene un genoma de ARN monocatenario de sentido positivo de aproximadamente 9,4 kb. El genoma viral consiste en una región 5' no traducida (UTR), una fase de lectura abierta larga que codifica un precursor de poliproteína de aproximadamente 3011 aminoácidos y una UTR 3' corta. La UTR 5' es la parte más conservada del genoma de VHC y es importante para la iniciación y control de la traducción de poliproteínas.

El análisis genético de VHC ha identificado seis genotipos principales que divergen en más de un 30% de la secuencia de ADN. Se han distinguido más de 30 subtipos. En los Estados Unidos aproximadamente un 70% de los individuos infectados tienen infección de Tipo 1a y 1b. El Tipo 1b es el subtipo más prevalente en Asia. (X. Forns y J. Bukh, *Clinics in Liver Disease* 1999 3:693-716; J. Bukh y col., *Semin. Liv. Dis.* 1995 15:41-63). Desafortunadamente, las infecciones de Tipo 1 son más resistentes a la terapia que los genotipos de tipo 2 o 3 (N. N. Zein, *Clin. Microbiol. Rev.*, 2000 13:223-235).

Las proteínas estructurales virales incluyen una proteína central de la nucleocápsida (C) y dos glicoproteínas de la envuelta, E1 y E2. El VHC también codifica dos proteasas, una metaloproteinasa dependiente de cinc codificada por la región NS2-NS3 y una serina proteasa codificada en la región NS3. Estas proteasas son necesarias para la escisión de regiones específicas de la poliproteína precursora en péptidos maduros. La mitad carboxilo de la proteína 5 no estructural, NS5B, contiene la ARN polimerasa dependiente de ARN. La función de las demás proteínas no estructurales, NS4A y NS4B, y la de NS5A (la mitad amino-terminal de la proteína 5 no estructural) sigue sin conocerse. Se cree que la mayoría de las proteínas no estructurales codificadas por el genoma de ARN de VHC están implicadas en la replicación del ARN.

Actualmente hay un número limitado de terapias aprobadas disponibles para el tratamiento de la infección por VHC. Se han revisado enfoques terapéuticos nuevos y existentes para tratar VHC y la inhibición de la polimerasa NS5B de VHC: R. G. Gish, *Sem. Liver. Dis.*, 1999 19:5; Di Besceglie, A. M. y Bacon, B. R., *Scientific American*, October: 1999 80-85; G. Lake-Bakaar, *Current and Future Therapy for Chronic Hepatitis C Virus Liver Disease*, *Curr. Drug Targ. Infect Dis.* 2003 3(3):247-253; P. Hoffmann y col., *Recent patents on experimental therapy for hepatitis C virus infection (1999-2002)*, *Exp. Opin. Ther. Patents* 2003 13(11):1707-1723; M. P. Walker y col., *Promising Candidates for the treatment of chronic hepatitis C*, *Exp. Opin. investing. Drugs* 2003 12(8):1269-1280; S.-L. Tan y col., *Hepatitis C Therapeutics: Current Status and Emerging Strategies*, *Nature Rev. Drug Discov.* 2002 1:867-881.



1a: R = C(=O)NH₂

1b: R = C(=NH⁺)NH₂

La ribavirina (1a; amida del ácido 1-((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-hidroximetil-tetrahydro-furan-2-il)-1H-[1,2,4]triazol-3-carboxílico; Virazol) es un análogo de nucleósido antiviral de amplio espectro, sintético, no inductor de interferón. La ribavirina tiene actividad *in vitro* contra varios virus de ADN y ARN incluyendo *Flaviviridae* (Gary L. Davis, *Gastroenterology* **2000** 118:S104-S114). En monoterapia, la ribavirina reduce los niveles de aminotransferasa en suero a los normales en el 40% de los pacientes, pero no reduce los niveles en suero de ARN de VHC. La ribavirina también presenta una toxicidad significativa y se sabe que induce anemia. La viramidina **1b** es un profármaco que se convierte en 1a en hepatocitos.

Se dispone de interferones (IFN) para el tratamiento de hepatitis crónica desde hace casi una década. Los IFN son glicoproteínas producidas por células inmunes en respuesta a una infección viral. Se reconocen dos tipos distintos de interferones: el Tipo 1 incluye varios interferones α y un interferón β , el tipo 2 incluye interferón γ . Los interferones del Tipo 1 se producen principalmente por células infectadas y protegen a las células vecinas de la infección *de novo*. Los IFN inhiben la replicación viral de muchos virus, incluyendo VHC, y cuando se usa como único tratamiento para la infección por hepatitis C, el IFN reprime el ARN de VHC en suero hasta niveles indetectables. Además, el IFN normaliza los niveles en suero de aminotransferasa. Desafortunadamente, los efectos del IFN son temporales. El cese de la terapia da como resultado una tasa de recaída del 70% y únicamente un 10-15% presenta una respuesta virológica sostenida con niveles normales en suero de alanina transferasa (L.-B. Davis, *supra*).

Una limitación de la terapia temprana con IFN era la rápida eliminación de la proteína de la sangre. La derivatización química del IFN con polietilenglicol (PEG) ha dado como resultado proteínas con propiedades farmacocinéticas sustancialmente mejoradas. PEGASYS® es un conjugado de interferón α -2a y un mono-metoxi PEG ramificado de 40 kD y PEG-INTRON® es un conjugado de interferón α -2b y un mono-metoxi PEG de 12 kD. (B. A. Luxon y col., *Clin. Therap.* 2002 24(9):13631383; A. Kozlowski y J. M. Harris, *J. Control. Release*, 2001 72:217-224).

La terapia de combinación de VHC con ribavirina e interferón- α actualmente representa la terapia óptima. La combinación de ribavirina y PEG-IFN (*infra*) da como resultado una respuesta viral sostenida en el 54-56% de los pacientes. La TSP (tasa de supervivencia) se aproxima al 80% para el VHC de tipo 2 y 3. (Walker, *supra*) Desafortunadamente, la combinación también produce efectos secundarios que representan desafíos clínicos. Con el IFN- α subcutáneo están asociados depresión, síntomas de tipo gripe y reacciones cutáneas y con el tratamiento sostenido con ribavirina está asociada la anemia hemolítica.

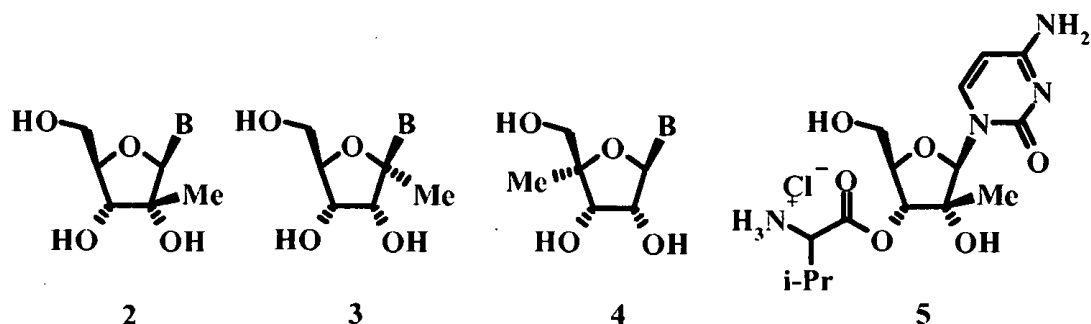
Ahora se han identificado varias dianas moleculares potenciales para el desarrollo de fármacos como productos terapéuticos anti-VHC que incluyen, pero sin limitación, la autoproteasa NS2-NS3, la proteasa N3, la helicasa N3 y la polimerasa NS5B. La ARN polimerasa dependiente de ARN es absolutamente esencial para la replicación del genoma de ARN, de sentido positivo, monocatenario. Esta enzima ha suscitado un interés significativo entre los químicos farmacéuticos.

Se conocen tanto inhibidores nucleosídicos como no nucleosídicos de NS5B.

Los inhibidores nucleosídicos pueden actuar como un terminador de la cadena o como un inhibidor competitivo que interfiere con la unión de nucleótidos a la polimerasa. Para funcionar como un terminador de la cadena, el análogo de nucleósido debe captarse por la célula y convertirse *in vivo* en un trifosfato para competir por el sitio de unión del nucleótido de la polimerasa. Esta conversión en el trifosfato comúnmente está mediada por quinasas celulares que imparten requisitos estructurales adicionales a un posible inhibidor nucleosídico de polimerasa. Además, esto limita la evaluación directa de nucleósidos como inhibidores de la replicación de VHC en ensayos basados en células con capacidad de fosforilación *in situ*.

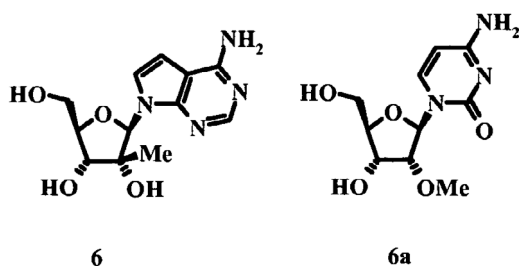
En el documento WO 01 90121 publicado el 29 de Noviembre de 2001, J.-P. Sommadossi y P. Lacolla desvelan y ejemplifican la actividad anti-polimerasa de VHC de 1'-alquil- y 2'-alquil nucleósidos de fórmulas 2 y 3. En el documento WO 01/92282, publicado el 6 de diciembre de 2001, J.-P. Sommadossi y P. Lacolla desvelan y ejemplifican el tratamiento de Flavivirus y Pestivirus con 1'-alquil- y 2'-alquil nucleósidos de fórmulas 2 y 3. En los documentos WO 03/026675 y WO 03/026589, ambos publicados el 3 de abril de 2003, G. Gosselin y col. desvelan 4'-alquil nucleósidos 4 y procedimientos para usar 4'-alquil nucleósidos para tratar Flavivirus y Pestivirus. En los documentos WO 2004003000 y WO 2004002999, ambos publicados el 8 de enero de 2004, J.-P. Sommadossi y col. desvelan profármacos de β -D y β -L nucleósidos 1'-, 2'-, 3'- y 4'-sustituidos. En el documento WO 04/002422 publicado el 8 de enero de 2004, J.-P. Sommadossi y col. desvelan el éster de 3'-O-L-valina de 2'-C-metil-ribofuranosil citidina y su uso en el tratamiento del VHC.

Idenix ha presentado ensayos clínicos para un compuesto relacionado, NM283, que es el éster de valina 5 del análogo de citidina 2 (B = citosina). Además, Idenix Pharmaceuticals, Ltd. también desvela en el documento WO 04/046331 mutaciones de *Flaviviridae* causadas por β -D o β -L nucleósidos 2'-ramificados biológicamente activos o una sal farmacéuticamente aceptable o profármaco de los mismos.

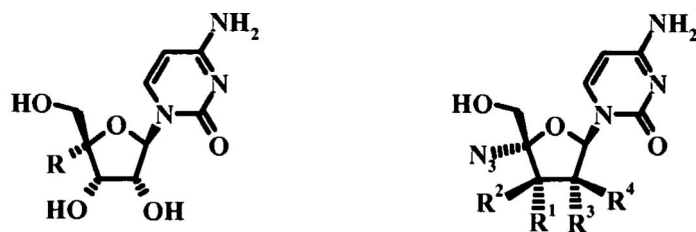


B= adenina, timidina, uracilo, citidina, guanina e hipoxantina

En el documento WO 02/057425 publicado el 25 de julio de 2002, S. S. Carroll y col. desvelan inhibidores nucleosídicos de ARN polimerasa dependiente de ARN en los que la subunidad de carbohidrato está modificada químicamente. En el documento WO 02/05787 publicado el 25 de julio de 2002, S. S. Carroll y col. desvelan derivados de 2 α -metil y 2 β -metilribosa relacionados en los que la base es un radical de 7H-pirrolol[2,3-d]pirimidina opcionalmente sustituido **6**. La misma solicitud desvela un ejemplo de un 3 β -metil nucleósido. S. S. Carroll y col. (J. Biol. Chem. 2003 278(14):11979-11984) desvelan la inhibición de la polimerasa de VHC por 2'-O-metilcitidina (**6a**). En la publicación de Estados Unidos N° 2004/0259934 publicada el 23 de diciembre de 2004, D. B. Olsen y col. desvelan procedimientos para inhibir la replicación viral de *Coronaviridae* y para el tratamiento de la infección viral por *Coronaviridae* con compuestos nucleosídicos.



En el documento WO 2006/021341 y en el documento WO 02/100415 publicado el 19 de diciembre de 2002 (documento US 2003/0236216 A1), R. R. Devos y col. desvelan compuestos nucleosídicos 4'-sustituidos que presentan actividad sobre el VHC. Los cuatro compuestos identificados explícitamente incluyen el compuesto 4'-azido **7a**, el compuesto 4'-etinilo **7b**, el compuesto 4'-etoxi **7c** y el compuesto 4'-acetilo **7d**. Las modificaciones en el resto de ribosa ejemplificadas incluyen el derivado de 2'-desoxi **8a**, el derivado de 3'-desoxi **8b**, el derivado de 3'-metoxi **8e**, el derivado de 3'-fluoro **8c** y el derivado de 2',2'-difluoro **8d**. En el documento WO 2004/046159 publicado el 3 de junio de 2004 (documento US 2004121980), J. A. Martin y col. desvelan profármacos de **7a** útiles para tratar enfermedades mediadas por VHC.



7a: R = N₃

7b: R = etinilo

7c: R = OEt

7d: R = C(=O)Me

8a: R¹ = OH, R² = R³ = R⁴ = H

8b: R³ = OH, R¹ = R² = R⁴ = H

8c: R³ = OH, R² = F, R¹ = R⁴ = H

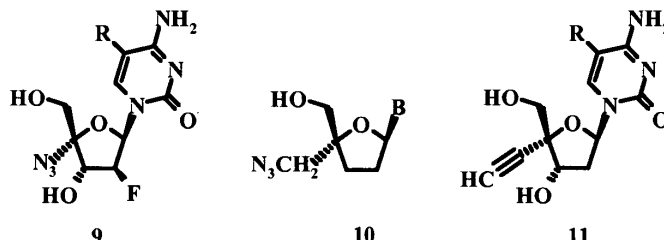
8d: R¹ = R² = H, R³ = R⁴ = F

8e: R¹ = OMe, R³ = OH, R² = R⁴ = H

La Solicitud de Estados Unidos con N° de Serie 10/167.106 presentada el 11 de junio de 2002 titulada "4'-Substituted

Nucleoside Derivatives as Inhibitors of HCV RNA Replication ("Derivados Nucleosídicos 4'-Sustituidos como Inhibidores de la Replicación de ARN de VHC") y la Solicitud de Estados Unidos N° 10/717.260 presentada el 19 de noviembre de 2003 desvela compuestos relacionados con la presente invención.

5 Y.-H. Yun y col. (Arch. Pharm. Res. 1985 18(5):364-35) desvelan la síntesis y actividad antiviral de 4'-azido-2'-desoxi-2'-fluoro-arabinofuranosil nucleósidos (**9**: R = H, Me y Cl).



B = adenina, uracilo, timina

G. S. Jeon y V. Nair (Tetrahedron 1996 52(39):12643-50) desvelan la síntesis de 4'-azidometil-2',3'-desoxirribonucleósidos **10** (B = adenina, timina y uracilo) como inhibidores de la transcriptasa inversa de VIH.

10 Se han presentado varios estudios computacionales de 4'-azidonucleósidos: D. Galisteo y col., J. Mol. Struct. 1996 384(1):25-33; J. Pepe y col., Eur. J. Med. Chem. 1996 32(10):775-786; E. Estrada y col., In silico studies toward the discovery of New Anti HIV Nucleoside, J. Chem. Info. Comp. Sci. 2002 42(5):1194-1203.

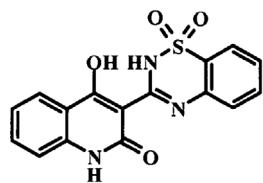
15 1. Sugimoto y col. desveló la síntesis y el bioensayo en VIH y *H. simplex* de 4'-etil-2'-desoxicitidina (**11**) y otros sustituyentes de dos carbonos en la posición 4' (Nucleosides and Nucleotides. 183. Synthesis of 4' β -Branched Thymidines as a New Type of Antiviral Agent, Bioorg. Med. Chem. Lett. 1999 9:385-88). T. Wada y col. (Nucleosides & Nucleotides 1996 15(1-3):287-304) desvelan la síntesis y actividad anti-VIH de 4'-C-metil nucleósidos.

20 En el documento WO 01/32153 publicado el 10 de mayo de 2001, R. Storer desvela procedimientos para tratar o prevenir la infección por virus *Flaviviridae* mediante la administración de análogos de nucleósidos de dioxolano. En el documento WO 02/18404 publicado el 7 de marzo de 2002, R. Devos y col. desvelan derivados de nucleósidos de purina y pirimidina nuevos y conocidos y su uso como inhibidores de la replicación de VHC subgenómico y composiciones farmacéuticas que contienen dichos derivados de nucleósidos. Los compuestos desvelados consisten en nucleósidos con bases de purina y pirimidina sustituidas.

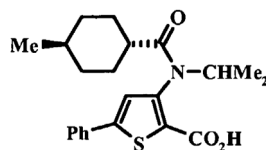
25 La Publicación EPA N° 0 352 248 desvela un amplio género de nucleósidos de L-ribofuranosil purina para el tratamiento de VIH, herpes y hepatitis. Se encuentra una memoria descriptiva similar en el documento WO 88/09001, presentado por Aktiebolaget Astra.

K. Kitano y col. (Tetrahedron 1997 53(39):13315-13322) desvelan la síntesis de 4'-fluorometil 2-desoxi-D-eritro-, ribo- y arabino-pentofuranosil citosinas y la actividad antineoplásica.

30 Ciertos inhibidores alostéricos no nucleosídicos de la transcriptasa inversa de VIH han resultado ser productos terapéuticos eficaces solos y en combinación con inhibidores nucleosídicos y con inhibidores de proteasa. Se han descrito varias clases de inhibidores de NS5B de VHC no nucleosídicos y actualmente están en diversas fases de desarrollo incluyendo: bencimidazoles (H. Hashimoto y col., documento WO 01/47833, H. Hashimoto y col., documento WO 03/000254, P. L. Beaulieu y col., documento WO 03/020240 A2; P. L. Beaulieu y col., documento US 6.448.281 B1; P. L. Beaulieu y col., documento WO 03/007945 A1); indoles, (P. L. Beaulieu y col., documento WO 03/0010141 A2); benzotiadiazinas, por ejemplo, 1, (D. Dhanak y col. documento WO 01/85172 A1, presentado con fecha 10/5/2001; D. Chai y col., documento WO 2002098424, presentado con fecha 7/6/2002, D. Dhanak y col., documento WO 03/037262 A2, presentado con fecha 28/10/2002; K. J. Duffy y col., documento WO 03/099801 A1, presentado con fecha 23/5/2003, M. G. Darcy y col., documento WO 2003059356, presentado con fecha 28/10/2002; D. Chai y col., documento WO 2004052312, presentado con fecha 24/6/2004, D. Chai y col., documento WO 2004052313, presentado 12/13/2003; D. M. Fitch y col., documento WO 2004058150, presentado con fecha 11/12/2003; D. K. Hutchinson y col., documento WO 2005019191, presentado con fecha 19/8/2004; J. K. Pratt y col., documento WO 2004/041818 A1, presentado con fecha 10/31/2003);



1



2

5 tiofenos, por ejemplo, **2**, (C. K. Chan y col., documento WO 02/100851 A2); benzotiofenos (D. C. Young y T. R. Bailey, documento WO 00/18231); β -cetopiruvatos (S. Attamura y col., documento US 6.492.423 B1, A. Attamura y col., documento WO 00/06529); pirimidinas (C. Gardelli y col., documento WO 02/06246 A1); pirimidinadionas (T. R. Bailey y D. C. Young, documento WO 00/13708); triazinas (K.-H. Chung y col., documento WO 02/079187 A1); derivados de rodamina (T. R. Bailey y D. C. Young, documento WO 00/10573, J. C. Jean y col., documento WO 01/77091 A2); 2,4-dioxopiranos (R. A. Love y col., documento EP 256628 A2); derivados de fenilalanina (M. Wang y col., J. Biol. Chem. 2003 278:2489-2495). Se han descrito tiazinas que inhiben la NS5B de VHC por J. F. Blake y col. en la Publicación de Estados Unidos N° 20060040927 presentada el 22 de agosto de 2005.

10 También se han desvelado inhibidores de la proteasa de VHC necesarios para la replicación viral (F. McPhee y col., Drugs of the Future 2003 28(5):465-488; Y. S. Tsanztrizos y col., Angew. Chem. Int. Ed. Eng. 2003 42(12):1356-1360). Un compuesto nucleosídico de la presente invención puede usarse en combinación con estos y otros inhibidores de polimerasa y proteasa.

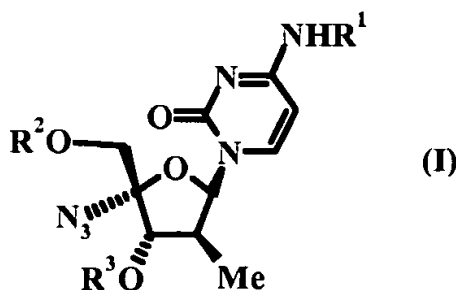
15 Se ha revisado el resultado de estos esfuerzos (J. Z. Chen y Z. Hong, Targeting NS5B RNA-Dependent RNA Polymerase for Anti-HCV Chemotherapy, Curr. Drug Targ. Inf. Dis. 2003 3(3):207-219). Los inhibidores no nucleosídicos no están relacionados con la presente invención.

El objeto de la presente invención es proporcionar nuevos compuestos nucleosídicos y composiciones para el tratamiento de un huésped infectado por el virus de la hepatitis C.

20 Actualmente no hay ningún tratamiento preventivo del virus de la hepatitis C (VHC) y las terapias aprobadas actualmente, que existen sólo contra VHC, son limitadas. Es esencial el diseño y desarrollo de nuevos compuestos farmacéuticos.

25 Sorprendentemente, la 2'-desoxi-2'- β -metil-4'-azido-citidina o ésteres de la misma son útiles para tratar VHC y presentan menor toxicidad después de la administración a un huésped. La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas del compuesto y al menos un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable.

30 La terapia de combinación ha resultado útil para el tratamiento de enfermedades virales y nuevos compuestos sinérgicos con otros productos terapéuticos para VHC aprobados y de investigación y la presente invención permiten el tratamiento de VHC con nucleósidos de la fórmula general desvelada anteriormente, o una sal farmacéuticamente aceptable, en combinación o alternativamente con uno o más agentes antivirales eficaces adicionales o inmunomoduladores, incluyendo opcionalmente al menos un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable.



(I)

La presente invención proporciona un nucleósido de acuerdo con la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un huésped infectado con VHC, en la que:

35 R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, COR^4 , $C(=O)OR^4$ y $C(=O)CHR^5NHR^6$;

R^4 se selecciona independientemente del grupo R^4 que consiste en (a) alquilo C_{1-18} ramificado o no ramificado, (b) haloalquilo C_{1-18} , (c) cicloalquilo C_{3-8} , (d) heteroalquilo C_{1-10} y (e) fenilo, estando dicho fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres grupos seleccionados independientemente de alquilo C_{1-3} , alcoxi C_{1-3} , halógeno, ciano o nitro;

5 R^5 es hidrógeno, alquilo C_{1-10} , fenilo o fenilalquilo C_{1-3} , estando dicho fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres grupos seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, alcoxi C_{1-3} , alquilo C_{1-3} , ciano y nitro;

R^6 es hidrógeno o alcoxi C_{1-6} ; o,

sales de adición de ácidos del mismo.

10 La presente invención también proporciona el uso de un nucleósido de acuerdo con la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable, opcionalmente en combinación con otros agentes antivirales eficaces y que opcionalmente incluye al menos un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de VHC en un huésped.

15 Sin desear quedar ligado a teoría alguna, se cree que los compuestos de la invención se fosforilan en serie en células humanas por quinasas dando el 5'-O-monofosfato, 5'-O-di fosfato y finalmente el 5'-O-trifosfato que es el metabolito antiviralmente activo. Otro aspecto de la invención, por lo tanto, proporciona estas especies 5'-O fosforiladas, es decir, compuestos de fórmula I en la que R^1 y R^3 son H y R^2 es un éster de monofosfato, difosfato o trifosfato.

20 La actividad antiviral de un inhibidor nucleosídico típicamente es el resultado combinado de la captación del nucleósido en las células huésped, la conversión del nucleósido en el trifosfato activo, la estabilidad intracelular del trifosfato y la capacidad del trifosfato de interferir con la actividad de síntesis de ARN de la polimerasa viral. Como se presenta en los ejemplos biológicos más adelante, los compuestos de la invención se fosforilan fácilmente *in vivo* para dar el trifosfato activo y tienen una larga semivida de trifosfato intracelular, permitiendo de esta manera concentraciones altas y sostenidas de las especies antiviralmente activas.

25 En una realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son como se han definido anteriormente en el presente documento; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La expresión "como se ha definido anteriormente en este documento" se refiere a la definición más amplia para cada grupo como se proporciona en la definición de la fórmula I dada anteriormente. En otras realizaciones que se proporcionan a continuación, los sustituyentes presentes en cada realización que no se definen explícitamente conservan la definición más amplia que se proporciona en el Sumario de la Invención.

30 En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 , R^2 y R^3 son hidrógeno; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 y R^3 son H y R^2 es un éster de monofosfato, difosfato o trifosfato.

35 En otra realización más de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que cada uno de R^1 , R^2 y R^3 es independientemente hidrógeno, COR^4 o $C(=O)OR^4$ y R^4 es como se ha descrito anteriormente en el presente documento; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

40 En otra realización más de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que cada uno de R^1 , R^2 y R^3 es independientemente hidrógeno, COR^4 o $C(=O)OR^4$ y R^4 es alquilo C_{1-10} sin ramificar o ramificado, tal como alquilo inferior, especialmente metilo, etilo, i-propilo o t-butilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización más de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 es hidrógeno; R^2 y R^3 son COR^4 , o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

45 En otra realización más de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 es hidrógeno; R^2 y R^3 son COR^4 y R^4 es alquilo C_{1-10} sin ramificar o ramificado, tal como alquilo inferior, especialmente metilo, etilo, i-propilo o t-butilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Cuando un compuesto comprende dos restos R^4 , son típicamente iguales, para mayor comodidad de síntesis.

50 En otra realización más de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 y R^3 son hidrógeno; R^2 es COR^4 , $C(=O)OR^4$ o $COCH(R^5)NHR^6$; y R^4 , R^5 y R^6 son como se han definido anteriormente en el presente documento; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización más de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 y R^2 son hidrógeno; R^3 es COR^4 , $C(=O)OR^4$ o $COCH(R^5)NHR^6$; y R^4 , R^5 y R^6 son como se han definido anteriormente en el presente documento; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^2 es $COCH(R^5)NHR^6$, R^5 es *iso*-propilo, *iso*-butilo o *sec*-butilo y R^6 es hidrógeno. En una disposición preferida de esta realización, la configuración estérica del grupo R^5 es (S), es decir, R^2 es un resto de aminoácido L-alifático. R^1 en esta realización es típicamente H, mientras que R^3 es H o $COCH(R^5)NHR^6$, R^5 es *iso*-propilo, *iso*-butilo o *sec*-butilo y R^6 es hidrógeno. Cuando un compuesto tiene dos de dichos restos $COCH(R^5)NHR^6$, son típicamente el mismo aminoácido para mayor comodidad de síntesis.

10 En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^3 es $COCH(R^5)NHR^6$, R^5 es *iso*-propilo, *iso*-butilo o *sec*-butilo y R^6 es hidrógeno. En una disposición preferida de esta realización, la configuración estérica del grupo R^5 es (S), es decir R^3 es un resto de aminoácido L-alifático. R^1 en esta realización es típicamente H.

15 En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 y R^3 son hidrógeno; R^2 es COR^4 ; y R^4 es como se ha definido anteriormente en el presente documento; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 y R^3 son hidrógeno; R^2 es COR^4 ; y R^4 es como se ha definido anteriormente en el presente documento; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 y R^3 son hidrógeno; R^2 es COR^4 ; y R^4 es alquilo C_{1-10} sin ramificar o ramificado, tal como alquilo inferior, especialmente metilo, etilo, *i*-propilo o *t*-butilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son como se han definido anteriormente en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para tratar una enfermedad mediada por el Virus de la Hepatitis C (VHC).

En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 , R^2 y R^3 son hidrógeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para tratar una enfermedad mediada por el Virus de la Hepatitis C (VHC).

30 En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 es hidrógeno; cada uno de R^2 y R^3 es COR^4 ; R^4 se selecciona del grupo que consiste en alquilo C_{1-10} sin ramificar o ramificado; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para tratar una enfermedad mediada por el Virus de la Hepatitis C (VHC).

35 En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 y R^3 son hidrógeno; R^2 es COR^4 o $COCH(R^5)NHR^6$; R^4 se selecciona del grupo que consiste en alquilo inferior C_{1-10} sin ramificar o ramificado; R^5 y R^6 son como se han definido anteriormente en el presente documento; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para tratar una enfermedad mediada por el Virus de la Hepatitis C (VHC).

40 En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son como se han definido anteriormente en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para tratar una enfermedad mediada por el Virus de la Hepatitis C (VHC) a una dosis entre 1 y 100 mg/kg de peso corporal del paciente por día.

En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son como se han definido anteriormente en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para tratar una enfermedad mediada por el Virus de la Hepatitis C (VHC) por coadministración con al menos un modulador del sistema inmune y/o al menos un agente antiviral que inhibe la replicación del VHC.

45 En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son como se han definido anteriormente en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para tratar una enfermedad mediada por el Virus de la Hepatitis C (VHC) por coadministración con al menos un modulador del sistema inmune seleccionado entre interferón, interleucina, factor de necrosis tumoral o factor estimulante de colonias. Un experto en el campo de la medicina será consciente de que estas moléculas del sistema inmune pueden estar en su forma natural o pueden modificarse químicamente para conferir propiedades farmacocinéticas beneficiosas.

50

En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son como se han definido anteriormente en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para tratar una enfermedad mediada por el Virus de la Hepatitis C (VHC) por coadministración con un interferón o un interferón modificado químicamente.

5 En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son como se han definido anteriormente en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para tratar una enfermedad mediada por el Virus de la Hepatitis C (VHC) por coadministración con al menos otro agente antiviral.

10 En otra realización de la presente invención se proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son como se han definido anteriormente en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para tratar una enfermedad mediada por el Virus de la Hepatitis C (VHC) por coadministración con al menos otro inhibidor de proteasa de VHC, otro inhibidor nucleosídico de polimerasa de VHC, un inhibidor no-nucleosídico de polimerasa de VHC, un inhibidor de helicasa de VHC, un inhibidor de primasa de VHC o un inhibidor de la fusión de VHC.

15 En una realización de la presente invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son como se han definido anteriormente en el presente documento; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, mezclada con al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

20 En otra realización de la presente invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un comprimido obtenido por compresión de 500-1500 mg, que contiene un 35-75% en peso de un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son como se han definido anteriormente en el presente documento; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, estando constituido el resto por al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

25 En otra realización de la presente invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un comprimido obtenido por compresión de 500-1500 mg, que contiene un 40-60% en peso de un compuesto de acuerdo con la fórmula I en la que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son como se han definido anteriormente en el presente documento; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, estando constituido el resto por al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

30 La expresión "una" entidad, como se usa en el presente documento, se refiere a una o más de esa entidad; por ejemplo, un compuesto se refiere a uno o más compuestos, o al menos a un compuesto. Como tales, los términos "un" o "uno", "uno o más" y "al menos uno" pueden usarse de forma intercambiable en el presente documento.

La frase "como se ha definido anteriormente en el presente documento" se refiere a la primera definición para cada grupo como se ha proporcionado en la definición de la fórmula I.

35 Los términos "opcional" u "opcionalmente", como se usan en el presente documento, significan que un acontecimiento o circunstancia descrita puede ocurrir o no, y que la descripción incluye casos en los que se produce dicho acontecimiento o circunstancia y casos en los que no. Por ejemplo, "fenilo opcionalmente sustituido" significa que el fenilo puede estar o puede no estar sustituido y que la descripción incluye tanto fenilo sin sustituir como fenilo en el que hay sustitución.

40 Los compuestos de la presente invención pueden tener centros asimétricos localizados en la cadena lateral de un resto de éster carboxílico, amida o carbonato que producen diastereómeros cuando se unen al nucleósido. Se contemplan todos los estereoisómeros de una cadena lateral de los compuestos de la presente invención, tanto mezclados como en forma pura o sustancialmente pura. La definición de los compuestos de acuerdo con la invención abarca tanto enantiómeros de isómeros ópticos aislados como sus mezclas, incluyendo la forma racémica. El isómero óptico puro puede prepararse por síntesis estereoespecífica a partir de α -D-ribosa o la forma racémica puede resolverse por procedimientos físicos, tales como, por ejemplo, cristalización fraccionada, separación o cristalización de derivados diastereoméricos o separación por cromatografía en columna quiral. Los isómeros ópticos individuales pueden obtenerse a partir de los racematos por procedimientos convencionales, tales como, por ejemplo, formación de sal con un ácido ópticamente activo seguido de cristalización.

50 El término "alquilo", como se usa en el presente documento, indica un resto de hidrocarburo de cadena sin ramificar o ramificada que contiene de 1 a 18 átomos de carbono. El término "alquilo inferior" indica un resto de hidrocarburo de cadena sin ramificar o ramificada que contiene de 1 a 6 átomos de carbono. Los grupos alquilo inferior representativos incluyen metilo, etilo, propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *i*-butilo, *t*-butilo o pentilo.

- 5 Cuando el término "alquilo" se usa como un sufijo a continuación de otro término, como en "fenilalquilo" o "hidroxialquilo," se pretende que haga referencia a un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, que está sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados del otro grupo nombrado específicamente. Por lo tanto, por ejemplo, "fenilalquilo" se refiere a un grupo alquilo que tiene de uno a dos sustituyentes fenilo, y por lo tanto incluye bencilo, feniletilo y bifenilo. Un "alquilaminoalquilo" es un grupo alquilo que tiene de uno a dos sustituyentes alquilamino.
- 10 El término "haloalquilo", como se usa en el presente documento, indica un grupo alquilo de cadena sin ramificar o ramificada como se ha definido anteriormente en el que 1, 2, 3 o más átomos de hidrógeno están sustituidos con un halógeno. Son ejemplos 1-fluorometilo, 1-clorometilo, 1-bromometilo, 1-yodometilo, trifluorometilo, triclorometilo, tribromometilo, triyodometilo, 1-fluoroetilo, 1-cloroetilo, 1-bromoetilo, 1-yodoetilo, 2-fluoroetilo, 2-cloroetilo, 2-bromoetilo, 2-yodoetilo, 2,2-dicloroetilo, 3-bromopropilo o 2,2,2-trifluoroetilo.
- 15 El término "cicloalquilo", como se usa en el presente documento, indica un anillo carbocíclico saturado que contiene de 3 a 8 átomos de carbono, es decir, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo o ciclooctilo.
- 20 El término "cicloalquilalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere al radical R'R"-, en el que R' es un radical cicloalquilo como se define en el presente documento y R" es un radical alquileo como se define en el presente documento, entendiendo que el punto de unión del resto cicloalquilalquilo estará en el radical alquileo. Los ejemplos de radicales cicloalquilalquilo incluyen, pero sin limitación, ciclopropilmetilo, ciclohexilmetilo, ciclopentiletilo. Cicloalquil C₃₋₇-alquilo C₁₋₃ se refiere al radical R'R" en el que R' es cicloalquilo C₃₋₇ y R" es alquileo C₁₋₃ como se define en el presente documento.
- 25 El término "alquileo", como se usa en el presente documento, indica un radical hidrocarburo lineal saturado divalente de 1 a 8 átomos de carbono o un radical hidrocarburo ramificado saturado divalente de 3 a 8 átomos de carbono, a menos que se indique otra cosa. Los ejemplos de radicales alquileo incluyen, pero sin limitación, metileno, etileno, propileno, 2-metil-propileno, butileno, 2-etilbutileno.
- 30 El término "alqueno", como se usa en el presente documento, indica un radical de cadena de hidrocarburo sin sustituir [o sustituido] que tiene de 2 a 18 átomos de carbono, preferentemente de 2 a 4 átomos de carbono, y que tiene uno o dos dobles enlaces olefínicos, preferentemente un doble enlace olefínico. Son ejemplos vinilo, 1-propenilo, 2-propenilo (alilo) o 2-butenilo (crotilo).
- 35 El término "alquino", como se usa en el presente documento indica un radical de cadena de hidrocarburo sin sustituir que tiene de 2 a 18 átomos de carbono, [preferentemente de 2 a 4 átomos de carbono], y que tiene uno, o cuando sea posible dos, triples enlaces [preferentemente un triple enlace]. Son ejemplos etinilo, 1-propinilo, 2-propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo o 3-butinilo.
- 40 El término "alcoxi", como se usa en el presente documento, indica un grupo alquilo sin sustituir de cadena sin ramificar o ramificada en el que la parte "alquilo" es como se ha definido anteriormente, tal como metoxi, etoxi, *n*-propiloxi, *i*-propiloxi, *n*-butiloxi, *i*-butiloxi, *t*-butiloxi, pentiloxi, hexiloxi y heptiloxi, incluyendo sus isómeros. "Alcoxi inferior", como se usa en el presente documento, indica un grupo alcoxi con un grupo "alquilo inferior" como se ha definido previamente.
- 45 El término "alquiltio" o "tioalquilo", como se usa en el presente documento, indica un grupo (alquil)S- de cadena ramificada o sin ramificar en el que la parte "alquilo" es como se ha definido anteriormente. Son ejemplos metiltio, etiltio, *n*-propiltio, *i*-propiltio, *n*-butiltio, *i*-butiltio o *t*-butiltio.
- 50 Los términos "alquilsulfino" y "arilsulfino", como se usan en el presente documento, indican un grupo de fórmula -S(=O)R, en la que R es alquilo o arilo, respectivamente, y alquilo y arilo son como se definen en el presente documento. Los términos "alquilsulfonilo" y "arilsulfonilo", como se usan en el presente documento, indican un grupo de fórmula -S(=O)₂R, en la que R es alquilo o arilo, respectivamente, y el alquilo y el arilo son como se definen en el presente documento. El término "arilo", como se usa en el presente documento, indica un grupo aromático monocíclico o policíclico opcionalmente sustituido que comprende átomos de carbono e hidrógeno. Los ejemplos de los grupos arilo adecuados incluyen, pero sin limitación, fenilo y naftilo (por ejemplo, 1-naftilo o 2-naftilo).
- El término "acilo" ("alquilcarbonilo"), como se usa en el presente documento, indica un grupo de fórmula C(=O)R, en la que R es hidrógeno, un alquilo sin ramificar o ramificado que contiene de 1 a 7 átomos de carbono o un grupo fenilo.
- Los términos "alcoxycarbonilo" y "ariloxycarbonilo", como se usan en el presente documento, indican un grupo de fórmula -C(=O)OR en la que R es alquilo o arilo respectivamente y el alquilo y el arilo son como han definido en el presente documento.

El término halógeno representa flúor, cloro, bromo o yodo, preferentemente flúor, cloro o bromo.

La expresión "agente de acilación", como se usa en el presente documento, se refiere a un anhídrido, haluro de acilo u otro derivado activado de un ácido carboxílico. El término "anhídrido", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos de la estructura general $RC(O)-O-C(O)R$, en la que R es como se ha definido en el párrafo anterior. La expresión "haluro de acilo", como se usa en el presente documento, se refiere al grupo $RC(O)X$, en el que X es bromo o cloro. La expresión "derivado activado" de un compuesto, como se usa en el presente documento, se refiere a una forma reactiva transitoria del compuesto original que hace al compuesto activo en una reacción química deseada, en la que el compuesto original es sólo moderadamente reactivo o no reactivo. La activación se logra por formación de un derivado o un agrupamiento químico dentro de la molécula con un contenido de energía libre mayor que la del compuesto original, que hace a la forma activada más susceptible de reaccionar con otro reactivo. En el contexto de la presente invención, la activación del grupo carboxi es de particular importancia. La expresión agente de acilación, como se usa en el presente documento, incluye además reactivos que producen ésteres de carbonatos $OC(=O)OR^4$, en los que R^4 es como se ha definido anteriormente en el presente documento.

La expresión "grupo protector", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo químico que (a) previene que un grupo reactivo participe en una reacción química indeseada; y (b) que puede retirarse fácilmente después de que ya no se necesite la protección del grupo reactivo. Por ejemplo, el trialkilsililo es un grupo protector para una función hidroxilo primaria y un acetónido es un grupo protector para un diol vecinal.

En la representación gráfica de los compuestos proporcionados a lo largo de la presente solicitud, un enlace con forma de cuña cónica engrosada indica un sustituyente que está por encima del plano del anillo al que pertenece el carbono asimétrico (también nombrado β) y un enlace de cuña discontinuo indica un sustituyente que está por debajo del plano del anillo al que pertenece el carbono asimétrico (también designado α).

El término "combinación" o "terapia de combinación", como se usa en el presente documento, se refiere a la administración de una pluralidad de fármacos en un régimen terapéutico por administración concurrente o secuencial de los fármacos al mismo tiempo o en momentos distintos.

La expresión "interferón derivatizado químicamente", como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula de interferón unida covalentemente a un polímero que altera las propiedades físicas y/o farmacocinéticas del interferón. Una lista no limitante de dichos polímeros incluye homopolímeros de poli(óxido de alquileo) tales como polietilenglicol (PEG) o polipropilenglicol (PPG), polioles polioxi-etilenados, copolímeros de los mismos y copolímeros de bloque de los mismos, con la condición de que se mantenga la solubilidad en agua de los copolímeros de bloque. Un experto en la materia se dará cuenta de diversos enfoques para unir el polímero y el interferón (por ejemplo, véase A. Kozlowski y J. M. Harris J. Control. Release 2001 72(1-3):217-24). Una lista no limitante de $IFN\alpha$ derivatizado químicamente contemplada en la presente patente incluye peginterferón- α -2a (PEGASYS®) y peginterferón- α -2b (PEGINTRON®).

Los compuestos de fórmula I presentan tautomería. Los compuestos tautoméricos pueden existir en forma de dos o más especies interconvertibles. Los tautómeros prototrópicos resultan de la migración de un átomo de hidrógeno unido covalentemente entre dos átomos. Los tautómeros existen generalmente en equilibrio y los intentos de aislar un tautómero individual producen normalmente una mezcla cuyas propiedades físicas y químicas son coherentes con una mezcla de compuestos. La posición del equilibrio depende de características químicas de la molécula. Por ejemplo, en muchas cetonas y aldehídos alifáticos, tales como acetaldehído, predomina la forma ceto mientras que en fenoles, predomina la forma enol. Los tautómeros prototrópicos comunes incluyen tautómeros ceto/enol ($-C(=O)-CH_2 \rightleftharpoons -C(OH)=CH_2$), amida/ácido imídico ($-C(=O)-NH- \rightleftharpoons -C(OH)=N-$) y amidina ($-C(=NR)-NH- \rightleftharpoons -C(NHR)=N-$).

Los dos últimos son particularmente comunes en heteroarilos y anillos heterocíclicos y la presente invención abarca todas las formas tautoméricas de los compuestos.

Las abreviaturas usadas comúnmente incluyen: acetilo (Ac), azo-*bis*-isobutirilnitrilo (AIBN), atmósferas (Atm), *terc*-butoxicarbonilo (Boc), pirocarbonato de di-*terc*-butilo o anhídrido de boc (BOC_2O), bencilo (Bn), butilo (Bu), benciloxicarbonilo (CBZ o Z), carbonil diimidazol (CDI), 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octano (DABCO), 1,5-diazabicyclo[4,3,0]non-5-eno (DBN), 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (DBU), N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC), 1,2-dicloroetano (DCE), diclorometano (DCM), azodicarboxilato de dietilo (DEAD), azodicarboxilato de di-*iso*-propilo (DIAD), hidruro de di-*iso*-butilaluminio (DIBAL o DIBAL-H), di-*iso*-propiletilamina (DIPEA), N,N-dimetil acetamida (DMA), 4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP), N,N-dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDCI), etilo (Et), acetato de etilo (EtOAc), etanol (EtOH), éster etílico del ácido 2-etoxi-2H-quinolina-1-carboxílico (EEDQ), éter dietílico (Et_2O), O-(7-Azabenzotriazol-1-il)-N, hexafluorofosfato de N,N'-tetrametiluronio, ácido acético (HATU), (HOAc), 1-N-hidroxibenzotriazol (HOBt), cromatografía líquida de alta presión (HPLC), hexametil disilazano de litio (LiHMDS), metanol (MeOH), punto de fusión (pf), $MeSO_2$ - (mesilo o Ms), metilo (Me), acetonitrilo (MeCN), ácido *m*-cloroperbenzoico (MCPBA), espectro de masas (em), metil *t*-butil éter

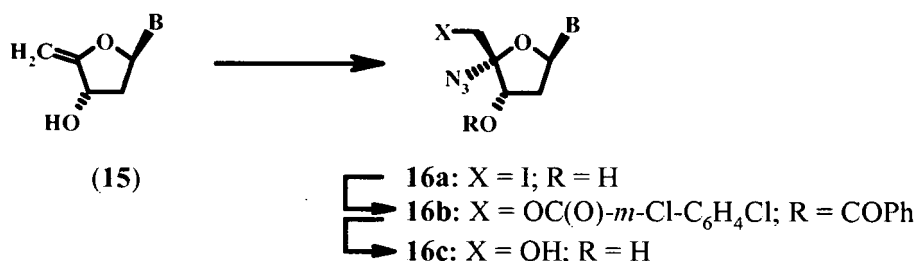
(MTBE), N-bromo-succinimida (NBS), N-carboxianhídrido (NCA), N-clorosuccinimida (NCS), N-metilmorfolina (NMM), N-metilpirrolidona (NMP), clorocromato de piridinio (PCC), dicromato de piridinio (PDC), fenilo (Ph), propilo (Pr), *iso*-propilo (*i*-Pr), newton por metro cuadrado (Pa), piridina (pyr), temperatura ambiente (ta o TA), *terc*-butildimetilsililo o *t*-BuMe₂Si (TBDMS), trietilamina (TEA o Et₃N), 2,2,6,6-tetrametilpiperidina 1-oxilo (TEMPO), triflato o CF₃SO₂⁻ (Tf), ácido trifluoroacético (TFA), cromatografía de capa fina (TLC), tetrahidrofurano (THF), trimetilsililo o Me₃Si (TMS), ácido *p*-toluenosulfónico monohidrato (TsOH o pTsOH), 4-Me-C₆H₄SO₂⁻ o tosilo (Ts), N-uretano-N-carboxianhídrido (UNCA). La nomenclatura convencional, incluyendo los prefijos *normal* (*n*), *iso* (*i*-), *secundario* (*sec*-), *terciario* (*terc*-) y *neo*, tiene su significado habitual cuando se usa con un resto alquilo. (J. Rigaudy y D. P. Klesney, Nomenclature in Organic Chemistry, IUPAC 1979 Pergamon Press, Oxford.).

Los compuestos de la presente invención pueden fabricarse por una diversidad de procedimientos representados en los esquemas sintéticos de reacción ilustrativos que se muestran y describen a continuación. Los materiales de partida y los reactivos usados en la preparación de estos compuestos están generalmente disponibles en proveedores habituales, tales como Aldrich Chemical Co., o se preparan por procedimientos conocidos por los expertos en la materia siguiendo procedimientos establecidos en referencias tales como Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis; Wiley & Sons: Nueva York, volúmenes 1-21; R. C. LaRock, Comprehensive Organic Transformations, 2ª edición Wiley-VCH, Nueva York 1999; Comprehensive Organic Synthesis, B. Trost e I. Fleming (Eds.) vol. 1-9 Pergamon, Oxford, 1991; Comprehensive Heterocyclic Chemistry, A. R. Katritzky y C. W. Rees (Eds) Pergamon, Oxford 1984, vol. 1-9; Comprehensive Heterocyclic Chemistry II, A. R. Katritzky y C. W. Rees (Eds) Pergamon, Oxford 1996, vol. 1-11; y Organic Reactions, Wiley & Sons: Nueva York, 1991, Volúmenes 1-40. Los siguientes esquemas de reacción sintéticos son meramente ilustrativos de algunos procedimientos mediante los cuales pueden sintetizarse los compuestos de la presente invención y pueden realizarse diversas modificaciones a estos esquemas de reacción sintéticos y se le ocurrirán al experto en la materia a la que se refiere la descripción contenida en esta Solicitud.

Los materiales de partida y los intermedios de los esquemas de reacción sintéticos pueden aislarse y purificarse, si se desea, usando técnicas convencionales que incluyen, pero sin limitación, filtración, destilación, cristalización, cromatografía y similares. Dichos materiales pueden caracterizarse usando medios convencionales que incluyen constantes físicas y datos espectrales.

A menos que se especifique lo contrario, las reacciones descritas en el presente documento preferentemente se realizan en una atmósfera inerte a presión atmosférica a un intervalo de temperaturas de reacción de aproximadamente -78°C a aproximadamente 150°C, más preferentemente de aproximadamente 0°C a aproximadamente 125°C, y aún más preferentemente y convenientemente a aproximadamente la temperatura de la sala (o ambiente), por ejemplo, aproximadamente a 20°C.

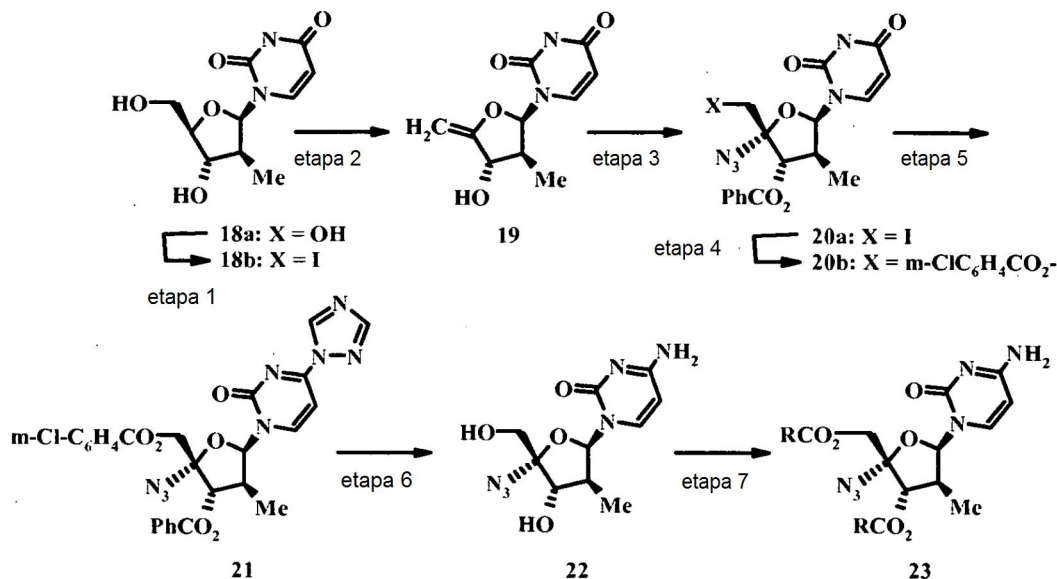
Mientras que se ha explorado la modificación química de las posiciones 2' y 3' de nucleósidos, la modificación de la posición 4' ha sido menos frecuente, más probablemente debido a los desafíos sintéticos añadidos asociados con su síntesis. Maag y col. (Anti-HIV Activity of 4'-Azido and 4'-Methoxynucleosides, J. Med Chem. 1992 35:1440-1451) describen la síntesis de 4'-azido-2-desoxirribonucleósidos y 4'-azido nucleósidos. C. O'Yang, y col. (Tetrahedron Lett. 1992 33(1): 37-40 y 33(1): 41-44) describen la síntesis de nucleósidos sustituidos con compuestos nucleosídicos de 4'-ciano, 4'-hidroximetilo y 4'-formilo. Estos compuestos se evaluaron como compuestos anti-VIH. Maag y col. (*supra*) enseñaron que pueden prepararse 4'-azido nucleósidos **16c** mediante la adición de yodo azida a nucleósidos de 5-metileno-tetrahidrofuran-2-ilo **15** en los que B es timina, uracilo, adenina o guanosina.



En la Publicación de Patente de Estados Unidos N° 20050038240, publicada el 17 de febrero de 2005, T. J. Connolly y col. describen un procedimiento mejorado para preparar 4'-azido nucleósidos. En el documento WO 02/100415, R. Devos y col. describen los nuevos derivados de nucleósido 4'-sustituidos que inhiben la ADN polimerasa viral NS5B del VHC. La adición de yodo azida se realiza de la manera más eficaz en las uridinas **15** (B = uracilo), que pueden convertirse en la correspondiente citidina utilizando el procedimiento descrito por A. D. Borthwick y col., (J. Med.

Chem. 1990 33(1):179; véase también K. J. Divakar y C. B. Reese J. Chem Soc., Perkin Trans. I 1982 1171-1176).

ESQUEMA A



Se prepara 4-amino-1-(5-azido-4-hidroxi-5-hidroxi-3-metil-tetrahidro-furan-2-il)-1H-pirimidin-2-ona (22) a partir de 1-(4-hidroxi-5-hidroxi-3-metil-tetrahidro-furan-2-il)-1H-pirimidin-2,4-diona (18a) (D. O. Cicero y col., "Stereoselective synthesis of novel analogs of 2'-deoxy- and 2',3'-dideoxynucleosides with potential antiviral activity", Bioorg. Med. Chem. Lett. 1994 4(7):861-6; A. Iribarren, documento EP547008 A1 titulado "Preparation of new (2'R)- and (2'S)-2'-deoxy-2'-C-hydrocarbonyl antisense oligonucleotides useful in scientific research, therapeutics and diagnostics", ("Preparación de nuevos oligonucleótidos antisentido de (2'R)- y (2'S)-2'-desoxi-2'-C-hidrocarbilo útiles en investigación científica, terapia y diagnóstico"), publicado el 16 de junio de 1993) usando el procedimiento de Maag y col. (véase anteriormente) (ESQUEMA A). La 4-amino-1-(5-azido-4-hidroxi-5-hidroxi-3-metil-tetrahidro-furan-2-il)-1H-pirimidin-2-ona (22) muestra buena actividad en una célula basándose en el ensayo de replicón para la actividad polimerasa de VHC (TABLA I). Además, el compuesto mostró bajos niveles de citotoxicidad en el ensayo.

TABLA 1

Compuesto	% Máximo de Inhibición de Pol de VHC (100 µM)	% Máximo de Citotoxicidad (100 µM)
22	98,58	9,48

Los derivados nucleosídicos con frecuencia son potentes agentes quimioterapéuticos antivirales (por ejemplo, VIH, VHC, Herpes simple, CMV) y anti-cancerosos. Desafortunadamente, su utilidad práctica con frecuencia está limitada por dos factores. En primer lugar, las malas propiedades farmacocinéticas con frecuencia limitan la absorción del nucleósido desde el intestino y la concentración intracelular de los derivados de nucleósido y, en segundo lugar, las propiedades físicas subóptimas restringen las opciones de formulación que podrían emplearse para mejorar la liberación del ingrediente activo.

Albert introdujo el término profármaco para describir un compuesto que carece de actividad biológica intrínseca pero que puede experimentar una transformación metabólica en la sustancia farmacéutica activa (A. Albert, Selective Toxicity, Chapman y Hall, London, 1951). Recientemente se han revisado profármacos (P. Ettmayer y col., J. Med Chem. 2004 47(10):2393-2404; K. Beaumont y col., Curr. Drug Metab. 2003 4:461-485; H. Bundgaard, Design of Prodrugs: Bioreversible derivatives for various functional groups and chemical entities in Design of Prodrugs, H. Bundgaard (ed) Elsevier Science Publishers, Amsterdam 1985; G. M. Pauletti y col. Adv. Drug Deliv. Rev. 1997 27:235-256; R. J. Jones and N. Bischofberger, Antiviral Res. 1995 27; 1-15 y C. R. Wagner y col., Med. Res. Rev. 2000 20:417-45). Aunque la transformación metabólica puede catalizarse por enzimas específicas, con frecuencia hidrolasas, el compuesto activo también puede regenerarse por procesos químicos no específicos.

Profármacos farmacéuticamente aceptables se refiere a un compuesto que se metaboliza, por ejemplo se hidroliza o se oxida, en el huésped para formar el compuesto de la presente invención. La bioconversión debe evitar la formación de fragmentos con predisposición toxicológica. Los ejemplos típicos de profármacos incluyen compuestos que tienen grupos protectores biológicamente lábiles unidos a un resto funcional del compuesto activo. En el diseño de pronucleótidos se han utilizado alquilación, acilación u otra modificación lipófila del grupo o grupos hidroxilo en el resto de azúcar. Estos polinucleótidos pueden hidrolizarse o desalquilarse *in vivo* para generar el compuesto activo.

Los factores que limitan la biodisponibilidad oral con frecuencia son la absorción desde el tracto gastrointestinal y la excreción de primer paso por la pared intestinal y el hígado. La optimización de la absorción transcelular a través del tracto GI requiere un valor de $D_{(7,4)}$ mayor de cero. La optimización del coeficiente de distribución, sin embargo, no

metabolismo intracelular en el enterocito puede dar como resultado un transporte pasivo o un transporte activo del metabolito, a través de bombas de salida, de nuevo al lumen intestinal. El profármaco también puede resistir las biotransformaciones indeseadas en la sangre antes de alcanzar las células diana o receptores.

Aunque los supuestos profármacos algunas veces pueden diseñarse de forma racional basándose en la funcionalidad química presente en la molécula, la modificación química de un compuesto activo produce una entidad molecular totalmente nueva que puede presentar propiedades físicas, químicas y biológicas indeseables ausentes en el compuesto parental. Los requisitos reguladores para la identificación de metabolitos pueden representar desafíos si múltiples rutas conducen a una pluralidad de metabolitos. De esta manera, la identificación de profármacos sigue siendo un ejercicio dudoso y desafiante. Además, la evaluación de las propiedades farmacocinéticas o de los profármacos potenciales es una tarea costosa y desafiante. Los resultados farmacocinéticos de modelos animales pueden ser difíciles de extrapolar a los seres humanos.

En la patente de Estados Unidos Nº 6.846.810 concedida el 25 de enero de 2005, J. A. Martin y col. han mostrado que se ha descubierto que 4'-azidonucleósidos acilados son profármacos eficaces. Pueden prepararse di-acil derivados 23 de 22 por acilación del nucleósido parental 22.

Los compuestos de la presente invención se preparan convenientemente en una etapa por acilación de 22 en un disolvente orgánico acuoso. El disolvente puede ser una solución acuosa homogénea o una solución de dos fases. El pH del disolvente orgánico acuoso se mantiene por encima de 7,5 por la adición de una base para neutralizar el ácido producido por la acilación. La base puede ser un hidróxido de metal alcalino o álcali o una amina terciaria. La reacción se realiza en presencia de DMAP que, como se sabe en la técnica, es un catalizador de acilación. Una ventaja del presente procedimiento es que el producto deseado puede obtenerse sin acilación de la base heterocíclica.

Como alternativa, la acilación se realiza convenientemente con un anhídrido o haluro de acilo correspondiente en un disolvente tal como DCM, cloroformo, tetracloruro de carbono, éter, THF, dioxano, benceno, tolueno, MeCN, DMF, solución de hidróxido sódico o sulfolano, opcionalmente en presencia de una base inorgánica u orgánica a temperaturas comprendidas entre -20 y 200°C, pero preferentemente a temperaturas comprendidas entre -10 y 160°C. La reacción de acilación también puede realizarse según Schotten Baumann en un medio bifásico orgánico-acuoso en presencia de catalizadores de transferencia de fase y DMAP.

Puede realizarse la acilación selectiva de los grupos hidroxilo. Como alternativa, el grupo N-acilo de un nucleósido de N,O,O-triacilo puede escindirse selectivamente con bromuro de cinc para producir el compuesto de diacilo protegido (R. Kierzek y col. *Tetrahedron Lett.* 1981 22(38): 3762-64).

La acilación selectiva de los grupos hidroxilo específicos en el radical carbohidrato puede realizarse convenientemente por acilaciones o desacilaciones catalizadas por enzimas. La catálisis enzimática proporciona condiciones selectivas suaves para las transformaciones orgánicas. S. M. Roberts ha revisado biotransformaciones preparativas (*J. Chem. Soc. Perkin 1*, 2001, 1475; 2000 611; 1999, 1; y, 1998 157). M. Mahmoudian y col. (*Biotechnol. Appl. Biochem.* 1999 29:229-233) notificó la acilación selectiva de la posición 5' de 2-amino-9-β-D-arabinofuranosil-6-metoxi-9H-purina con Novozyme 435, una preparación inmovilizada de la lipasa de *Candida antarctica*. Otras enzimas que, según se ha notificado, acilan selectivamente el 5'-hidroxilo incluyen: proteasa de *Bacillus licheniformis*, Lipozyme IM (lipasa de *Mucor miehei*, CLEC-BL (proteasa de *B. licheniformis*), savinasa (proteasa de *Bacillus sp.*), Novozyme-243 (proteasa de *Bacillus licheniformis*), lipasa y lipolasa de *Alcaligenes sp.* (Novo).

Se descubrió que la preparación enzimática Lipolase® (lipasa de *Thermomyces lanuginosus*, nº de catálogo de Sigma L 0777) hidroliza selectivamente el grupo 5'-acilo de triacil derivados para producir compuestos 2',3'-diacilados. En el documento WO 2004043994, G. G. Heraldsson y col. desvelan el uso de la lipasa de *T. lanuginosus* para la esterificación de aceites marinos. N. Weber y col. (*Eur. J. of Lipid Sci. and Technol.* 2003 105(10):624-626) desvelan la transesterificación catalizada por *T. lanuginosus* de oleato de metilo. V. Bodai y col. (*Adv. Synth. Cat.*

2003 345(6 y 7):811-818) describen nuevas hidrolasas procedentes de hongos filamentosos termófilos que pueden usarse para biotransformaciones selectivas.

Otros informes de hidrólisis enzimáticas regioselectivas de ésteres incluyen: R. Hanson y col., *Bioorg. and Med. Chem.* 2000, 2681-2687 (síntesis de un profármaco de lobucavir a través de acilación e hidrólisis regioselectiva); R. Pfau y col., *Syn Lett* 1999, 1817-1819 (hidrólisis selectiva de un éster de carbohidrato); A. Bianco y col., *J. of Mol. Cat. B: Enzymatic* 1997 209-212 (acilación e hidrólisis regioselectiva para la síntesis de derivados de ácido siálico); Y. Ota et. al., *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry* (1997), 166-167 (hidrólisis de éster regioselectiva de 1,2,3-trihexanolilglicerol); U. T. Bornscheuer y col., *Enzyme Microbial Technol.* 1995, 578-86 (síntesis catalizada por lipasa de monoacilglicerol; revisión); C. T. Goodhue y col., documento WO9403625 (procedimiento regioselectivo para la resolución de monoésteres de carbohidrato); N. W. Boaz, documento WO9115470 (Separación de mezcla de alcohol-éster por hidrólisis enzimática selectiva); Y. S. Sanghvi y col., documento US 2002142307 (hidrólisis regioselectiva de 3',5'-di-O-levulinilnucleósidos); J. Garcia y col. *J. Org. Chem.* 2002, 4513-4519 (hidrólisis regioselectiva de 3',5'-di-O-levulinilnucleósidos); O. Kirk y col. *BioCat and Biotransformation* (1995) 91-7 (acilación y desacilación regioselectivas catalizadas por lipasa de glucosa y derivados).

Un experto en la materia reconocerá que las esterificaciones selectivas también pueden realizarse por la metodología química convencional. Se ha descrito la protección selectiva del grupo 5'-hidroxilo que permitirá la esterificación directa del 2'-hidroxilo o, como alternativa, la incorporación de un segundo grupo protector que permitirá la desprotección y acilación selectiva del alcohol primario.

Los compuestos de la presente invención pueden formularse en una amplia diversidad de formas de dosificación de administración oral y vehículos. La administración oral puede estar en forma de comprimidos, comprimidos revestidos, cápsulas de gelatina dura y blanda, soluciones, emulsiones, jarabes o suspensiones. Los compuestos de la presente invención son eficaces cuando se administran por administración de supositorios, entre otras vías de administración. La manera de administración más conveniente generalmente es la oral, usando un régimen de dosificación diario conveniente que puede ajustarse de acuerdo con la gravedad de la enfermedad y la respuesta del paciente a la medicación antiviral.

Un compuesto o compuestos de la presente invención, así como sus sales farmacéuticamente utilizables, junto con uno o más excipientes, vehículos o diluyentes convencionales, puede ponerse en forma de composiciones farmacéuticas y dosificaciones unitarias. Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación unitarias pueden comprender ingredientes convencionales en proporciones convencionales, con o sin compuestos activos adicionales, y las formas de dosificación unitaria pueden contener cualquier cantidad eficaz adecuada del ingrediente activo en proporción al intervalo de dosificación diario a emplear. Las composiciones farmacéuticas pueden emplearse como sólidos tales como comprimidos o cápsulas rellenas, semisólidos, polvos, formulaciones de liberación sostenida o líquidos tales como suspensiones, emulsiones o cápsulas rellenas para uso oral; o en forma de supositorios para administración rectal o vaginal. Una preparación típica contendrá de aproximadamente un 5% a aproximadamente un 95% de compuesto o compuestos activos (p/p). La expresión "preparación" o "forma de dosificación" pretende incluir formulaciones tanto sólidas como líquidas del compuesto activo y un experto en la materia apreciará que un ingrediente activo puede existir en diferentes preparaciones dependiendo de la dosis deseada y de parámetros farmacocinéticos.

El término "excipiente", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto que se usa para preparar una composición farmacéutica, y generalmente es seguro, no tóxico y no es indeseable desde el punto de vista biológico o de otra manera, e incluye excipientes que son aceptables para uso veterinario así como para uso farmacéutico humano. Los compuestos de la presente invención pueden administrarse solos, pero generalmente se administrarán mezclados con uno o más excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticos adecuados seleccionados con respecto a la vía de administración deseada y la práctica farmacéutica convencional.

Una forma de "sal farmacéuticamente aceptable" de un ingrediente activo también puede conferir inicialmente una propiedad farmacocinética deseable al ingrediente activo que esté ausente en la forma que no es de sal, e incluso puede afectar positivamente a la farmacodinámica del ingrediente activo con respecto a su actividad terapéutica en el cuerpo. La frase "sal farmacéuticamente aceptable" de un compuesto, como se usa en presente documento, significa una sal que es farmacéuticamente aceptable y que posee la actividad farmacológica deseada del compuesto parental. Dichas sales incluyen: (1) sales de adición de ácidos, formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares; o formadas con ácidos orgánicos tales como ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido 4-clorobencenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido lauril sulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido salicílico, ácido mucónico y similares.

Debe entenderse que todas las referencias a sales farmacéuticamente aceptables incluyen formas de adición de disolventes (solvatos) o formas cristalinas (polimorfos) como se definen en el presente documento, de la misma sal de adición de ácidos.

5 Las preparaciones en forma sólida incluyen polvos, comprimidos, píldoras, cápsulas, supositorios y gránulos dispersables. Un vehículo sólido puede ser una o más sustancias que también pueden actuar como diluyentes, agentes saporíferos, solubilizantes, lubricantes, agentes de suspensión, aglutinantes, conservantes, agentes de disgregación de comprimidos o un material de encapsulación. En los polvos, el vehículo generalmente es un sólido finamente dividido que está mezclado con el componente activo finamente dividido. En los comprimidos, el
10 componente activo generalmente se mezcla con el vehículo que tiene la capacidad aglutinante necesaria en proporciones adecuadas y se compacta hasta obtener la forma y el tamaño deseados. Los vehículos adecuados incluyen, pero sin limitación, carbonato de magnesio, estearato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, pectina, dextrina, almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, una cera de bajo punto de fusión, manteca de cacao y similares. Las preparaciones en forma sólida pueden contener, además del componente activo,
15 colorantes, saporíferos, estabilizantes, tampones, edulcorantes artificiales y naturales, dispersantes, espesantes, agentes solubilizantes y similares.

Las formulaciones líquidas también son adecuadas para administración oral e incluyen formulaciones líquidas incluyendo emulsiones, jarabes, elixires y suspensiones acuosas. Éstas incluyen preparaciones en forma sólida que están destinadas a convertirse en preparaciones en forma líquida poco antes del uso. Las emulsiones pueden prepararse en soluciones, por ejemplo, en soluciones acuosas de propilenglicol, o pueden contener agentes
20 emulsionantes tales como lecitina, monooleato de sorbitano o goma arábiga. Las suspensiones acuosas pueden prepararse dispersando el componente activo finamente dividido en agua con un material viscoso, tal como gomas naturales o sintéticas, resinas, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y otros agentes de suspensión bien conocidos.

Los compuestos de la presente invención pueden formularse para administración como supositorios. Una cera de bajo punto de fusión, tal como una mezcla de glicéridos de ácidos grasos o manteca de cacao primero se funde y el componente activo se dispersa homogéneamente, por ejemplo, por agitación. La mezcla homogénea fundida después se vierte en moldes del tamaño conveniente, y se deja enfriar y solidificar.

Los compuestos de la presente invención pueden formularse para administración vaginal. Son apropiados supositorios vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o pulverizaciones que contienen, además del
30 ingrediente activo, dichos vehículos, como se conoce en la técnica.

Se describen formulaciones adecuadas junto con vehículos, diluyentes y excipientes farmacéuticos en Remington: The Science and Practice of Pharmacy 1995, editado por E. W. Martin, Mack Publishing Company, 19ª edición, Easton, Pennsylvania. Un científico de formulación experto puede modificar las formulaciones dentro de las enseñanzas de la memoria descriptiva para proporcionar numerosas formulaciones para una vía de administración particular sin hacer que las composiciones de la presente invención sean inestables o se comprometa su actividad
35 terapéutica.

La modificación de los presentes compuestos para hacer que sean más solubles en agua u otro vehículo, por ejemplo, puede conseguirse fácilmente por modificaciones minoritarias (por ejemplo, formulación de sales) que están bien dentro de la experiencia habitual en la técnica. También está bien dentro de la experiencia habitual en la técnica modificar la vía de administración y el régimen de dosificación de un compuesto particular para dirigir la farmacocinética de los presentes compuestos para conseguir efectos beneficiosos máximos en los pacientes.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, significa una cantidad necesaria para reducir los síntomas de la enfermedad en un individuo. La dosis se ajustará a los requisitos individuales en cada caso particular. Esta dosificación puede variar dentro de amplios límites dependiendo de
45 numerosos factores tales como la gravedad de la enfermedad a tratar, la edad y estado de salud general del paciente, otros medicamentos con los que se está tratando el paciente, la vía y forma de administración y las preferencias y experiencia del especialista médico implicado. Para la administración oral, una dosificación diaria comprendida entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 10 g al día debería ser apropiada en monoterapia y/o en terapia de combinación. Una dosificación diaria preferida está comprendida entre aproximadamente 0,5 y
50 aproximadamente 7,5 g al día, y una más preferida entre 1,5 y aproximadamente 6,0 g al día. Generalmente, el tratamiento se inicia con una gran "dosis de carga" inicial para reducir rápidamente o eliminar el virus seguido de una reducción de la dosis a un nivel suficiente para prevenir la reaparición de la infección. Un experto habitual en el tratamiento de enfermedades descritas en el presente documento podrá, sin experimentación indebida y basándose en el conocimiento personal, la experiencia y las divulgaciones de la presente solicitud, determinar una cantidad
55 terapéuticamente eficaz de los compuestos de la presente invención para una enfermedad y paciente dados.

La eficacia terapéutica puede determinarse a partir de ensayos de la función hepática que incluyen, pero sin limitación, niveles de proteína tales como proteínas del suero (por ejemplo, albúmina, factores de coagulación, fosfatasa alcalina, aminotransferasas (por ejemplo, alanina transaminasa, aspartato transaminasa), 5'-nucleosidasa, γ -glutamiltanspeptidasa, etc.), síntesis de bilirrubina, síntesis de colesterol y síntesis de ácidos biliares; la función metabólica hepática, incluyendo, pero sin limitación, el metabolismo de carbohidratos, metabolismo de aminoácidos y de amoníaco. Como alternativa, la eficacia terapéutica puede controlarse midiendo el ARN de VHC. Los resultados de estos ensayos permitirán optimizar la dosis.

El compuesto activo o la sal pueden administrarse en combinación con otro agente antiviral tal como ribavirina, otro inhibidor nucleosídico de la polimerasa de VHC, un inhibidor no nucleosídico de la polimerasa de VHC, un inhibidor de la proteasa de VHC, un inhibidor de la helicasa de VHC o un inhibidor de la fusión de VHC. Cuando el compuesto activo o su derivado o sal se administran en combinación con otro agente antiviral, la actividad puede aumentarse con respecto a la del compuesto parental. Cuando el tratamiento es la terapia de combinación, dicha administración puede ser concurrente o secuencial con respecto a la de los derivados nucleosídicos. "Administración concurrente", como se usa en el presente documento, de esta manera, incluye la administración de los agentes al mismo tiempo o en momentos diferentes. La administración de dos o más agentes al mismo tiempo puede conseguirse por una sola formulación que contiene dos o más ingredientes activos o mediante la administración sustancialmente simultánea de dos o más formas de dosificación con un sólo agente activo.

Se entenderá que las referencias en el presente documento al tratamiento se extienden a la profilaxis así como al tratamiento de las afecciones existentes. Además, el término "tratamiento" de una infección de VHC, como se usa en el presente documento, también incluye el tratamiento o profilaxis de una enfermedad o afección asociada o mediada por la infección por VHC, o los síntomas clínicos de la misma.

Ejemplo 1

Etapa 1 - Una solución de **18a** (2,17 g, 8,96 mmol, 1 equiv.), imidazol (732 mg, 10,7 mmol, 1,2 equiv.) y Ph_3P (2,82 g, 10,7 mmol, 1,2 equiv.) en THF seco (30 ml) se enfrió en un baño de hielo-agua y se añadió gota a gota una solución de yodo (2,50 g, 9,85 mmol, 1,1 equiv.) en THF seco (10 ml) durante 10 min. La mezcla de reacción se agitó a 0-5°C durante 10 minutos más. El baño de hielo-agua se retiró y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 70 h. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (200 ml) y se lavó con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,5 M en NaHCO_3 acuoso saturado (150 ml). La fase acuosa se lavó con DCM (4 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía sobre SiO_2 eluyendo con un gradiente por etapas de MeOH/DCM (1-5% v/v de MeOH), proporcionando 1,75 g (55%) de 18b: Datos de RMN ^1H (CDCl_3 , 25°C): δ 8,22 (s a, 1H), 7,59 (d, 1H), 6,19 (d, 1H), 5,75 (dd, 1H), 3,79 (m, 1H), 3,65 (m, 1H), 3,57 (dd, 1H), 3,47 (dd, 1H), 2,69 (m, 1H), 2,13 (d, 1H), 1,00 (d, 3H).

Etapa 2 - Una solución de 18b (1,84 g, 5,22 mmol) y metóxido sódico 0,4 M en MeOH (81 ml) se agitó a 60°C durante 5 h y después se enfrió en un baño de hielo-agua. La forma de piridinio DOWEX H^+ (preparada tratando DOWEX H^+ con piridina (10 ml/g de resina), filtrando y lavando con MeOH antes de su uso) se añadió en porciones hasta que el pH de la solución fue neutro (total 5-6 g). El baño de hielo-agua se retiró y la mezcla se agitó a TA durante 5 min. La resina se retiró por filtración y se lavó con MeOH (100 ml). El residuo se suspendió en EtOH al 6%/DCM, se aplicó una columna de SiO_2 y se eluyó con un gradiente de EtOH/DCM (EtOH al 6-7% en v/v), proporcionando 0,942 g (80%) de 19 lo suficientemente puro para su uso en la siguiente etapa.

Etapa 3 - Se suspendieron cloruro de benciltrietilamonio (1,91 g, 8,4 mmol, 2 equiv.) y azida sódica (546 mg, 8,4 mmol, 2 equiv.) en MeCN seco (32 ml) y la mezcla se sometió a ultrasonidos durante unos minutos. La suspensión fina resultante se agitó a TA durante 3 h y después se filtró en una atmósfera de N_2 en una solución en THF seco (30 ml) del compuesto 19 (942 mg, 4,2 mmol, 1 equiv.). Se añadió NMM (140 μl , 0,106 mmol, 0,3 equiv.) y la solución resultante se enfrió en un baño de hielo-agua, y se añadió gota a gota una solución de yodo (1,81 g, 7,14 mmol, 1,7 equiv.) en THF seco (39 ml) durante 1 h. La mezcla de reacción resultante se agitó a 0-5°C durante 2 h más. Se añadió N-acetil-L-cisteína (69 mg, 0,035 mmol, 0,1 equiv.) y la solución se agitó hasta que disminuyó el burbujeo. Se añadieron NMM (2,31 ml, 21,0 mmol, 5 equiv.) y DMAP (513 mg, 4,2 mmol, 1 equiv.) seguido de una adición gota a gota de cloruro de benzoilo (1,1 ml, 9,24 mmol, 2,2 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a 0-5°C durante 30 min y después se almacenó en un frigorífico durante una noche. Los análisis de TLC y CL-EM mostraron una reacción completa. Se añadió MeOH (5 ml) y, después de unos pocos minutos, el disolvente se concentró hasta la mitad del volumen en un evaporador rotatorio y después se añadió con agitación una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 M en NaHCO_3 acuoso saturado (300 ml) y la mezcla se calentó a TA. La mezcla se extrajo con DCM (150 ml) y la fase acuosa se extrajo dos veces con DCM (50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron. Después, la fase orgánica se extrajo con ácido cítrico al 5% y la fase acuosa se lavó dos veces con DCM (2 x 50 ml). Los extractos de DCM se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre SiO_2 eluyendo con un gradiente por etapas de EtOH/DCM (0, 0,5, 0,75, 1,0, 1,5 y

2,0% de EtOH), proporcionando 1,72 g (83%) de 20a: Datos de RMN ^1H (CDCl_3 , 25°C): δ 8,22-7,46 (7H), 6,49-6,39 (1H), 5,84 (dd, 1H), 5,55-5,47 (1H), 3,85 (d, 1H), 3,74 (d, 1H), 3,18 (m, 1H), 1,09 (d, 3H).

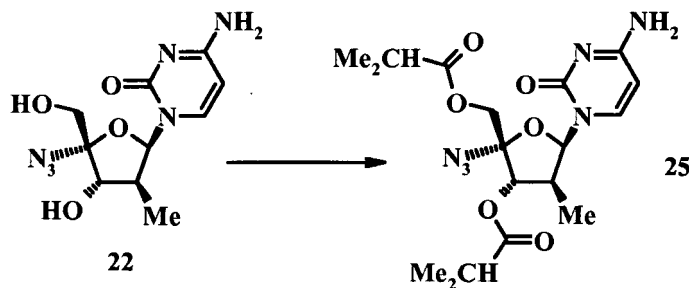
Etapa 4 - Se combinó una solución de compuesto 20a (1,72 g, 3,47 mmol, 1 equiv.) en DCM (155 ml) con una mezcla de $\text{Bu}_4\text{N HSO}_4$ (825 mg, 2,43 mmol, 0,7 equiv.) y ácido *m*-clorobenzoico (359 mg, 2,29 mmol, 0,66 equiv.) en K_2HPO_4 acuoso 1,75 M (55 ml). El sistema de dos fases se agitó vigorosamente a TA y se añadieron dos porciones de una mezcla de reactivos disponible en el mercado que contenía MCPBA al 55%, ácido *m*-clorobenzoico al 10% y H_2O al 35% (2 x 3,57 g, correspondientes a 2 x 16,5 mmol o 2 x 3,28 equiv. de MCPBA y 2 x 3,3 mmol o 2 x 0,66 equiv. de ácido *m*-clorobenzoico) durante un intervalo de 1,5 h. La mezcla se agitó vigorosamente a TA durante 18 h más. El análisis CL-EM mostró >96% de reacción. Se añadió una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (35 g) en NaHCO_3 acuoso saturado (500 ml) y la mezcla se agitó vigorosamente a TA durante 30 min. La fase orgánica se separó y la fase acuosa se lavó con DCM (2 x 10 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO_3 acuoso saturado (40 ml). La fase de NaHCO_3 acuoso se lavó con DCM (2 x 10 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía sobre SiO_2 , eluyendo con un gradiente de EtOH/DCM (EtOH al 1-2% en v/v), proporcionando 1 g (56%) de 20b: RMN ^1H (CDCl_3 , 25°C): δ 8,19 (s a, 1H), 8,07-7,88 (4H), 7,65-7,36 (6H), 6,57-6,45 (1H), 5,64 (dd, 1H), 5,51-5,42 (1H), 4,80 (m, 2H), 3,24 (m, 1H), 1,09 (d, 3H).

Etapa 5 - El diéster 20b (100 mg, 0,19 mmol, 1 equiv.) y 1,2,4-triazol (131 mg, 1,9 mmol, 10 equiv.) se coevaporaron en piridina seca y se redisolvieron en piridina seca (1 ml). La solución se enfrió en un baño de hielo-agua y se añadió gota a gota una solución de POCl_3 (44 μl , 0,475 mmol, 2,5 equiv.) en MeCN (0,5 ml) durante unos pocos minutos. La mezcla de reacción se agitó a 0-5°C durante 5 min más y después se agitó a TA durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró a la mitad del volumen en un evaporador rotatorio y después se trató con NH_3 saturado en etanol (20 ml) y la solución resultante se agitó a TA durante una noche. Después de la evaporación, el residuo se purificó por cromatografía sobre SiO_2 , eluyendo con un gradiente por etapas de EtOH/DCM (6, 10, 15 y 20% en v/v de EtOH), proporcionando 0,036 g (66%) de 22, que tenía una pureza del 98% según el análisis por CLEM (~2,0% de isómero 2' contaminante).

Esta reacción se repitió con 900 mg del compuesto **20b**, dando como resultado 270 mg (54%, 97% de pureza) de **22** después de la cromatografía: RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 25°C): δ 7,69 (d, 1H), 7,14 (d, 2H), 6,32 (s a, 1H), 5,72 (d, 1H), 5,78 (s a, 2H), 3,89 (s a, 1H), 3,74 (d,d,d, 2H), 2,54 (m, 1H), 0,77 (d, 3H).

Ejemplo 2

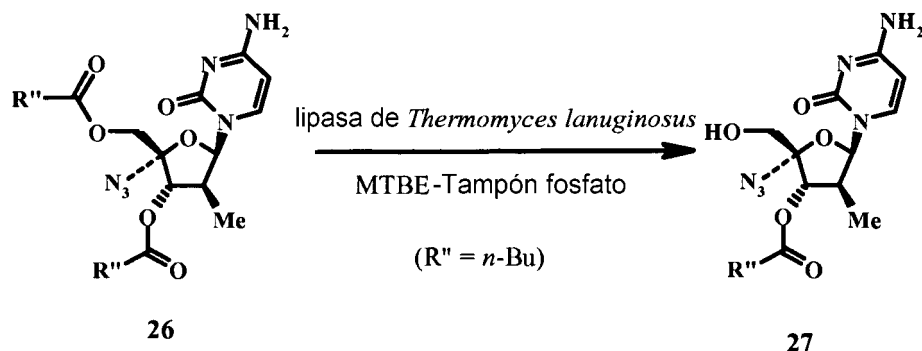
(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-il)-2-isobutiriloximetil-2-azido-4-metil-tetrahidro-furan-3-il éster del ácido isobutírico (25)



El pH de una solución de **22** (0,700 g, 2,48 mmol) en THF (7 ml) y salmuera diluida (7 ml) se ajustó con KOH acuoso diluido a aprox. 11. Se añadió lentamente (gota a gota) cloruro de isobutirilo (1,0 g) a la mezcla de reacción bifásica agitada enfriada con hielo, mientras el pH se mantenía a un pH de aproximadamente 11 añadiendo KOH acuoso diluido cuando fue necesario. El alcance de la reacción se controló por HPLC. Se añadió 1 equiv. más de cloruro de isobutirilo y el análisis por HPLC indicó que la reacción casi se había completado. La mezcla de reacción se dejó en reposo durante una noche a TA. La solución se diluyó con EtOAc (50 ml) y el pH de la fase acuosa se ajustó a aprox. 7,5 con HCl conc. Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó tres veces con agua y se evaporó a sequedad para obtener **25**.

Ejemplo 3

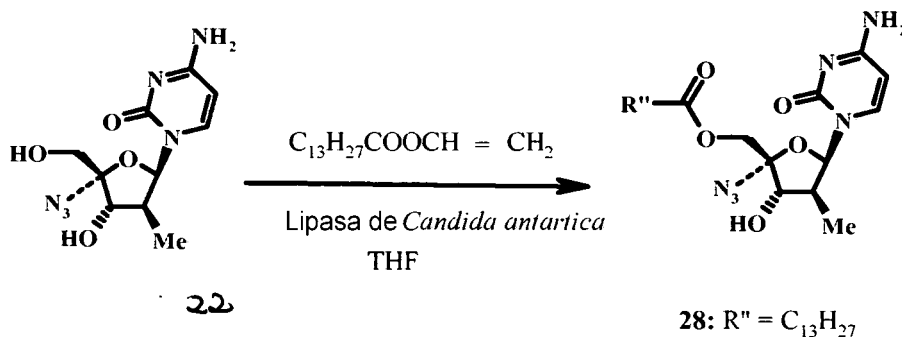
(2R,3S,4S,5R)-5-(4-Amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-il)-2-azido-4-hidroxi-2-hidroximetil-tetrahidro-furan-3-il éster del ácido pentanoico (**27**)



5 A una suspensión del éster de dipentanoato 26 (R'' = *n*-C₄H₉, 1,9 g, 3,46 mmol) en MTBE (13 ml) y tampón fosfato (15 ml, fosfato sódico 5 mM y NaCl 0,1 M ajustado a un pH aproximado de 6,5) se le añadió Lipolase® (aproximadamente 2 ml) (lipasa de *Thermomyces Lanuginosus*, número de catálogo Sigma L 0777). La mezcla de
 10 reacción se calentó a 35°C y se agitó durante 2 h. El pH de la mezcla de reacción se mantuvo a 6,5 mediante la adición de NaHCO₃. Después de 2 h, la reacción continuó hasta que se completó en un 8%. Se añadieron 2 ml más de Lipolase® y la agitación se continuó durante 6 h, después de lo cual se añadió una alícuota adicional de 2 ml de la enzima y la reacción se agitó durante 24 h más. A la solución se le añadió acetona (10 ml), MTBE (20 ml) y salmuera (10 ml) y la reacción se calentó a 50°C. Las fases se separaron y la fase orgánica se extrajo dos veces con MTBE caliente. Las fases orgánicas combinadas se lavaron dos veces con salmuera caliente, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron al vacío.

Ejemplo 4

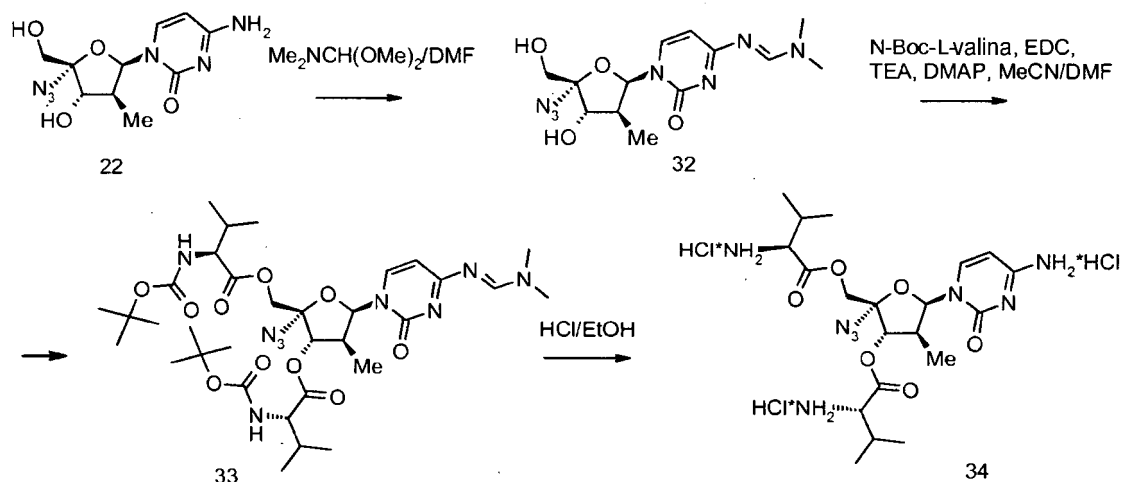
(2R,3S,4S,5R)-5-(4-amino-2-oxo-2H-pirimidin-1-il)-2-azido-3-butiriloxi-4-metil-tetrahidro-furan-2-ilmetil éster del ácido tetradecanoico (28).



15 Una suspensión de 22 (1,0 g, 3,52 mmol), miristato de vinilo (1,2 g, 4,57 mmol), lipasa de *Candida antartica* inmovilizada sobre resina de poliácido (0,30 g; N° de catálogo de Sigma L4777 de Novosoma) y THF (20 ml) se calentó a 60°C durante una noche. El análisis por HPLC indicó que la reacción se había completado aproximadamente en un 33% y se añadieron 2,4 ml más de miristato de vinilo y 0,3 g de lipasa. Después de 48 h
 20 más, la reacción se había completado en un 50% y se añadieron 0,3 g más de enzima y 3 ml de miristato de vinilo. Después de aproximadamente 80 h (tiempo de reacción total), se completó la conversión en el monoéster. La mezcla de reacción en bruto se filtró a través de CELITE® y el lecho de filtro se lavó con THF. La fase orgánica combinada se evaporó. El residuo se disolvió en MeOH (50 ml) y se extrajo con hexano (2 x 20 ml). La solución metanólica se evaporó y el residuo se disolvió en EtOAc, se lavó con NaHCO₃ y la fase de EtOAc se secó (Na₂SO₄), se filtró y se
 25 evaporó, proporcionando 0,930 g de 28 (R'' = C₁₃H₂₇) que se purificó por cromatografía sobre SiO₂ eluyendo con un gradiente de MeOH/DCM (MeOH del 0 al 10%).

Ejemplo 5

3',5'-O-bis(L-valinil)-4'-azido-2'-β-C-metil-2'-desoxicidina (34)



N-[(Dimetilamino)metileno]-4'-azido-2'-β-*C*-metil-2'-desoxicitidina (**32**).

Una solución de **22** (1,81 g, 6,42 mmol) en DMF (30 ml) se trató con dimetilformamida dimetilacetil (8,2 ml, 61,73 mmol) y se agitó durante 1,5 h a temperatura ambiente. La solución se evaporó a presión reducida y se coevaporó con etanol. La cristalización en etanol/éter produjo el compuesto del título **32**.

3',5'-*O*-bis[*N*-(*tert*-Butoxicarbonil)-*L*-valinil]-*N*⁴-[(dimetilamino)metileno]-4'-azido-2'-β-*C*-metil-2'-desoxicitidina (**33**).

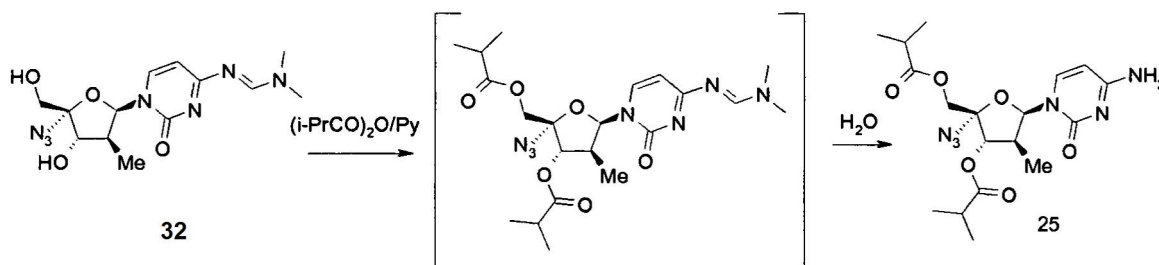
A una solución de **32** (1,26 g, 3,74 mmol) en una mezcla de acetonitrilo seco (30 ml) y DMF (15 ml) se le añadió sucesivamente Boc-Val-OH (1,62 g, 7,48 mmol), EDC (1,43 g, 7,48 mmol), TEA (1,04 ml, 7,48 mmol) y DMAP (0,1 g). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente. El progreso de la reacción se siguió por HPLC y la mezcla de reacción se recargó con Boc-Val-OH (0,63 g), EDC (0,72 g), TEA (0,52 ml) y DMAP (0,05 g). Después de que se consumiera totalmente el material de partida, el disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se recogió en acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera. La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice (gradiente del 5-40% de EtOAc en Hexano) dio el compuesto del título **33**.

3',5'-*O*-bis(*L*-valinil)-4'-azido-2'-β-*C*-metil-2'-desoxicitidina (sal triclóridrato, **34**).

A una solución concentrada de **33** (1,6 g, 2,17 mmol) en EtOH se le añadieron lentamente 13 ml de HCl 1 M en EtOH. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente y se diluyó con éter. El precipitado se filtró y se lavó con éter para dar el compuesto del título **34** en forma de su sal triclóridrato.

Ejemplo 6

Preparación alternativa de 3',5'-*O*-bis(isobutilil)-4'-azido-2'-β-*C*-metil-2'-desoxicitidina. ((2*R*,3*S*,4*S*,5*R*)-2-(4-amino-2-oxo-2*H*-pirimidina-1-il)-2-isobutililoximetil-2-azido-4-metil-tetrahidrofurano-3-il éster del ácido isobutírico) (**25**).



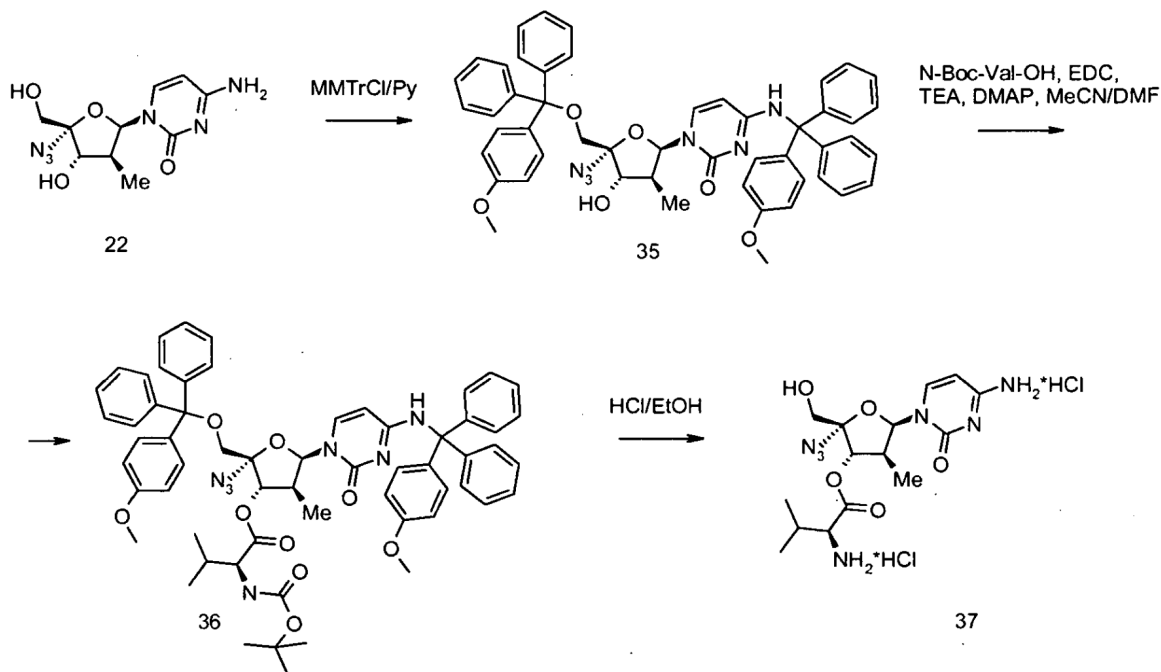
3',5'-*O*-bis(isobutilil)-4'-azido-2'-β-*C*-metil-2'-desoxicitidina (**25**).

A una solución de **32** (1,26 g, 3,74 mmol) en piridina seca (25 ml) se le añadió anhídrido isobutírico (1,77 g, 11,2 mmol) a 0°C. La reacción se siguió por HPLC y, cuando se completó, se interrumpió con agua para destruir el exceso de anhídrido isobutírico y retirar la protección *N*⁴. Los disolventes se evaporaron a presión reducida y se coevaporaron con etanol. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se lavó con NaHCO₃ y salmuera. La purificación

por cromatografía en columna sobre gel de sílice (gradiente del 10-40% de EtOAc en hexano) produjo el compuesto del título **25**

Ejemplo 7

4'-Azido-3'-O-(L-valinil)-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina (37)



5

$N^1,5'$ -O-bis(monometoxitritil)-4'-azido-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina (35).

Una mezcla de 22 (2,82 g, 10 mmol) y MMTrCl (9,15 g, 30 mmol) en piridina (50 ml) se agitó durante una noche a 80°C. Después de la adición de MeOH (5 ml) y agitación durante 2 h más, el disolvente se evaporó y el residuo se dividió entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera y se evaporó. La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice (0-5% MeOH en DCM) proporcionó el compuesto del título 35.

10

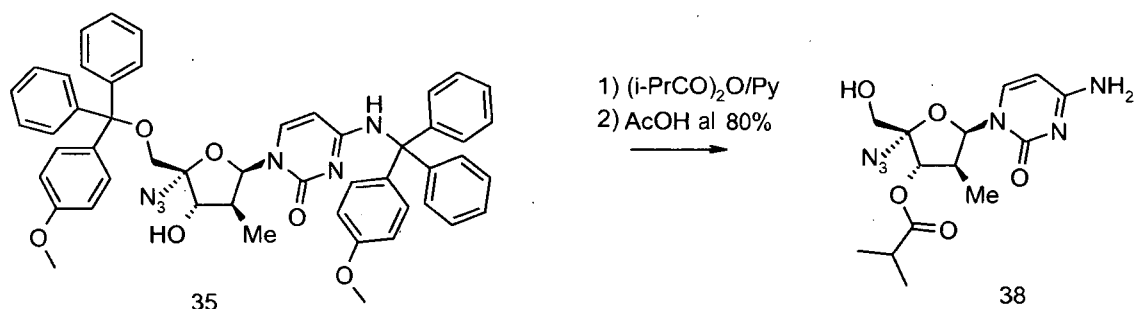
$N^1,5'$ -O-bis(monometoxitritil)-4'-azido-3'-[N-(*tert*-Butoxicarbonil)-L-valinil]-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina (36).

A una solución de 35 (3,09 g, 3,74 mmol) en una mezcla de acetonitrilo seco (30 ml) y DMF (15 ml) se le añadieron sucesivamente Boc-Val-OH (0,81 g, 3,74 mmol), EDC (0,72 g, 3,74 mmol), TEA (0,52 ml, 3,74 mmol) y DMAP (0,07 g). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente. El progreso de la reacción se siguió por HPLC y la mezcla de reacción se recargó con Boc-Val-OH (0,4 g), EDC (0,36 g), TEA (0,26 ml) y DMAP (0,04 g). Cuando el material de partida se consumió por completo, el disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se recogió en acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera. La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice (gradiente del 5-40% de EtOAc en Hexano) dio el compuesto del título **36**.

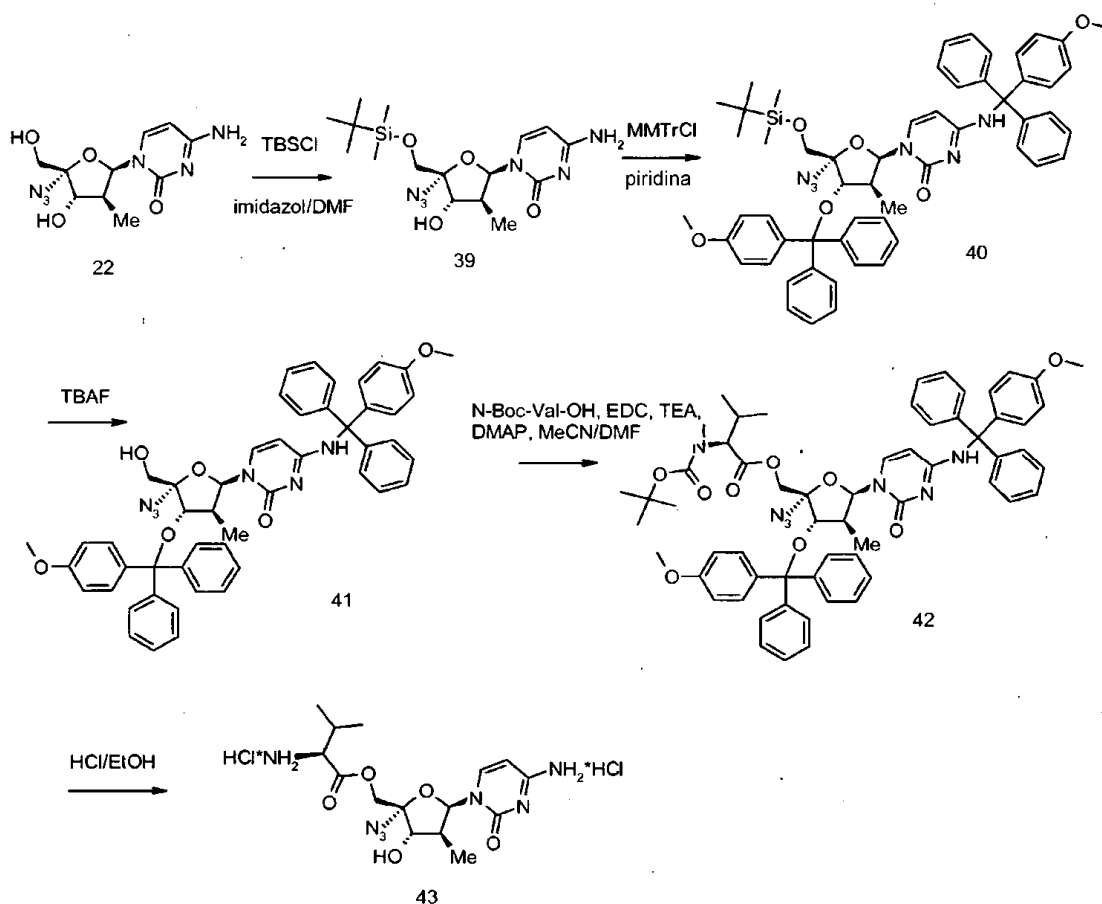
15

4'-Azido-3'-O-(L-valinil)-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina (sal diclorhidrato, 37). A una solución concentrada de 36 (2,4 g, 2,34 mmol) en EtOH se le añadieron lentamente 13 ml de HCl 1 M en EtOH. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente y se diluyó con éter. El precipitado se filtró y se lavó con éter para dar el compuesto del título (37) en forma de la sal clorhidrato.

20

Ejemplo 84'-Azido-3'-O-isobutiril -2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina (**38**).4'-Azido-3'-O-isobutiril -2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina (**38**).

- 5 A una solución de 35 (3,09 g, 3,74 mmol) en piridina seca (25 ml) se le añadió anhídrido isobutírico (0,89 g, 5,61 mmol) a 0°C. La reacción se siguió por HPLC y, cuando se completó, se interrumpió con agua para eliminar el exceso de anhídrido isobutírico. Los disolventes se evaporaron a presión reducida y se coevaporaron con etanol. El residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con NaHCO₃ y salmuera, y se evaporó. El derivado de 3'-isobutirilo protegido con MMTr en bruto se disolvió en AcOH al 80% y se agitó a 50°C hasta la desprotección completa de los grupos MMTr. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (0-20% de MeOH en DCM) para dar el compuesto del título **38**.

Ejemplo 95'-O-(L-valinil)-4'-azido-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina (**43**)

5'-O-*t*-Butildimetilsilil-4'-azido-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina (**39**).

A una solución de **22** (2,82 g, 10 mmol) en DMF (5 ml) se le añadió imidazol (1,02 g, 15 mmol) y TBSCI (1,95 g, 13 mmol). Cuando material de partida se consumió, la mezcla de reacción se inactivó con MeOH (1 ml) y se dividió entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (0-20% de MeOH en DCM) para dar el compuesto del título **39**.

5'-O-*t*-Butildimetilsilil-4'-azido-*N*',3'-O-bis(monometoxitritil)-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina (**40**).

Una mezcla de **39** (3,7 g, 9,34 mmol) y MMTTrCl (8,63 g, 28 mmol) en piridina seca (50 ml) se agitó durante una noche a 80°C. Después de la adición de MeOH (5 ml) y de agitar durante 2 h más, el disolvente se evaporó y el residuo se dividió entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera, y se evaporó. La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice (0-5% MeOH en DCM) dio el compuesto del título **40**.

4'-Azido-*N*'3'-O-bis(monometoxitritil)-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina (**41**).

Una solución de **40** (5,3 g, 5,64 mmol) en THF (20 ml) se trató con TBAF 1 M en THF (5,7 ml, 5,7 mmol) y se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera y se evaporó. La cromatografía sobre gel de sílice (0-5% de acetato de etilo en CHCl₃) dio el compuesto del título **41**.

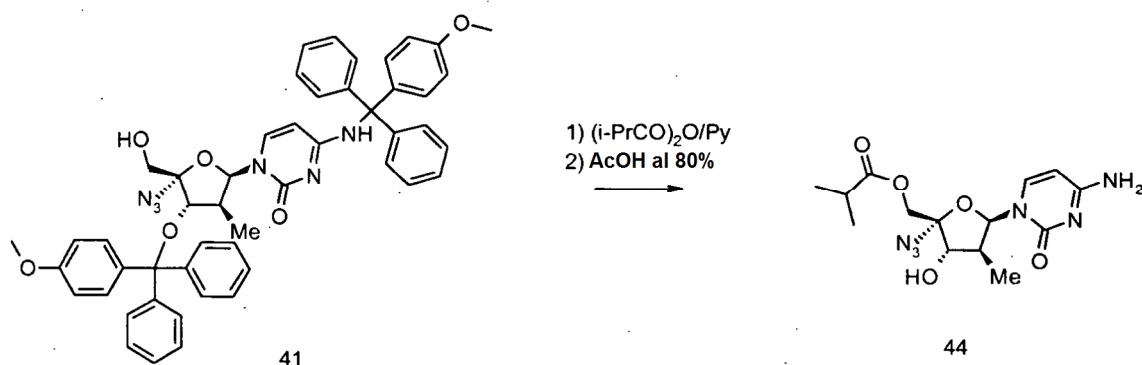
5-[*N*-(*tert*-Butoxicarbonil)-L-valinil]-*N*'3'-O-bis(monometoxitritil)-4'-azido-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina (**42**).

A una solución de **41** (3,09 g, 3,74 mmol) en una mezcla de acetonitrilo seco (30 ml) y DMF (15 ml) se le añadieron sucesivamente Boc-Val-OH (0,81 g, 3,74 mmol), EDC (0,72 g, 3,74 mmol), TEA (0,52 ml, 3,74 mmol) y DMAP (0,07 g). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente. El progreso de la reacción se siguió por HPLC y la mezcla de reacción se recargó con Boc-Val-OH (0,4 g), EDC (0,36 g), TEA (0,26 ml) y DMAP (0,04 g). Cuando el material de partida se consumió por completo, el disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se recogió en acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera. La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice (gradiente del 5-40% de EtOAc en Hexano) dio el compuesto del título **42**.

5'-O-(L-valinil)-4'-azido-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina (sal diclorhidrato, **43**). A una solución concentrada de **42** (2,4 g, 2,34 mmol) en EtOH se le añadieron lentamente 13 ml de HCl 1 M en EtOH. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente y se diluyó con éter. El precipitado se filtró y se lavó con éter para dar el compuesto del título **43** en forma de su sal diclorhidrato.

Ejemplo 10

5'-O-isobutiril -4'-azido-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina (**44**)



5'-O-isobutiril -4'-azido-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina (**44**).

A una solución de **41** (3,09 g, 3,74 mmol) en piridina seca (25 ml) se le añadió anhídrido isobutírico (0,89 g, 5,61 mmol) a 0°C. La reacción se siguió por HPLC y, cuando se completó, se interrumpió con agua para destruir el exceso de anhídrido isobutírico. Los disolventes se evaporaron a presión reducida y se coevaporaron con etanol. El residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con NaHCO₃ y salmuera, y se evaporó. El derivado de 3'-isobutirilo protegido con MMTTr se disolvió en AcOH al 80% y se agitó a 50°C hasta que se desprotegeron completamente los grupos MMTTr. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (0-20% de MeOH en DCM) para dar el compuesto del título **44**.

Ejemplo 11Ensayo de luciferasa de *Renilla*

Este ensayo mide la capacidad de los compuestos de fórmula I de inhibir la replicación de ARN de VHC y, por lo tanto, su utilidad potencial para el tratamiento de infecciones por VHC. El ensayo utiliza un indicador como una lectura simple del nivel de ARN del replicón de VHC intracelular. El gen de la luciferasa de *Renilla* se introdujo en la primera fase de lectura abierta de una construcción de replicón NK5.1 (Krieger y col., J. Virol. 75:4614), inmediatamente después de la secuencia del sitio interno de entrada al ribosoma (IRES), y se fusionó con el gen de la neomicina fosfotransferasa (NPTII) a través de un péptido 2A de autoescisión del virus de la fiebre aftosa (Ryan & Drew, EMBO Vol 13:928-93.3). Después de la transcripción *in vitro*, el ARN se introdujo por electroporación en células Huh7 de hepatoma humano, y se aislaron y se expandieron colonias resistentes a G418. La línea celular seleccionada de forma estable 2209-23 contiene ARN subgenómico de VHC replicativo, y la actividad de la luciferasa de *Renilla* expresada por el replicón refleja su nivel de ARN en las células. El ensayo se realizó en placas duplicadas, una en blanco opaco y la otra en transparente, para medir la actividad antiviral y la citotoxicidad de un compuesto químico en paralelo asegurándose de que la actividad observada no se debe a una reducción de la proliferación celular.

Se cultivaron células de replicón de VHC de luciferasa de *Renilla* (2209-23) cultivadas en MEM de Dulbecco (GibcoBRL, nº de cat. 31966-021) con suero bovino fetal al 5% (FCS, GibcoBRL, nº de cat. 10106-169) en una placa de 96 pocillos a 5000 células por pocillo y se incubaron durante una noche. Veinticuatro horas después, se añadieron diferentes diluciones de compuestos químicos en el medio de crecimiento a las células, que después se incubaron adicionalmente a 37°C durante tres días. Al final del tiempo de incubación, se recogieron las células en placas blancas y se midió la actividad luciferasa usando un sistema de ensayo de indicador de luciferasa dual (Promega, nº de cat. E1960). Todos los reactivos descritos en el párrafo anterior se incluyeron en el kit del fabricante, y se siguieron las instrucciones del fabricante para las preparaciones de los reactivos. Las células se lavaron dos veces con 200 µl de solución salina tamponada con fosfato (pH 7,0) (PBS) por pocillo y se lisaron con 25 µl de tampón de lisis pasivo 1x antes de la incubación a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se añadieron a cada pocillo 100 microlitros de reactivo LAR II. La placa después se insertó en el luminómetro de microplaca LB 96V (MicroLumatPlus, Berthold) y se inyectaron 100 µl de reactivo Stop & Glo® en cada pocillo y la señal se midió usando un programa de medición de 10 segundos con un retraso de 2 segundos. El valor de CI_{50} , la concentración de fármaco necesaria para reducir el nivel del replicón en un 50% en relación con el valor de control de células no tratadas, puede calcularse a partir del gráfico del porcentaje de reducción de la actividad luciferasa frente a la concentración de fármaco.

Para el ensayo de citotoxicidad se usó reactivo WST-1 de Roche Diagnostic (nº de cat. 1644807). Se añadieron diez microlitros de reactivo WST-1 a cada pocillo, incluyendo los pocillos que contenían medio solo como blancos. Las células después se incubaron durante 1 a 1,5 horas a 37°C y el valor de DO se midió por un lector de placas de 96 pocillos a 450 nm (filtro de referencia a 650 nm). De nuevo, el valor de CC_{50} , la concentración de fármaco necesaria para reducir la proliferación celular en un 50% en relación con el valor de control de células no tratadas, puede calcularse a partir del gráfico de la reducción en porcentaje del valor de WST-1 frente a la concentración de fármaco.

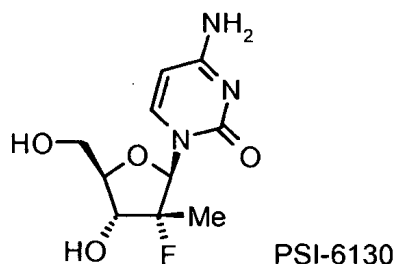
Ejemplo 12Ensayo de MT4/XTT

Los compuestos de la invención también pueden ensayarse con respecto a la actividad contra infecciones concomitantes. Por ejemplo, los individuos con riesgo de infecciones transmitidas a través de la sangre tales como VHC algunas veces se coinfectan con VIH.

Los compuestos pueden ensayarse con respecto a la actividad del VIH, por ejemplo, usando múltiples determinaciones con XTT en células MT-4 (Weislow y col., J Nat Cancer Inst 1989, vol 81, nº 8, 577 y siguientes), preferentemente incluyendo determinaciones en presencia de suero humano al 40-50% para indicar la contribución de la unión de proteínas. En resumen, un ensayo de XTT típico usa células MT4 de la línea de linfocitos T humanos cultivadas en medio RPMI 1640 suplementado con suero bovino fetal al 10% (o suero humano al 40-50% según sea apropiado), penicilina y estreptomycin, sembradas en microplacas de 96 pocillos ($2 \cdot 10^4$ células/pocillo) infectadas con 10-20 $DICT_{50}$ (dosis infecciosa del 50% en cultivo de tejidos) por pocillo de virus VIH-1_{III_B} (tipo silvestre) o mutantes, tales como los que llevan mutaciones RT Ile 100, Cys 181 o Asn 103. Se añaden compuestos de ensayo diluidos en serie a los pocillos respectivos y el cultivo se incubaba a 37°C en una atmósfera enriquecida en CO₂ y la viabilidad de las células se determina en el día cinco o seis con colorante vital XTT. Los resultados típicamente se presentan como valor de DE_{50} µM. El compuesto del Ejemplo 1 presenta un valor de DE_{50} de aproximadamente 0,6 µM en un ensayo XTT.

Ejemplo 13Concentración de trifosfato intracelular y semivida

- La supuesta especie activa de los compuestos de la invención es β -D-2'-desoxi-2'- β -C-metil-4'-azidocitidina trifosfato. La estabilidad del trifosfato se determina en hepatocitos primarios humanos recientes (CellZDirect o In Vitro Technologies) preincubados con el compuesto parental tritiado. Los hepatocitos se cultivan en placas de 6 pocillos revestidas de colágeno (BD Biosciences), típicamente a 1,5 millones de células/pocillo usando medio completo que contiene suero (CellZDirect o In Vitro Technologies)/37°C/5% de CO₂. Se dispone de diversas cepas de hepatocitos, tales como Hu497, MHL-091806 y Hu504 y, por lo tanto, es útil ensayar dichas cepas en paralelo y calcular los valores medios a partir de una serie de cepas.
- 5 La preincubación típicamente se realiza durante 24 horas con una concentración 2 μ M del compuesto parental tritiado a 10 μ Ci/ml. La monocapa celular se lava con medio de cultivo celular para retirar el compuesto parental extracelular y los cultivos celulares se reincuban con medio de cultivo celular reciente. La concentración de trifosfato intracelular se cuantifica a diferentes puntos de tiempo hasta 72 horas. Son puntos de tiempo convenientes 0, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 48 y 72 horas con cultivos celulares por duplicado para cada punto de tiempo.
- 10 La preincubación típicamente se realiza durante 24 horas con una concentración 2 μ M del compuesto parental tritiado a 10 μ Ci/ml. La monocapa celular se lava con medio de cultivo celular para retirar el compuesto parental extracelular y los cultivos celulares se reincuban con medio de cultivo celular reciente. La concentración de trifosfato intracelular se cuantifica a diferentes puntos de tiempo hasta 72 horas. Son puntos de tiempo convenientes 0, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 48 y 72 horas con cultivos celulares por duplicado para cada punto de tiempo.
- 15 En el punto de tiempo apropiado, se recogen las células aspirando el medio de cultivo celular y lavando las células con PBS frío. Las células se raspan y se introducen en un medio de extracción tal como 1 ml de metanol al 60% (v/v) enfriado previamente, y se extraen en metanol durante 24 h a -20°C. Las muestras extraídas se centrifugan para retirar el desecho celular. El sobrenadante se retira a tubos limpios, se evapora y se almacena en nitrógeno líquido para el análisis. Los sedimentos secos de extracto celular se disuelven en agua y se nanofiltran (por ejemplo, dispositivo de centrifuga nanosep, Pall Life Sciences). Antes del análisis de HPLC, a las muestras se les añaden patrones de referencia no marcados para el compuesto parental y su forma monofosfato, difosfato y trifosfato. Un sistema de HPLC típico emplea una HPLC de intercambio iónico con una columna Whatman Partisil 10SAX (4,6 x 250 mm) acoplada a un detector radiométrico (tal como β -RAM, IN/US Systems Inc). Una fase móvil convencional es un gradiente lineal del 0% de tampón acuoso al 100% de tampón fosfato (por ejemplo, KH₂PO₄ 0,5 M/KCl 0,8 M) a caudales tales como 1 ml/min. Para la detección de especies radiomarcadas en el β -RAM, puede usarse una relación 5:1 entre FloScint IV o UltimaFloAP (Perkin Elmer) y el eluyente de la columna. Los metabolitos parental e intracelular se identifican por comparación de los tiempos de retención de la especie intracelular en el radiocromatograma con la retención de las adiciones de patrones de referencia no radiactivos en las muestras de extracto celular y se detectan por absorción UV, típicamente a 270 nm.
- 20 En el punto de tiempo apropiado, se recogen las células aspirando el medio de cultivo celular y lavando las células con PBS frío. Las células se raspan y se introducen en un medio de extracción tal como 1 ml de metanol al 60% (v/v) enfriado previamente, y se extraen en metanol durante 24 h a -20°C. Las muestras extraídas se centrifugan para retirar el desecho celular. El sobrenadante se retira a tubos limpios, se evapora y se almacena en nitrógeno líquido para el análisis. Los sedimentos secos de extracto celular se disuelven en agua y se nanofiltran (por ejemplo, dispositivo de centrifuga nanosep, Pall Life Sciences). Antes del análisis de HPLC, a las muestras se les añaden patrones de referencia no marcados para el compuesto parental y su forma monofosfato, difosfato y trifosfato. Un sistema de HPLC típico emplea una HPLC de intercambio iónico con una columna Whatman Partisil 10SAX (4,6 x 250 mm) acoplada a un detector radiométrico (tal como β -RAM, IN/US Systems Inc). Una fase móvil convencional es un gradiente lineal del 0% de tampón acuoso al 100% de tampón fosfato (por ejemplo, KH₂PO₄ 0,5 M/KCl 0,8 M) a caudales tales como 1 ml/min. Para la detección de especies radiomarcadas en el β -RAM, puede usarse una relación 5:1 entre FloScint IV o UltimaFloAP (Perkin Elmer) y el eluyente de la columna. Los metabolitos parental e intracelular se identifican por comparación de los tiempos de retención de la especie intracelular en el radiocromatograma con la retención de las adiciones de patrones de referencia no radiactivos en las muestras de extracto celular y se detectan por absorción UV, típicamente a 270 nm.
- 25 En el punto de tiempo apropiado, se recogen las células aspirando el medio de cultivo celular y lavando las células con PBS frío. Las células se raspan y se introducen en un medio de extracción tal como 1 ml de metanol al 60% (v/v) enfriado previamente, y se extraen en metanol durante 24 h a -20°C. Las muestras extraídas se centrifugan para retirar el desecho celular. El sobrenadante se retira a tubos limpios, se evapora y se almacena en nitrógeno líquido para el análisis. Los sedimentos secos de extracto celular se disuelven en agua y se nanofiltran (por ejemplo, dispositivo de centrifuga nanosep, Pall Life Sciences). Antes del análisis de HPLC, a las muestras se les añaden patrones de referencia no marcados para el compuesto parental y su forma monofosfato, difosfato y trifosfato. Un sistema de HPLC típico emplea una HPLC de intercambio iónico con una columna Whatman Partisil 10SAX (4,6 x 250 mm) acoplada a un detector radiométrico (tal como β -RAM, IN/US Systems Inc). Una fase móvil convencional es un gradiente lineal del 0% de tampón acuoso al 100% de tampón fosfato (por ejemplo, KH₂PO₄ 0,5 M/KCl 0,8 M) a caudales tales como 1 ml/min. Para la detección de especies radiomarcadas en el β -RAM, puede usarse una relación 5:1 entre FloScint IV o UltimaFloAP (Perkin Elmer) y el eluyente de la columna. Los metabolitos parental e intracelular se identifican por comparación de los tiempos de retención de la especie intracelular en el radiocromatograma con la retención de las adiciones de patrones de referencia no radiactivos en las muestras de extracto celular y se detectan por absorción UV, típicamente a 270 nm.
- 30 El transcurso de tiempo de la captación y la fosforilación se mide de una forma análoga, por lo que hepatocitos primarios humanos se incuban con compuesto tritiado de la invención, por ejemplo, 2 μ M y 10 μ Ci/ml. Un transcurso de tiempo adecuado es la adición a cultivos duplicados de compuesto a 72, 48, 24, 16, 6 y 1 hora antes de la recolección de células. Para determinar la respuesta a la dosis de la fosforilación de los compuestos de la invención, se incuban hepatocitos primarios humanos con compuesto de ensayo tritiado, por ejemplo a 0, 2, 10, 25, 50, 100 y 250 μ M durante 24 horas. Las concentraciones finales se consiguen suplementando con compuesto de ensayo no radiomarcado. Se recogen cultivos de células por duplicado, generalmente después de 24 horas de incubación.
- 35 El transcurso de tiempo de la captación y la fosforilación se mide de una forma análoga, por lo que hepatocitos primarios humanos se incuban con compuesto tritiado de la invención, por ejemplo, 2 μ M y 10 μ Ci/ml. Un transcurso de tiempo adecuado es la adición a cultivos duplicados de compuesto a 72, 48, 24, 16, 6 y 1 hora antes de la recolección de células. Para determinar la respuesta a la dosis de la fosforilación de los compuestos de la invención, se incuban hepatocitos primarios humanos con compuesto de ensayo tritiado, por ejemplo a 0, 2, 10, 25, 50, 100 y 250 μ M durante 24 horas. Las concentraciones finales se consiguen suplementando con compuesto de ensayo no radiomarcado. Se recogen cultivos de células por duplicado, generalmente después de 24 horas de incubación.
- 40 En dichos ensayos, la semivida media del trifosfato de los compuestos de la invención fue de 21,4 horas (desviación típica 4,22 horas). El nivel de trifosfato en estado estacionario a 24 horas a 2 μ M es de aproximadamente 15 pM/millón de células. Usando 3 μ l como volumen medio de células parenquimáticas de hígado humano, esta concentración de trifosfato corresponde a un valor sustancialmente superior al valor de Ki del compuesto parental.
- 45 Una larga semivida de trifosfato y una alta concentración implica que en las células infectadas por VHC estarán presentes concentraciones antiviralmente activas de las especies activas durante periodos de tiempo prolongados después de la dosificación. Esto, a su vez, significa que se mantendrán altos niveles valle diurnos mínimos incluso con la dosificación QD (una vez al día), minimizando de esta forma las oportunidades de una exposición subóptima al fármaco que dé como resultado el desarrollo de mutantes de escape del fármaco.
- A diferencia de la prolongada semivida del trifosfato de la invención, la semivida del trifosfato del compuesto análogo de 2'- β -C-metilo PSI-6130 (β -D-2'-desoxi-2'-fluoro-2'- β -C-metilcitidina (representado más adelante) fue sólo de 4,7 horas, con una concentración de trifosfato en estado estacionario de 24 horas de únicamente 1,3 pM/millón de células.



Ejemplo 14

Se prepararon composiciones farmacéuticas de los compuestos objeto para administración por varias vías como se describe en este Ejemplo.

5 Composición para Administración Oral (A)

Ingrediente	% p/p
Principio activo	20,0%
Lactosa	79,5%
Estearato de magnesio	0,5%

Los ingredientes se mezclan y se introducen en cápsulas que contienen de aproximadamente 500 a 1000 mg cada una.

Composición para Administración Oral (B)

Ingrediente	% p/p
Principio activo	20,0%
Estearato de magnesio	0,5%
Croscarmelosa sódica	2,0%
Lactosa	76,5%
PVP (polivinilpirrolidina)	1,0%

10

Los ingredientes se combinan y se granulan usando un disolvente tal como metanol. La formulación después se seca y se transforma en comprimidos (que contienen aproximadamente 20 mg de compuesto activo) con una máquina de comprimidos apropiada.

Composición para Administración Oral (C)

Ingrediente	% p/p
Compuesto activo	1,0 g
Ácido fumárico	0,5 g
Cloruro sódico	2,0 g
Metil parabeno	0,15 g
Propil parabeno	0,05 g
Azúcar granulado	25,5 g
Sorbitol (solución al 70 %)	12,85 g
Veegum K (Vanderbilt Co.)	1,0 g
Saporífero	0,035 ml
Colorantes	0,5 mg
Agua destilada	c.s. hasta 100 ml

Los ingredientes se mezclan para formar una suspensión para administración oral.

Formulación Parenteral (D)

Ingrediente	% p/p
Principio activo	0,25 g
Cloruro sódico	cs para hacer la solución isotónica
Agua para inyección hasta	100 ml

- 5 El principio activo se disuelve en una parte del agua para inyección. Después se añade una cantidad suficiente de cloruro sódico con agitación para hacer la solución isotónica. La solución se enrasa con el resto del agua para inyección, se filtra a través de un filtro de membrana de 0,2 micrómetros y se envasa en condiciones estériles.

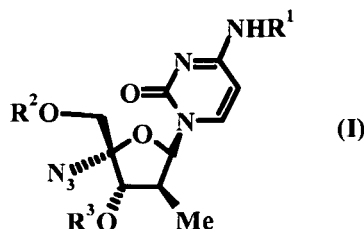
Formulación de Supositorio (E)

Ingrediente	% p/p
Principio activo	1,0 %
Polietilenglicol 1000	74,5 %
Polietilenglicol 4000	24,5 %

Los ingredientes se funden conjuntamente y se mezclan en un baño de vapor, y se vierten en moldes que contienen 2,5 g de peso total.

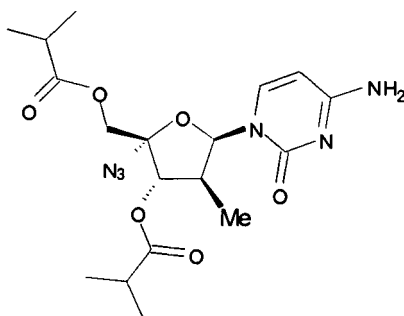
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I



en la que:

- 5 **R¹**, **R²** y **R³** se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, **COR⁴**, **C(=O)OR⁴** y **C(=O)CHR⁵NHR⁶**; o **R¹** y **R³** son H y **R²** es el éster de monofosfato, difosfato o trifosfato;
- R⁴** se selecciona independientemente del grupo que consiste en (a) alquilo **C₁₋₁₈** sin ramificar o ramificado, (b) haloalquilo **C₁₋₁₈**, (c) cicloalquilo **C₃₋₈**, (d) heteroalquilo **C₁₋₁₀** y (e) fenilo, estando dicho fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres grupos seleccionados independientemente de alquilo **C₁₋₃**, alcoxi **C₁₋₃**, halógeno, ciano o nitro;
- 10 **R⁵** es hidrógeno, alquilo **C₁₋₁₀**, fenilo o fenilalquilo **C₁₋₃**, estando dicho fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres grupos seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, alcoxi **C₁₋₃**, alquilo **C₁₋₃**, ciano y nitro;
- R⁶** es hidrógeno o alcoxi **C₁₋₆**; o,
- sales de adición de ácidos del mismo.
- 15 2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que cada uno de **R¹**, **R²** y **R³** es hidrógeno.
3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que cada uno de **R¹**, **R²** y **R³** es independientemente hidrógeno, **COR⁴** o **C(=O)OR⁴**, donde **R⁴** es alquilo **C₁₋₁₀** sin ramificar o ramificado.
4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que **R¹** es hidrógeno, **R²** y **R³** son **COR⁴** y **R⁴** es alquilo **C₁₋₁₀** sin ramificar o ramificado; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 20 5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 4, en el que todos los restos **R⁴** son iguales y se seleccionan de metilo, etilo, i-propilo o t-butilo.
6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, denominado 3',5'-O-bis(isobutiril)-4'-azido-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina:



- 25 7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que **R¹** y **R³** son hidrógeno, **R²** se selecciona del grupo que consiste en **COR⁴**, **C(=O)OR⁴** y **COCH(R⁵)NHR⁶**.
8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 7, en el que **R²** es **COCH(R⁵)NHR⁶**, **R⁵** es *iso*-propilo, *iso*-butilo o *sec*-butilo y **R⁶** es hidrógeno, preferentemente en el que **R⁵** tiene la estereoquímica de un L-aminoácido.
9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 7, en el que **R²** es **COR⁴** y en el que **R⁴** es alquilo **C₁₋₁₀** sin ramificar o ramificado.
- 30

10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en
 3',5'-O-bis(isobutiril)-4'-azido-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina,
 3',5'-O-bis(L-valinil)-4'-azido-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina,
 4'-Azido-3'-O-(L-valinil)-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina,
 5 4'-Azido-3'-O-isobutiril-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina,
 5'-O-(L-valinil)-4'-azido-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina,
 5'-O-isobutiril -4'-azido-2'-β-C-metil-2'-desoxicitidina;
 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 10 11. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad mediada por el virus de la Hepatitis C (VHC).
12. Uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el régimen de tratamiento o medicamento comprende además al menos un modulador del sistema inmune y/o al menos un agente antiviral que inhibe la replicación de VHC.
13. Uso de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el modulador del sistema inmune es un interferón, interleucina, factor de necrosis tumoral o factor estimulador de colonias.
- 15 14. Uso de acuerdo con la reivindicación 13, en el que el modulador del sistema inmune es un interferón o un interferón derivatizado químicamente.
15. Uso de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el régimen de tratamiento o medicamento comprende además al menos otro agente antiviral.
- 20 16. Uso de acuerdo con la reivindicación 15, en el que el compuesto antiviral se selecciona del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa de VHC, otro inhibidor nucleosídico de polimerasa de VHC, un inhibidor no nucleosídico de polimerasa de VHC, un inhibidor de helicasa de VHC, un inhibidor de primasa de VHC y un inhibidor de la fusión de VHC.
- 25 17. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 mezclada con al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
18. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para uso como un medicamento.
19. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para uso en el tratamiento de una enfermedad mediada por el Virus de la Hepatitis C (VHC).