

No. 11-067785-00000-0000

Fecha: 2011-06-01 11:00:17 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 70

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

11-67785

54. TÍTULO

COMPUESTOS CICLOUNDECADEPSIPEPTIDOS Y EL USO

DE DICHOS COMPUESTOS COMO UN MEDICAMENTOS

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

DEBIO RECHERCHE PHARMACEUTIQUE S.A.

DOMICILIO

MARTIGNY, SUIZA

74. APODERADO

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

C.C. 35.456.344 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D.C.,

7/06/2011
06.06.2011



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-067785- -00000-0000

Fecha: 2011-06-01 11:00:17 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 70

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

- 1

☒ Patente de Invención.
☐ Capítulo I.
- ☐ Patente de Modelo de Utilidad.
☒ Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: **DEBIO RECHERCHE PHARMACEUTIQUE S.A.**
Sociedad constituida y existente bajo las leyes de Suiza.

Dirección: 146, Route du Levant,
CH-1920 Martigny,
Suiza

Domicilio: Martigny,
Suiza

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual

Número

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: **LUZ CLEMENCIA DE PAEZ**
Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35
Teléfono: 347 36 11
Fax: 211 86 50
E-mail: clientes@cavelier.com
Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual

Número 35.456.344 T.P 23.555

4

INVENTOR (ES)
(72)

1. **Roland WENGER**
Grenzacherweg 45,
CH-4125 Riehen,
Suiza

3. **Patrick GARROUSTE**
Rue de l'Autoroute 54 A,
CH-1907 Saxon,
Suiza

5. **Oliver TURPIN**
Rue des Finettes 3B,
CH-1920 Martigny,
Suiza

7. **Valérie NICOLAS**
Chemin de Sous-Aliens 15,
CH-1162 St-Prex,
Suiza

9. **Rafael CRABBÉ**
Chemin des Marais 1,
CH-1183 Bursins,
Suiza

2. **Manfred MUTTER**
Route du Signal 12,
CH-1092 Belmont-sur-Lausanne,
Suiza

4. **Robert LYSEK**
Chemin du Scex 10,
CH-1920 Martigny,
Suiza

6. **Grégoire VUAGNIAUX**
Rue Orient-Ville 8,
CH-1005 Lausanne,
Suiza

8. **Laura NOVAROLI ZANOLARI**
Avenue de la Harpe 10,
CH-1007 Lausanne,
Suiza

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/IB2009/007361
Publicación Internacional No. WO 2010/052559 A1

Fecha: 06 de noviembre de 2009
Fecha: 14 de mayo de 2010

6

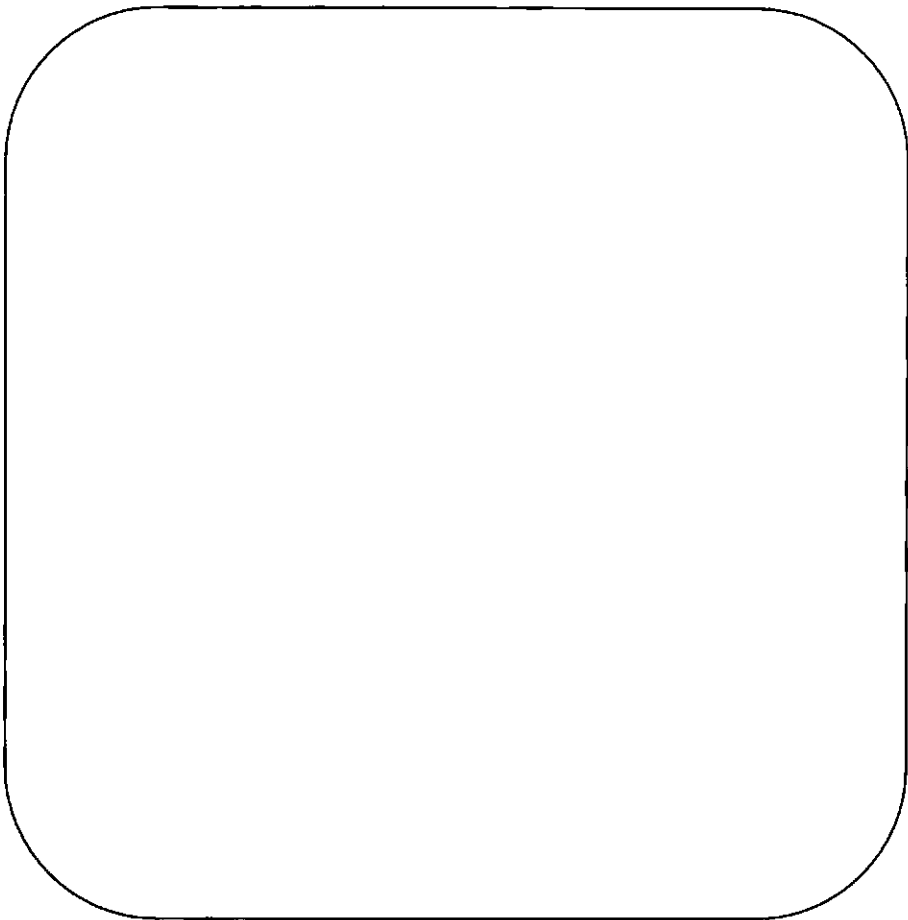
Título (54)

COMPUESTOS CICLOUNDECADEPSIPÉPTIDOS Y EL USO DE DICHOS
COMPUESTOS COMO UN MEDICAMENTO

7 Clasificación Internacional (51) <u>A61K 038/013</u>									
8 Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud						
	<u>IB</u>	<u>06 de noviembre de 2008</u>	<u>PCT/IB2008/002982</u>						
9 <table><tr><td>Comprobante de pago No.: <u>11-0040711</u></td><td>Fecha: <u>02 de mayo de 2011</u></td></tr><tr><td>Comprobante de pago No.: <u>11-0046074</u></td><td>Fecha: <u>16 de mayo de 2011</u></td></tr><tr><td>Comprobante de pago No.: <u>11-0049244</u></td><td>Fecha: <u>24 de mayo de 2011</u></td></tr></table>				Comprobante de pago No.: <u>11-0040711</u>	Fecha: <u>02 de mayo de 2011</u>	Comprobante de pago No.: <u>11-0046074</u>	Fecha: <u>16 de mayo de 2011</u>	Comprobante de pago No.: <u>11-0049244</u>	Fecha: <u>24 de mayo de 2011</u>
Comprobante de pago No.: <u>11-0040711</u>	Fecha: <u>02 de mayo de 2011</u>								
Comprobante de pago No.: <u>11-0046074</u>	Fecha: <u>16 de mayo de 2011</u>								
Comprobante de pago No.: <u>11-0049244</u>	Fecha: <u>24 de mayo de 2011</u>								
10 Anexos: ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 571.000.oo. ☒ Comprobante de pago por 4 reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por \$108.000.oo. ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica. ☐ Poderes, si fuere el caso. ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. ☐ Declaraciones. ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☒ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA. ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA. ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso. ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas. ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico. ☐ Arte final 12x12 ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud. ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS									

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

FIRMA : LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P. 23.555

not

SCT

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2010/052559 A1

Descripción:

Páginas 47 en español

Reivindicaciones: Número (s) 14

Figuras: Número (s) 1

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
14 May 2010 (14.05.2010)

(10) International Publication Number
WO 2010/052559 A1

PCT

(51) International Patent Classification:
A61K 38/13 (2006.01) *C07K 11/02* (2006.01)
C07K 7/64 (2006.01)

(74) Agent: JELSCH, Emmanuel, Edwin; Katzarov S.A.,
Rue des Epinettes 19, CH-1227 Geneva (CH).

(21) International Application Number:
PCT/IB2009/007361

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT,
TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(22) International Filing Date:
6 November 2009 (06.11.2009)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
PCT/IB2008/002982
6 November 2008 (06.11.2008) IB

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Applicant (for all designated States except US): DEBIO
RECHERCHE PHARMACEUTIQUE S.A. [CH/CH];
146, Route du Levant, CH-1920 Martigny (CH).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): WENGER, Roland
[CH/CH]; Grenzacherweg 45, CH-4125 Riehen (CH).
MUTTER, Manfred [DE/CH]; Route du Signal 12,
CH-1092 Belmont-sur-Lausanne (CH). GARROUSTE,
Patrick [FR/CH]; Rue de l'Autoroute 54 A, CH-1907
Saxon (CH). LYSEK, Robert [PL/CH]; Chemin du Scex
10, CH-1920 Martigny (CH). TURPIN, Olivier
[FR/CH]; Rue des Finettes 3B, CH-1920 Martigny (CH).
VUAGNIAUX, Grégoire [CH/CH]; Rue Orient-Ville 8,
CH-1005 Lausanne (CH). NICOLAS, Valérie [CH/CH];
Chemin de Sous-Aliens 15, CH-1162 St-Prex (CH). NO-
VAROLI ZANOLARI, Laura [IT/CH]; Avenue de la
Harpe 10, CH-1007 Lausanne (CH). CRABBÉ, Rafael
[BE/CH]; Chemin des Marais 1, CH-1183 Bursins (CH).

Declarations under Rule 4.17:

— of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

— before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments (Rule 48.2(h))

(54) Title: CYCLOUNDECADEPSIPEPTIDE COMPOUNDS AND USE OF SAID COMPOUNDS AS A MEDICAMENT

(57) Abstract: The present invention relates to new cycloundecadepsipeptide compounds and to the use of said compounds as a
medicament, in particular as antiviral agents, more particularly for preventing or treating Hepatitis C infections or HCV induced
disorders.



WO 2010/052559 A1

COMPUESTOS CICLOUNDECADEPSIPÉPTIDOS Y EL USO DE DICHOS COMPUESTOS COMO UN MEDICAMENTO

La presente invención se refiere a compuestos cicloundecadepsipéptidos. También se relaciona con el uso de estos compuestos como un medicamento, en particular, como agentes antivirales, más particularmente para prevenir o tratar infecciones por hepatitis C o trastornos inducidos por VHC.

ANTECEDENTES DEL ARTE:

El VHC fue clonado y caracterizado hace unos 15 años por Choo y colegas (ver Science 244, (1989), 359-362). El VHC pertenece a la familia Flaviviridae y comprende una nucleocápside envuelta y un genoma de una sola cadena de ARN de polaridad positiva (ver Bartenschlager et al., Antiviral Res. 60, (2003), 91-102). El VHC se transmite principalmente por la sangre, productos hematológicos y transmisión vertical durante el embarazo. La introducción de pruebas de diagnóstico para el examen de productos hematológicos ha reducido significativamente la tasa de nuevas infecciones.

Sin embargo, el VHC sigue siendo un problema médico serio. Actualmente hay alrededor de 170 millones de personas infectadas con VHC. El curso inicial de la infección suele ser leve. No obstante, el sistema inmunitario es a menudo incapaz de eliminar el virus, y las personas con infecciones persistentes se encuentran en un alto riesgo de cirrosis hepática y carcinoma hepatocelular (ver Poynard et al., Lancet 349, (1997), 825-832).

No hay vacuna disponible, y las opciones terapéuticas son muy limitadas (ver Manns et al., Indian J. Gastroenterol. 20 (Suppl 1), (2001), C47-51; Tan et al., Nat. Rev. Drug Discov. 1, (2002), 867-881).

Se han identificado compuestos que se unen firmemente a ciclofilina, pero estos compuestos fueron inmunosupresores (Nakagawa M et al., Biochemical and biophysical research communications, Academic Press Inc. Orlando, FL, US, Vol. 313, N°1, 2 January 2004, pages 42-47, XP004479114).

Por lo tanto, durante los últimos 20 años, se han llevado a cabo una serie de estudios con el objetivo de identificar compuestos no inmunosupresores como NIM 811 u otros compuestos que presenten también alta potencia para inhibir la replicación de

VIH-1 y que carezcan esencialmente de actividad inmunosupresora, ver WO 00/01715 (Wenger et al.; Debiopharm SA) y Tetrahedron Lett., 41, (2000), 7193-6.

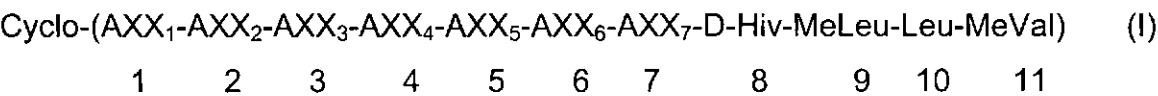
Se ha encontrado que los compuestos no inmunosupresores que se unen a ciclofilina tienen un efecto inhibitorio sobre el virus de la hepatitis C (VHC). La infección persistente por el VHC, que ha sido identificado como el agente causal principal de hepatitis no-A, no-B, se ha considerado estrechamente relacionada con enfermedades hepáticas como hepatitis crónica, cirrosis hepática o hepatocarcinoma. El desarrollo de estas enfermedades hepáticas es un problema de salud pública importante. El tratamiento eficaz contra el VHC está limitado a la terapia con interferón o una combinación de interferón y ribavirina. Sin embargo, como el virus no se elimina en alrededor de la mitad de los pacientes con VHC tratados con estos agentes conocidos, aún hay una gran necesidad de agentes alternativos contra el VHC.

Los cicloundecapéptidos que tienen la propiedad de actuar en la inhibición de la replicación del virus de la hepatitis C (VHC) son ya conocidos a través de WO 2005/021028 (Novartis Pharma GmbH) y WO 2006/038088 (Debiopharm SA). Hanssons M J et al. Journal of Bioenergetics and biomembranes, plenum publishing, New York, NY, US, Vol. 36, n°4, 1 August 2004, pages 407-413 (XP002330699) informan las potencias de inhibición óptimas de mPT mediante los compuestos descritos en WO 2006/038088. No obstante, aunque algunos de estos péptidos están comprendidos actualmente en ensayos clínicos, todavía hay necesidad de desarrollar nuevos agentes antivirales que tengan propiedades satisfactorias para inhibir la replicación del VHC en particular, junto con un perfil farmacocinético mejorado (por ej., perfil de inhibición de transportadores hepáticos e interacciones farmacológicas resultantes) y con un perfil toxicológico optimizado (por ej., actividad no inmunosupresora y eventos adversos resultantes).

En consecuencia, la presente invención tiene por objeto proporcionar compuestos inmunosupresores adicionales a utilizar en la prevención o el tratamiento de infecciones por hepatitis C o trastornos inducidos por VHC. Estos compuestos tienen la ventaja inesperada de reducir posibles efectos adversos relacionados con la inhibición de los transportadores hepáticos o el potencial de interacciones farmacológicas relacionadas con la inhibición de transportadores hepáticos, o incluso ambas cosas. Además, es también un objeto de la invención proporcionar compuestos que sean más fáciles de sintetizar, particularmente a escala industrial.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION:

Por lo tanto, el objetivo de la presente invención es proporcionar nuevos agentes antivirales con las propiedades mejoradas antes mencionadas; sorprendentemente se ha encontrado que estos requisitos son cumplidos por los compuestos cicloundecadepsipéptidos, definidos en la Fórmula (I)



en la cual

- AXX₁ es MeBmt, 4-fluoro-MeBmt, dihidro-MeBmt, 8-hidroxi-MeBmt; O-acetil-MeBmt;
- AXX₂ es Abu, Val, Thr, Thr(OMe), Thr(OAc), Thr(OCOCH₂CH₂CH₂OH), Nva, 5-hidroxi-Nva;
- AXX₃ es D-MeAla, D-3-fluoro-MeAla, D-MeSer, D-MeSer(OAc), D-MeSer(O-CH₂CH₂OH), D-MeSer(OCH₂CH₂NEt₂), D-MeAsp(OMe);
- AXX₄ es Melle, MeMet, MeMet(Ox) en el cual Ox significa que el átomo de azufre de la metionina es sulfóxido o sulfona, MeVal, MeThr, MeThr(OAc), MeThr(OtBu), MeThr(OMe), MeAla, Melle, MeThr, EtVal, EtIle, EtPhe, EtTyr, EtThr(OAc), MeThr(OAc), MeTyr, MeTyr(OAc), MeTyr(OMe), MePhe;
- AXX₅ es Leu, Val, Ile, Ala;
- AXX₆ es MeAla, Sar, MeLeu; y
- AXX₇ es Gly, Ala.

Otro objeto de la invención es proporcionar una composición farmacéutica para prevenir o tratar la infección por hepatitis C o trastornos inducidos por VHC, que comprende el compuesto de la Fórmula I, junto con uno o más diluyentes o vehículos aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

Otro objeto de la invención es proporcionar una combinación farmacéutica que comprende al menos: a) un primer agente que consiste de los compuestos de la Fórmula I o la composición farmacéutica, y b) un segundo agente con propiedades para actuar contra la replicación del VHC.

Los compuestos de acuerdo con la Fórmula I pueden ser utilizados en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de infecciones por hepatitis C o trastornos inducidos por VHC.

Un objeto más de la invención es proporcionar un método para prevenir o tratar la infección por hepatitis C o trastornos inducidos por VHC en un sujeto que necesita del mismo, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de los compuestos de la Fórmula I o la composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

Alternativamente, también se proporciona un método para inhibir la replicación del VHC en pacientes que lo necesitan, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de los compuestos de la Fórmula I o la composición farmacéutica de la invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS:

Para una mejor comprensión de la invención y para mostrar cómo la misma puede llevarse a cabo, se mostrará ahora a modo de ejemplo solamente realizaciones específicas, métodos y procesos de acuerdo con la presente invención con referencia a los dibujos acompañantes en los cuales:

La **Figura 1** muestra la síntesis química de los compuestos de acuerdo con la invención en comparación con los compuestos de acuerdo con WO 2006/038088, es decir, [D-MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA (Debio 025).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION:

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado comprendido comúnmente por alguien con conocimientos básicos en la materia a la que pertenece esta invención. Aunque pueden utilizarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente en la práctica o el ensayo de la presente invención, a continuación se describen los métodos y materiales adecuados. Todas las publicaciones, solicitudes de patentes, patentes y otras referencias mencionadas en la presente se incorporan como referencia en su totalidad. En caso de conflicto, la presente memoria descriptiva, incluyendo definiciones, será el control. Además, los materiales, métodos y ejemplos son solamente ilustrativos y no están destinados a ser limitantes.

Como se utilizan en la presente, se suministran las siguientes definiciones con el fin de facilitar la comprensión de la presente invención.

El término "comprende" se utiliza generalmente en el sentido de inclusión, es decir, permite la presencia de una o más características o componentes.

Es un objeto de la presente invención proporcionar un compuesto cicloundecadepsipéptido de la Fórmula (I)

Cyclo-(AXX₁-AXX₂-AXX₃-AXX₄-AXX₅-AXX₆-AXX₇-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (I)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

en la cual:

AXX₁ es MeBmt, 4-fluoro-MeBmt, dihidro-MeBmt, 8-hidroxi-MeBmt; O-acetil-MeBmt;

AXX₂ es Abu, Val, Thr, Thr(OMe), Thr(OAc), Thr(OCOCH₂CH₂CH₂OH), Nva, 5-hidroxi-Nva;

AXX₃ es D-MeAla, D-3-fluoro-MeAla, D-MeSer, D-MeSer(OAc), D-MeSer(O-CH₂CH₂OH), D-MeSer(O-CH₂CH₂NEt₂), D-MeAsp(OMe);

AXX₄ es Melle, MeMet, MeVal, MeThr, MeThr(OAc), MeAla, EtVal, EtIle, EtPhe, EtTyr, EtThr(OAc), MeThr(OAc), MeTyr, MeTyr(OAc), MeTyr(OMe), MePhe, MeMet(Ox) en el cual el átomo de azufre de la metionina es sulfóxido o sulfona;

AXX₅ es Leu, Val, Ile;

AXX₆ es MeAla, Sar, MeLeu; y

AXX₇ es Gly, Ala.

De acuerdo con la definición de IUPAC, los ciclodepsipéptidos son compuestos naturales o sintéticos que presentan secuencias de residuos de ácidos amino e hidroxil carboxílicos (por lo general α -amino y α -hidroxi ácidos); los residuos están conectados en un anillo (ver IUPAC Compendium of Chemical Terminology, 2nd Edition (1997). Estos ciclodepsipéptidos son descritos como péptidos heterodéticos en los que al menos un enlace amida se ha reemplazado por un enlace éster (ver J. Peptide Sci. 10: 115-8 (2004)).

Los compuestos de la presente invención comprenden once residuos, diez son α -aminoácidos y uno es un α -hidroxiácido. Este α -hidroxiácido es ácido (2R)-2-hidroxi-3-metil-butanoico, también conocido como ácido D- α -hidroxiisovalérico y abreviado como H-D-Hiv-OH. En la Fórmula (I), este hidroxi-ácido está en la posición 8. Forma en el extremo ácido carboxílico un enlace amida con el grupo amino del α -

aminoácido en posición 9, es decir, N-metil-leucina, y, en el extremo hidroxilo, un enlace éster con el grupo ácido carboxílico del α -aminoácido en posición 7, es decir, alanina o glicina.

Los α -aminoácidos de la Fórmula (I) se mencionan utilizando el código de abreviatura de tres letras empleado generalmente para nombrar aminoácidos, y su configuración es L, a menos que se especifique lo contrario. La numeración de los residuos comienza a partir de AXX₁ que representa N-metil-(4R)-4-[(E)-2-butenil]-4-metil-L-treonina o MeBmt y sus derivados estructurales tal como se definió anteriormente. Cuando un grupo alquilo, como un grupo metilo Me o un grupo etilo Et, aparece antes de la abreviatura de un aminoácido, esto significa que dicho grupo alquilo está unido al grupo amino de dicho residuo de aminoácido.

Una de las ventajas de los compuestos de acuerdo con la presente invención puede residir en el impacto de un enlace éster en el macroesqueleto cíclico en comparación con el esqueleto amida cíclica regular de los compuestos cicloundecapéptidos correspondientes descritos en el arte previo. Sin sujetarse a la teoría, se considera que la sustitución de una amida por un enlace éster entre el aminoácido AXX₇ en la posición 7 y D-HIV en la posición 8 resulta en un fuerte efecto sobre las propiedades conformacionales y físico-químicas, como un aumento en la flexibilidad conformacional (en PJ Flory, *Statistical Mechanics of Chain Molecules*, Hanser Publishers, NY, 1988) y la lipofilicidad, así como también la ausencia de una unión donante de hidrógeno.

Se cree que estos rasgos estructurales llevan a diferencias pronunciadas en las propiedades físico-químicas, farmacocinéticas y biológicas de los compuestos de la invención en comparación con la clase de análogos derivados de CsA. Una posible justificación para la mayor tolerancia a las sustituciones de aminoácidos observada en los estudios de SAR sistemáticos puede residir en un aumento del espacio conformacional con respecto a la conformación bioactiva (Mikol V. et al., *J. Mol. Biol.* (1998) 283, 451-461).

En contraste con los análogos de cicloundecapéptido del arte previo, los reemplazos únicos o múltiples en las posiciones del fragmento entre el aminoácido en la posición 2 y el aminoácido en la posición 7 del cicloundecadepsipéptido natural, obtenido de US 5.116.816, Ejemplo 2, o de WO 02/092033, Ejemplo 4, Paso 4-1, resulta en la retención de una elevada capacidad de unión a Ciclofilina como se demuestra por la lista de compuestos que satisfacen los criterios de la presente invención. En

particular, se ha observado un aumento de la afinidad de unión a Cyp A de factores de hasta 2-4 para los compuestos de la invención en comparación con el compuesto de acuerdo con WO 2006/038088, es decir, [D-MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA (Debio 025).

Además de un perfil activo mejorado (ver Ejemplos 5 y 6), la nueva clase de compuestos también ofrece un mejor proceso de preparación, especialmente a escala industrial.

La invención también comprende modificaciones químicas de los compuestos de la Fórmula I para prolongar su tiempo de vida en circulación. Ejemplos de derivados de poli(etilenglicol) que poseen esta propiedad se describen en, por ej., US 2005171328 (Nektar Therapeutics AI Corp.) o US 6.713.454 (Nobex Corp.).

Más preferentemente, los compuestos de la presente invención se definen por la Fórmula (I) en la cual

AXX₁ es MeBmt, dihidro-MeBmt, 8-hidroxi-MeBmt;

AXX₂ es Abu, Val, Thr, Thr(OMe), Thr(OAc), Thr(OCOCH₂CH₂CH₂OH), 5-hidroxi-Nva;

AXX₃ es D-MeAla, D-3-fluoro-MeAla, D-MeSer, D-MeSer(OAc), D-MeAsp(OMe);

AXX₄ es Melle, MeMet, MeMet(Ox) en el cual Ox significa que el átomo de azufre de la metionina es sulfóxido o sulfona, MeVal, EtVal, EtIle, MeTyr, MeTyr(OAc), MeTyr(OMe), MeThr, MeThr(OtBu), MeThr(OAc), MeThr(OMe), MePhe;

AXX₅ es Leu, Val, Ile, Ala;

AXX₆ es MeAla, Sar, MeLeu; y

AXX₇ es Gly, Ala.

Aún más preferentemente, los compuestos de la Fórmula (I) se definen en que,

AXX₁ es MeBmt, 8-hidroxi-MeBmt;

AXX₂ es Abu, Val, Thr, Thr(OMe), Thr(OAc), Thr(OCOCH₂CH₂CH₂OH), 5-hidroxi-Nva;

AXX₃ es D-MeAla, D-3-fluoro-MeAla, D-MeSer, D-MeSer(OAc), D-MeAsp(OMe);

AXX₄ es Melle, MeMet, MeMet(Ox) en el cual Ox es -SOMe, -SO₂Me, MeVal, EtVal, EtIle, MeTyr; y

AXX₅ es Leu, Val, Ile

AXX₆ es MeAla, Sar, MeLeu; y

AXX₇ es Gly, Ala.

En una realización particular de la invención, los compuestos de Fórmula (I) se definen en que,

AXX₁ es MeBmt;

AXX₂ es Abu, Val, Thr;

AXX₃ es D-MeAla;

AXX₄ es Melle, MeVal, EtVal;

AXX₅ es Leu, Val, Ile;

AXX₆ es MeAla, MeLeu, Sar; y

AXX₇ es Gly, Ala.

De acuerdo con uno de los mejores modos de la invención, los compuestos de Fórmula (I) presentan las siguientes fórmulas:

- ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ia)
- ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ib)
- ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Ile-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ic)
- ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Id)
- ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Val-MeAla-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ie)
- ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (If)
- ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Ile-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ig)
- ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ih)
- ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-Melle-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ii)
- ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Val-Sar-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ik)

Los compuestos antes mencionados corresponden a una optimización global de los criterios más importantes de la presente invención, es decir, la mejora de la síntesis química, las propiedades farmacológicas, los perfiles farmacocinéticos y toxicológicos.

En particular, estos compuestos muestran una potencia mucho menor en comparación con Debio 025 para inhibir transportadores hepáticos como MRP2 o OATP1B1. Por lo tanto, se espera que estos compuestos reduzcan posibles efectos adversos (por ej., hiperbilirrubinemia) o interacciones farmacológicas potenciales (por ej., con inhibidores de HMG-CoA reductasa como atorvastatina) relacionadas con la inhibición de transportadores hepáticos, o incluso ambos.

Otros compuestos de la invención son los siguientes:

ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Val-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)

ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeThr(OtBu)-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-Sar-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Thr-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Ile-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-Melle-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-Melle-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Val-MeAla-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Leu-MeAla-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeThr-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Thr(OMe)-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeTyr-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Leu-Sar-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Thr-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Val-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Ala-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Ile-MeAla-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Val-Sar-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)

Otros compuestos de interés son identificados por las siguientes fórmulas:

ciclo-(MeBmt-Thr(OMe)-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-((8-hidroxi)MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-(5-OH)Nva-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Thr(OR)(R = -COCH₃, -COCH₂CH₂CH₂-OH)-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Val-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Val-D-MeSer-MeVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeSer-MeVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeSer(OAc)-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAsp(OMe)-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Val-D-(3-fluoro)MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-(3-fluoro)MeAla-Melle-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeMet-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeMet(Ox)(Ox = -SOMe, -SO₂Me)-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MePhe-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeTyr(OR)(R = Ac, Me)-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)

ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeThr(OR)(R = Me, Ac)-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)

ciclo-(MeBmt-Abu-D-(3-fluoro)MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)

ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-EtIle-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)

ciclo-(dihidro)MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)

ciclo-((8-hidroxi)MeBmt-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)

ciclo-((8-hidroxi)MeBmt-Val-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)

Los compuestos de la presente invención pueden obtenerse mediante la aplicación de la síntesis clásica de péptidos (síntesis de péptidos en solución o en fase sólida, en Houben-Weyl, *Methods of Organic Chemistry*, Vol. E 22d, Ed.-in-Chief: M. Goodman, Thieme Verlag, Stuttgart, 2003) y química orgánica o biotecnología, por ej. mediante la aplicación de las herramientas químicas descritas por Wenger en *Helv. Chim. Acta*, 67, 502-25, 1984 o en *Helv. Chim. Acta*, 66, 2672-702 (1983) y mediante el empleo de HATU como reactivo de acoplamiento descrito en Rich, DH, et al, *Comparative studies of the coupling of N-methylated, sterically hindered amino acids during SPPS*, *Tetr. Letters*. 35, 5981-5984 (1994).

Por ej., uno de los esquemas generales posibles consiste en preparar dos fragmentos, a saber, un Fragmento A y un Fragmento B, que contienen los residuos apropiados con los grupos protectores y activantes adecuados, en caso necesario, y unirlos en las últimas etapas de la preparación para obtener un undecapéptido que luego se cicliza a cicloundecadepsipéptido.

Por ej., el Fragmento (Ax) puede ser el siguiente:

H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-AXX₁-OH (Ax)

y el Fragmento (Bx), el siguiente:

H-AXX₂-AXX₃-AXX₄-AXX₅-AXX₆-AXX₇-OR, (siendo R un grupo alquilo) (Bx),

luego, AX y BX se acoplan al undecadepsipéptido Ax-Bx, H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-AXX₁-AXX₂-AXX₃-AXX₄-AXX₅-AXX₆-AXX₇-OR (R= alquilo,H)

y la etapa final es la macrolactonización.

El Fragmento A, que contiene el residuo de α -hidroxi ácido D-Hiv, puede obtenerse por la degradación de un cicloundecadepsipéptido natural (es decir, Ciclo-(MeBmt-Thr-Sar-MeLeu-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal); la preparación de dicho

cicloundecadepsipéptido se describe en US 5.116.816, Ejemplo 2, o en WO 02/092033, Ejemplo 4, Paso 4-1.

Una de las ventajas de los compuestos de acuerdo con la invención en comparación con el arte previo radica no sólo en su perfil activo (ver Ejemplos 5 y 6), sino también en su proceso de preparación mejorado, especialmente a escala industrial.

1. Comenzando a partir de los compuestos naturales (CsA y Ciclo-(MeBmt-Thr-Sar-MeLeu-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal), ver Figura 1, el rendimiento global de la síntesis de análogos de cicloundecadepsipéptidos es > 50% en comparación con 20% para DEBIO 025 ([D-MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA según se describe en WO 2006/038088, Debiopharm SA).

2. No es necesaria la síntesis del costoso derivado dipéptido Boc-D-MeAla-EtVal-OH (incluidas las 4 etapas químicas). Además, algunos de los compuestos contienen una Glicina C-terminal (Ia, Ic, If, Ig, Ii, Ik) que facilita el último paso de la síntesis (macrolactonización, sin epimerización).

3. Los costos de los reactivos y los compuestos iniciales son considerablemente inferiores en el caso de los compuestos de acuerdo con la invención. En particular, no es necesario el "reactivo de Meerwein" utilizado para la reacción de apertura del anillo de CsA.

4. El fragmento B (hexapéptido AXX₂-AXX₇) puede obtenerse de manera eficiente mediante síntesis de péptidos en fase sólida estándar utilizando compuestos iniciales comerciales (ver Figura 1).

5. Al optimizar la preparación del Fragmento A a partir de compuestos iniciales naturales, así como en los pasos de condensación (Fragmento A con Fragmento B), macrociclización y purificación final, el rendimiento global de la obtención de los compuestos de interés farmacológico puede ascender hasta un 80%.

6. En general, los aspectos indicados dan como resultado una eficacia y, por consiguiente, un costo de mercaderías adecuados, particularmente con respecto a la síntesis de los compuestos de la invención a escala industrial.

La capacidad de los compuestos de la presente invención de inhibir la replicación del VHC fue demostrada en un ensayo de replicón, y la ausencia esencial de actividad

17

inmunosupresora fue evaluada en un ensayo de proliferación de células T (ver Ejemplos 5 y 6).

Un compuesto "no inmunosupresor" de acuerdo con la presente invención debe entenderse como un compuesto que es por lo menos 30 veces menos inmunosupresor que la ciclosporina A (CsA) (determinado como la relación de la IC_{50} (mitad de la concentración inhibitoria máxima) del compuesto con respecto a la IC_{50} de la ciclosporina A (IC_{50} del compuesto/ IC_{50} de CsA)), preferentemente menos de 150 veces, aún menos de 200 veces y, preferentemente, aún menos de 300 veces. Idealmente, los compuestos de la invención no tienen actividad inmunosupresora *in vitro* de al menos una diferencia de 2 logaritmos con la CsA en un ensayo de proliferación de células T inducida por Concanavalina-A.

En consecuencia, los compuestos de la presente invención son considerados para usarse como un medicamento, en particular como un agente antiviral, y más concretamente para prevenir o tratar la infección por hepatitis C o trastornos inducidos por VHC.

Las infecciones por hepatitis C o los trastornos inducidos por VHC son, por ej., hepatitis crónica, cirrosis hepática o cáncer de hígado, por ej., carcinoma hepatocelular. Los compuestos de la presente invención también pueden utilizarse, por ej., como tratamiento profiláctico de recién nacidos de madres infectadas con VHC o de trabajadores sanitarios expuestos al virus, o de receptores de trasplante, por ej., receptores de trasplantes de órganos o tejidos, por ej., trasplante de hígado, para eliminar una posible infección recurrente por VHC después del trasplante.

"Tratamiento" se refiere tanto a un tratamiento terapéutico como a medidas profilácticas o preventivas. Aquellos que necesitan el tratamiento incluyen los que ya presentan el trastorno y aquellos en los que se prevendrá el trastorno. Por lo tanto, el mamífero a ser tratado en la presente puede haber sido diagnosticado con la enfermedad o puede estar predispuesto o ser susceptible a la enfermedad.

A los efectos del tratamiento, "mamífero" se refiere a cualquier animal clasificado como mamífero, incluyendo los seres humanos, animales domésticos y de granja o animales de compañía, como perros, caballos, gatos, vacas, monos, etc. Preferentemente, el mamífero es un ser humano.

El término "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad de un fármaco efectiva para tratar una enfermedad o trastorno en un mamífero.

Los compuestos de la presente invención pueden ser administrados por vía oral, por ej., a un paciente que los necesite, por ej., incorporados en una microemulsión preconcentrada.

Los compuestos de la presente invención, sus sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico y los profármacos del mismo, si corresponde, pueden administrarse en forma de una composición farmacéutica en la cual están asociados con un adyuvante, diluyente o vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico, con el fin para prevenir o tratar infecciones por hepatitis C o trastornos inducidos por VHC.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención, o una sal del mismo aceptable desde el punto de vista farmacéutico, como se definió anteriormente en la presente, en asociación con un adyuvante, diluyente o vehículo aceptable desde el punto de vista farmacéutico. En cuanto a los excipientes, diluyentes y adyuvantes adecuados, puede hacerse referencia a la literatura estándar que los describe, por ej., el capítulo 25.2 del Vol. 5 de "Comprehensive Medicinal Chemistry", Pergamon Press, 1990, y "Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete", por HP Fiedler, Editio Cantor, 2002.

Los compuestos de la presente invención también puede ser atrapados en microcápsulas preparadas, por ej., mediante técnicas de coacervación o por polimerización interfacial, por ej., microcápsulas de hidroximetilcelulosa o gelatina y microcápsulas de poli-(metilmetacrilato), respectivamente, en sistemas coloidales de administración de medicamentos (por ej., liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Estas técnicas se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Oso/, A. Ed. (1980).

Pueden elaborarse preparaciones de liberación sostenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros sólidos hidrofóbicos que contienen los compuestos de la presente invención; estas matrices presentan formas de, por ej., películas o microcápsulas. Los ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles

(por ej., poli (2-hidroxietil-metacrilato), o poli(vinilalcohol)), polilactidas (Patente Estadounidense N° 3.773.919), copolímeros de ácido L-glutámico y [gamma] etil-L-glutamato, acetato de etilen-vinilo no degradable, copolímeros de ácido láctico-ácido glicólico degradables como los utilizados para preparar el medicamento Lupron Depot (TM) (microesferas inyectables compuestas de copolímero de ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprolide), y ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico.

La dosis diaria de la presente invención será variada necesariamente dependiendo del huésped tratado, la vía de administración en particular, y la gravedad y naturaleza de la enfermedad a tratar. En consecuencia, la dosis óptima puede ser determinada por el médico que trata a algún paciente en particular.

Las composiciones farmacéuticas de la invención puede ser formuladas como cremas, geles, soluciones, ungüentos, suspensiones o emplastos, etc., cuando se destinen a administración tópica; para administración por inhalación, por ej., como aerosoles o polvos secos; para administración oral, por ej., en forma de comprimidos, cápsulas, geles, jarabes, suspensiones, soluciones, polvos o gránulos; para administración rectal o vaginal, por ej., como supositorios; o para inyección parenteral (incluyendo las vías intravenosa, subcutánea, intramuscular, intravascular, o como infusión) como solución, suspensión o emulsión estériles.

El compuesto activo de la invención puede ser administrado por cualquier vía convencional. Puede administrarse por vía parental, por ej., en forma de soluciones o suspensiones inyectables, o en forma de formulaciones de depósito inyectables. Preferentemente, se administrará por vía oral en forma de soluciones o suspensiones bebibles, comprimidos o cápsulas. Las composiciones farmacéuticas para administración oral que comprenden un compuesto cicloundecadepsipéptido de la invención se describen en los Ejemplos. Como demuestran los ejemplos, estas composiciones farmacéuticas suelen consistir en un compuesto cicloundecadepsipéptido de la invención y una o más sustancias portadoras aceptables desde el punto de vista farmacéutico. Normalmente, estas composiciones están concentradas y deben combinarse con un diluyente apropiado, por ej., agua, antes de la administración. Las composiciones farmacéuticas para administración parenteral suelen también incluir uno o más excipientes. Los excipientes opcionales incluyen un agente isotónico, un buffer u otro agente de control del pH y un conservante. Estos excipientes pueden añadirse para el mantenimiento de la composición y para el logro de los rangos preferidos de pH (alrededor de 6,5-7,5) y de osmolaridad (alrededor de 300 mOsm/L). Otros ejemplos de formulaciones para

administración oral pueden encontrarse en las Patentes Estadounidenses N° 5.525.590 y 5.639.724, y en la Solicitud de Patente Estadounidense 2003/0104992. Por vía oral, la dosis indicada de un compuesto cicloundecadepsipéptido de la invención para la administración de una a tres veces por semana puede ser de alrededor de 1 mg/kg a 100 mg/kg, preferentemente de alrededor de 1 mg/kg a 20 mg/kg. Por vía intravenosa, la dosis correspondiente indicada puede ser de alrededor de 1 mg/kg a alrededor de 50 mg/kg, preferentemente de alrededor de 1 mg/kg a alrededor de 25 mg/kg. Se entiende que una cantidad efectiva de un compuesto cicloundecadepsipéptido de la invención es una cantidad que cuando se administra repetidamente en el curso de un régimen terapéutico a un paciente en necesidad de tratamiento de la infección por VHC, da como resultado una respuesta clínica objetiva, como una reducción estadísticamente significativa en el título de VHC en suero o una reducción significativa de la actividad de ALT en suero en el paciente.

El médico tendrá en cuenta numerosos factores al determinar las dosis de ensayo para examinar la eficacia de una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención contra la infección por VHC. Los principales son la toxicidad y la vida media del compuesto cicloundecadepsipéptido de la invención elegido. Otros factores incluyen el peso del paciente, la edad del paciente, el estado general del paciente (incluyendo enfermedades sistémicas significativas o importantes, como hepatopatía descompensada, compromiso de la médula ósea grave preexistente y otras infecciones virales), la etapa de la infección por VHC (aguda vs. crónica) indicada, por ej., por los niveles de alanina aminotransferasa (ALT), el genotipo particular del VHC, el tratamiento previo de la infección por VHC, la presencia de otros medicamentos en el paciente, y similares. Un ciclo de tratamiento requerirá la administración repetida de una composición farmacéutica de la invención. Normalmente, se administrará una dosis adecuada del fármaco 3-7 veces por semana, y la duración del tratamiento puede ser de alrededor de 4 semanas a 6 meses, preferentemente de alrededor de 4 semanas a alrededor de 12 meses. El tratamiento puede ser seguido por determinaciones de VHC en suero y la medición de niveles de ALT en suero. El punto final del tratamiento es una respuesta virológica, es decir, la ausencia de VHC en el final de un ciclo de tratamiento, varios meses después del inicio del tratamiento, o varios meses después de la finalización del tratamiento. El VHC en suero puede ser medido a nivel del ARN por métodos como RT-PCR cuantitativa o northern blots, o a nivel de proteínas por inmunoensayo enzimático o inmunoensayo potenciado por quimioluminiscencia de proteínas virales. El punto final puede incluir también una determinación del nivel de ALT en el suero en el rango normal.

Una composición farmacéutica de la presente invención puede comprender uno o más componentes activos contra la infección por VHC, además de los compuestos de la presente invención, como, por ej., otro principio activo antiviral, por ej., ribavirina o un interferón alfa. Los compuestos de la invención y estos otros componentes activos pueden ser administrados juntos como parte de la misma composición farmacéutica o pueden ser administrados por separado como parte de un régimen de dosificación adecuado para obtener los beneficios de la terapia combinada. El régimen de dosificación adecuado, la cantidad de cada dosis administrada y los intervalos específicos entre las dosis de cada agente activo dependerán de la combinación específica de agentes activos empleada, el estado del paciente en tratamiento y otros factores discutidos en la sección anterior. Estos componentes activos adicionales por lo general se administran en cantidades inferiores o iguales a las de los que son efectivos como único agente terapéutico. Las dosis aprobadas por la FDA de estos agentes activos que han recibido la aprobación de la FDA para su administración en seres humanos están a disposición del público.

Los compuestos de la invención pueden ser administrados como un solo componente o junto con otros fármacos, por ej., un fármaco que tiene actividad anti-VHC, por ej., un interferón, por ej., interferón-alfa-2a o interferón alfa-2b, por ej., Intron A®, Roferon®, Avonex®, Rebif® o Betaferon®, o un interferón conjugado con un polímero soluble en agua o albúmina humana, por ej., Albuferon® (Human Genome Science), un agente anti-viral, por ej., ribavirina, lamivudina, NV08 o NM283, un inhibidor de factores codificados por VHC como serina proteasa NS3-4A, la helicasa o ARN polimerasa o un profármaco de un inhibidor de este tipo, un agente antifibrótico, por ej., un derivado de N-fenil-2-pirimidin-amina, por ej., imatinib, un agente inmunomodulador, por ej., ácido micofenólico, una sal o un profármaco del mismo, por ej., micofenolato sódico o micofenolato mofetilo, o un agonista del receptor S1 P, por ej., FTY720 o un análogo del mismo opcionalmente fosforilado, por ej., como se describe en EP 627406A1, EP 778263A1, EP 1002792A1, WO 02/18395, WO 02/76995, WO 02/06268, JP2002316985, WO 03/29184, WO 03/29205, WO 03/62252 y WO 03/62248 que se incorporan a la presente en su totalidad como referencia.

En realizaciones específicas, el interferón de ejemplo utilizado en la presente invención se selecciona del grupo que consiste de Intron-A®; PEG-Intron®; Roferon®; Pegasys®; Berefor®; Sumiferon®; Wellferon®; Infergen®; Alferon®;

Viraferon®; Albuferon® (Human Genome Science); Rebif; Omniferon, Omega y sus combinaciones.

Los conjugados de interferón con un polímero soluble en agua pretenden incluir especialmente a los conjugados con homopolímeros de óxidos de polialquileno como polietilenglicol (PEG) o polipropilenglicoles, polioles polioxietilenados, copolímeros de los mismos y copolímeros de bloque de los mismos. Como una alternativa a los polímeros basados en óxidos de polialquileno, pueden usarse de manera eficaz materiales no antigénicos como dextrano, polivinil pirrolidonas, poliacrilamidas, alcoholes polivinílicos, polímeros basados en hidratos de carbono y similares. Estos conjugados de interferón-polímero se describen en las Patentes Estadounidenses N° 4.766.106, 4.917.888, Solicitud de Patente Europea N° 0 236 987, Solicitud de Patente Europea N° 0 510 356 y Publicación de Solicitud Internacional N° WO 95/13090. Como la modificación polimérica reduce suficientemente la respuesta antigénica, el interferón extraño no debe ser totalmente autólogo. El interferón usado para preparar conjugados con polímero puede prepararse a partir de un extracto de mamífero, como interferón humano, de rumiante o bovino, o ser de origen recombinante. Otras formas de interferones incluyen interferón beta, gamma, tau y omega, como Rebif (Interferón beta-1a) de Serono, Omniferon (interferón natural) de Viragen, o Interferón Omega de Boehringer Ingelheim. Interferones orales como interferón alfa oral de Amarillo Biosciences. Se prefieren los conjugados de interferón con polietilenglicol, también conocidos como interferones pegilados.

Los alfa-interferones pegilados son conjugados de interferón especialmente preferidos, por ej., interferón alfa-2a pegilado, interferón alfa-2b pegilado, interferón consenso pegilado o un producto de interferón-a purificado pegilado. El interferón alfa-2a pegilado se describe, por ej., en la Patente Europea 593.868 y está disponible comercialmente, por ej., bajo el nombre comercial de PEGASYS® (Hoffmann-La Roche). El interferón alfa-2b pegilado se describe, por ej., en la Patente Europea 975.369 y está disponible comercialmente, por ej., bajo el nombre comercial de PEG-INTRON® A (Schering Plough). El interferón consenso pegilado se describe en WO 96/11953 (incorporado en la presente como referencia en su totalidad). Los interferones alfa pegilados preferidos son el interferón alfa-2a pegilado y el interferón alfa-2b pegilado. También se prefiere el interferón consenso pegilado.

Las dosis diarias con respecto al co-agente utilizado variarán dependiendo de, por ej., el compuesto empleado, el huésped, el modo de administración y la gravedad de

la enfermedad a tratar. Por ej., la lamivudina puede ser administrada en una dosis diaria de 100 mg.

El interferón pegilado puede ser administrado por vía parenteral una a tres veces por semana, preferentemente una vez por semana, a una dosis semanal total que abarca de 2 a 10 millones de UI, más preferentemente de 5 a 10 millones de UI, más preferentemente de 8 a 10 millones de UI. Esto puede corresponder a 0,5 a 2,0 microgramos/kg/semana administrados una vez a la semana, tres veces por semana, cada dos días o diariamente.

En otras realizaciones, el interferón alfa es un interferón alfa-2a pegilado y la cantidad de interferón alfa-2a pegilado administrada es de 20 a 250 microgramos/kg/semana administrados una vez a la semana, tres veces a la semana, cada dos días o diariamente. Preferentemente, el interferón peg-IFNa2a es administrado en una cantidad de 180 ug una vez por semana.

Los agentes antivirales utilizados comúnmente para el tratamiento del VHC también se incluyen en la combinación de acuerdo con la presente invención. Estos agentes incluyen compuestos o productos biológicos que son eficaces para inhibir la formación y/o la replicación de un virus en un mamífero. Los mismos incluyen agentes como ribavirina (1-beta-D-ribofuranosil-1H-1, 2,4-triazol-3-carboxamida) de Valeant Pharmaceuticals, Inc., Costa Mesa, CA; Rebetol® de Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ, y Copegus® de Hoffmann-La Roche, Nutley, NJ, análogos de la ribavirina en desarrollo, como Levovirin y viramidina de Valeant, y mizoribina monofosfato.

Además, la combinación de la presente invención puede comprender también la administración de inhibidores de la proteasa del VHC serina proteasa NS3-4A basados en el sustrato, inhibidores de la proteasa NS3 no basados en el sustrato; fenantrenquinonas, tiazolidinas y benzanilidas, y similares que han demostrado tener actividad contra la infección por VHC.

Los inhibidores de la proteasa para el tratamiento del VHC se describen por ej. en la Patente Estadounidense N° 6.004.933 (Spruce et al), la Patente Estadounidense N° 5.990.276 (Zhang et al), la Patente Estadounidense N° 5.538.865 (Reyes et al.), WO 02/008251 (Corvas International, Inc.), WO 02/08187 y WO 02/008256 (Schering Corporation), las Patentes Estadounidenses N° 6.534.523, 6.410.531 y 6.420.380 (Boehringer Ingelheim) y WO 02/060926 (Bristol Myers Squibb), WO 02/48172 y WO

02/18198 (Schering Corporation), WO 02/48157 y WO 02/48116 (Bristol Myers Squibb), WO 98/17679 (Vertex Pharmaceuticals), que son incorporados a la presente como referencia en sus totalidades.

Pueden utilizarse ejemplos de inhibidores de la proteasa NS3 no basados en el sustrato, como derivados de 2,4,6-trihidroxi-3-nitro-benzamida (Sudo K. et al., Biochemical and Biophysical Research Communications, 1997, 238 643-647; Sudo K. et al. Antiviral Chemistry and Chemotherapy, 1998, 9, 186), incluyendo RD3 - 4082 y RD3-4078.

Otros agentes experimentales que han demostrado ser eficaces en el tratamiento del VHC incluyen inhibidores de la serina proteasa NS3-4A del VHC BILN 2061 de Boehringer Ingelheim, VX-950 de Vertex, SCH-6, SCH-7 y SCH-351633, de Schering-Plough, y otros inhibidores de la proteasa del VHC en desarrollo preclínico y clínico de GlaxoSmithKline, Bristol Myers Squibb, Abbot, Roche, Merck, Pfizer y Gilead. Otros agentes que están actualmente en desarrollo clínico para el tratamiento del VHC que pueden ser útiles en la combinación de la invención descrita en la presente incluyen TMC 435350 (Tibotec) e ITM-191 (InterMune).

Pueden utilizarse también análogos de nucleósidos. Un ejemplo de uno de estos análogos es la telbivudina de Idenix (US 6444652, US 6596700, y WO0196353). Pueden utilizarse también inhibidores nucleósidos o no nucleósidos de la ARN polimerasa dependiente de ARN NS5B de VHC, como éster de 2'-C-metil-3'-O-L-valina de ribofuranosil citidina (NM283, Idenix) descrito en WO 2004/002422. Pueden utilizarse también nucleósidos ramificados como se describe en WO 01/90121 y WO 01/92282 (Idenix Pharmaceuticals). Los contenidos de estas solicitudes de patente internacionales se incorporan a la presente como referencia en sus totalidades.

Otros compuestos terapéuticos pueden incluir moléculas antisentido dirigidas contra el genoma del VHC o una secuencia antisentido complementaria a cualquier parte del genoma del VHC que aumente la eficacia de la terapia.

También se contemplan inhibidores de otros objetivos en el ciclo de vida del VHC como Celgosivir (MBI 3253), un inhibidor del procesamiento de glicoproteínas de Migenix, un inhibidor de la fusión de Trimeris, ACH-0137171 de Achillion. Los agonistas de receptores como los agonistas del receptor tipo toll ("TLR") incluyen ANA245, ANA971, ANA975 (US 5041426, 4880784) de Anadys; CpG-10101 un agonista TLR-9 (Coley Pharmaceuticals), un inhibidor de IMPDH, ácido micofenólico,

una sal o un profármaco de su micofenolato sódico o micofenolato mofetilo, o Merimebodib (VX-497, de Vertex); timosina alfa-1 (Zadaxin o su combinación, de SciClone); SCV-07 (SciClone), Belerofon (IFN- α mejorado de Nautilus); Civacir (inmunoglobulina para hepatitis C) de NABI, o un agonista del receptor S1P, por ej., FTY720 o un análogo del mismo opcionalmente fosforilado, por ej., como se describe en EP 627406A1, EP 778263A1, EP 1002792A1, WO 02/18395, WO 02/76995, WO 02/06268, JP2002316985, WO 03/29184, WO 03/29205, WO 03/62252 y WO 03/62248, cuyas descripciones se incorporan a la presente como referencia en sus totalidades; Resiquimod [VML 600] de 3M Pharmaceuticals, un análogo de imiquimod que es un potente inductor de interferón- α y otras citoquinas. Además, los compuestos de la presente invención pueden utilizarse en combinación con Interleucina-10 (Schering-Plough), amantadina (Symmetrel) de Endo Labs Solvay, inhibidor de caspasa IDN-6556 de Pharma Idun, HCV/MF59 de Chiron, CEPLANE (dicloruro de histamina) de Maxim, IDN-6556 de Idun Pharm, T67, un inhibidor de beta-tubulina de Tularik, FK788 de Fujisawa Healthcare, IdBI 016 (Siliphos, un fitosoma oral de silibin-fosfatidilcolina), Dication de Immtech, hemopurificador de Aethlon Medical, UT 231 B de United Therapeutics; Hepex-C SM1, PPVO-Bay55-8800 (Parapoxvirus ovis) de Bayer; Refanalín (HGF mimético) de Angion, R803 (Rigel), JTK-003, JTK-002, y JTK-109 (todos de Japan Tobacco), HCV-086 (ViroPharma/Wyeth), ISIS-14803 (ISIS Pharmaceuticals), GS-9132 (un inhibidor de polimerasa de Achillion Pharmaceuticals), HCV-793 (Pharmasset y Roche), R1626 (Roche).

Otros compuestos de interés incluyen Ursodiol (EP 00269516, Axcán Pharma), HE-2000 (un análogo de DHEA, Colthurst Ltd), EHC-18 (un inmunomodulador, Enzo Biochem), diclorhidrato de histamina (un agonista H₂, WO09104037, Estero-Anstalt), nitazoxanida (Romark), 1-amino-alkilciclohexanos (Patente Estadounidense N° 6.034.134), alkil-lípidos (Patente Estadounidense N° 5.922.757), vitamina E y otros antioxidantes (Patente Estadounidense N° 5.922.757), ácidos biliares (Patente Estadounidense N° 5.846.964), ácido N-(fosfonoacetil)-L-aspartico (Patente Estadounidense N° 5.830.905), bencendicarboxamidas (Patente Estadounidense N° 5.633.388), derivados de ácido poliadenílico (Patente Estadounidense N° 5.496.546), 2'3'-didesoxiinosina (Patente Estadounidense N° 5.026.687), bencimidazoles (Patente Estadounidense N° 5.891, 874), extractos vegetales (Patente Estadounidense N° 5.837.257; Patente Estadounidense N° 5.725.859 y Patente Estadounidense N° 6.056.961) y piperidinas (Patente Estadounidense N° 5.830.905); ácido N-(fosfonoacetil)-L-aspartico, bencendicarboxamidas, derivados del ácido

poliadenílico, inhibidores de la glicosilación, y agentes citoprotectores no específicos que bloquean la lesión celular causada por la infección viral.

Los compuestos de acuerdo con la invención también pueden ser empleados en combinación con una vacuna o metodologías basadas en anticuerpos para el tratamiento del VHC. Las vacunas terapéuticas incluyen vacunas de Intercell (vacunas terapéutica peptídica IC41 VHC), Epimmune/Genencor, Merix, Tripep (Chiron-Vacc), inmunoterapia (Therapore) de Avant, terapia de células T de CellExSys, anticuerpo monoclonal XTL-002 de STL, ANA 246 y ANA 246 de Anadys, una vacuna terapéutica dirigida a E2 de Innogenetics, anticuerpo monoclonal contra la proteína de envoltura E2 de XTL Bio, GI-5005 (Globelimmune Inc), InnoVac-C (WO 9967285, Innogenetics), IC-41 (Intercell), interferón alfa-n3 (Interferon Sciences).

De acuerdo con lo anterior, la presente invención proporciona en un aspecto más adicional, una combinación farmacéutica que comprende al menos: a) un primer agente que consiste del compuesto de la invención o la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención, y b) un segundo agente que tiene las propiedades de actuar contra la replicación del VHC.

En particular, esta combinación farmacéutica es para usar en la prevención o el tratamiento de infecciones por hepatitis C o trastornos inducidos por VHC.

Está comprendido también un método para prevenir o tratar la infección por hepatitis C o trastornos inducidos por VHC en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de la invención o la composición farmacéutica de la invención.

Además, se proporciona un método para inhibir la replicación del VHC en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de la invención o la composición farmacéutica de la invención.

Otro objeto de la invención es un método, que comprende la co-administración concomitantemente o en forma secuencial de una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de acuerdo con la invención o la composición farmacéutica de la invención y un co-agente seleccionado de un agente con propiedades anti-VHC.

Los términos "co-administración" o "administración combinada" o similares utilizados en la presente pretenden abarcar la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un paciente individual, y están destinados a incluir regímenes de tratamiento en los que los agentes no son necesariamente administrados por la misma vía de administración o al mismo tiempo.

La administración de una combinación farmacéutica de la invención resulta en un efecto beneficioso, por ej., un efecto terapéutico sinérgico, en comparación con una monoterapia en la que se aplica sólo uno de sus componentes activos farmacéuticos. Una combinación sinérgica preferida es una combinación del compuesto cicloundecadepsipéptido de la invención con un interferón, opcionalmente conjugado con un polímero.

Una combinación preferida adicional es una combinación de compuestos de Fórmula I de acuerdo con la invención con ácido micofenólico, una sal o un profármaco del mismo, o con un agonista del receptor S1 P, por ej., FTY720.

Se considerará que todas las patentes, solicitudes de patentes y publicaciones mencionadas en la presente han sido incorporadas como referencia en sus totalidades.

Los expertos en el arte apreciarán que la invención descrita en la presente es susceptible a variaciones y modificaciones distintas de las específicamente descritas. Se entenderá que la invención incluye todas estas variaciones y modificaciones sin apartarse del espíritu o de las características esenciales de la misma. La invención incluye también todos los pasos, características, composiciones y componentes referidos o indicados en esta memoria descriptiva, individual o colectivamente, y cualquiera y todas las combinaciones o cualquiera de dos o más de dichos pasos o características. La presente descripción se considerará por consiguiente en todos los aspectos ilustrados y como no restrictiva, siendo el alcance de la invención indicado por las reivindicaciones adjuntas, y todos los cambios que surjan dentro del sentido y el rango de equivalencia están destinados a ser comprendidos por la misma.

A lo largo de esta memoria descriptiva se citan diversas referencias, cada una de las cuales se incorpora a la presente como referencia en su totalidad.

La descripción anterior se comprenderá más plenamente con referencia a los siguientes Ejemplos. Estos Ejemplos, son, sin embargo, ejemplificaciones de

métodos para practicar la presente invención y no están destinados a limitar el alcance de la misma.

EJEMPLOS:

Ejemplo 1a:

Preparación del cicloundecadepsipéptido (1a): Ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)- (1a)

1. Preparación del Fragmento (Aa), a partir del cicloundecadepsipéptido natural Ciclo-(MeBmt-Thr-Sar-MeLeu-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal)- (ver US 5.116.816, Ejemplo 2, o en WO 02/092033), Ejemplo 4, Paso 4-1):

H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-OH (Aa)

1.1 Variante A

Preparación de Ciclo-(MeBmt-Thr(O-(N-imidazolil)carbonil)-Sar-MeLeu-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (1A).

Una solución de Ciclo-(MeBmt-Thr-Sar-MeLeu-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (US 5.116.816, Ejemplo 2, o en WO 02/092033, Ejemplo 4, Paso 4-1) (3,00 g, 2,40 mmol, 1,0 equiv.) y 1,1'-carbonildiimidazol (1,17 g, 7,21 mmol, 3,0 equiv.) en 15 ml de CH₂Cl₂ anhidro se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 hs. El progreso de la reacción fue monitoreado por UPLC analítica. Se obtuvo una transformación de 81,1%. Se agregó una cantidad adicional de 1,1'-carbonildiimidazol (0,39 g, 2,40 mmol, 1,0 equiv.) a la mezcla de reacción. Después de agitación adicional durante 16 hs, se obtuvo una transformación de 98,8%. Se evaporó la solución bajo presión reducida. El residuo se disolvió en AcOEt (45 ml) y se lavó sucesivamente con ácido cítrico 10% (45 ml) y salmuera (45 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida para dar una mezcla de dos compuestos (1A) y (2A), como un polvo blanco

UPLC-ESI-MS (m/z): (1A): 1342,75 [M + H]⁺ ([C₆₈H₁₁₇N₁₂O₁₅]⁺; calc. 1342,73), (2A): 1274,77 [M + H]⁺ ([C₆₅H₁₁₃N₁₀O₁₅]⁺; calc. 1274,65)

Preparación de Ciclo-(MeBmt-Thr(O,N-carbonil)-Sar-MeLeu-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (2A).

Una solución del compuesto (1A) obtenido en la reacción anterior (3,41 g, 2,40 mmol) en DMSO seco (15 ml) se agitó y se calentó a 100 °C durante 2 hs en atmósfera de argón. El progreso de la reacción fue monitoreado por UPLC analítica. Se obtuvo una transformación total. Posteriormente, la solución se disolvió en AcOEt (45 ml) y se lavó sucesivamente con HCl 1M (30 ml) y solución acuosa de NaCl 23,2% (15 ml) y luego con solución acuosa de NaCl 11,6% (45 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida para dar el cicloundecadepsipéptido Ciclo-(MeBmt-Thr(O,N-carbonil)-Sar-MeLeu-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (2A), como un polvo blanco

UPLC-ESI-MS (m/z): 1274,65 [M + H]⁺ ([C₆₅H₁₁₃N₁₀O₁₅]⁺; calc. 1274,65

Preparación de éster metílico de H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-OMe (Fragmento (Aa) (3A)).

A una solución del ciclodepsipéptido obtenido en la reacción anterior (1,00 g, 0,78 mmol) en 30 ml de MeOH (seco), enfriado a 0 °C, se añadió Ca(OMe)₂ (0,24 g, 2,35 mmol) en una porción, en atmósfera de argón. Después de 5 horas a 0 °C y luego 1 hora a temperatura ambiente, un control del avance de la reacción por UPLC indicó una transformación de 98,6%. Se enfrió la solución a 0 °C, y luego se neutralizó con una solución acuosa de ácido cítrico 10%. Se evaporó el metanol. La mezcla acuosa se vertió en 100 ml de una mezcla de AcOEt/NaCl 23,2% (1:1 v/v). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida. La mezcla en bruto fue separada por cromatografía en columna, para dar el pentapéptido -D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-OMe (3A).

UPLC-ESI-MS (m/z): 669,16 [M + H]⁺ ([C₃₅H₆₅N₄O₈]⁺; calc. 669,48)

Preparación del Fragmento (Aa) H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-OH (4).

Una solución del pentapéptido obtenido en la reacción anterior (3A) (1,15 g, 1,72 mmol, 1,0 equiv.) en THF (8,6 ml) y agua (1,1 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de agua helada y luego se añadió LiOH 2M (1,72 ml, 3,44 mmol, 2,0 equiv.) en 20 segundos. Se retiró el baño de enfriamiento y la mezcla (pH = 12-13) se agitó a temperatura ambiente durante 3 hs. Un control del avance de la reacción por UPLC indica una transformación completa. Posteriormente, la solución se enfrió a 0 °C y se neutralizó con ácido cítrico 10%. Se evaporó el tetrahidrofurano bajo presión reducida. El residuo se disolvió en AcOEt (50 ml) y se lavó con ácido cítrico 10% (3 ml) y solución acuosa de NaCl 23,2% (50 ml) (pH 3). La fase orgánica se secó sobre

Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida para dar el Fragmento (AA) H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-OH (4) como un polvo blanco

UPLC-ESI-MS (m/z) 655,21 [M + H]⁺ ([C₃₄H₆₃N₄O₈]⁺; calc. 655,46)

1.2 Variante B

Preparación de H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Thr-Sar-MeLeu-Leu-MeLeu-Ala-OMe-

A una solución de Ciclo-(MeBmt-Thr-Sar-MeLeu-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) natural (según se obtiene de US 5.116.816, Ejemplo 2, o de WO 02/092033, C, Ejemplo 4, Paso 4-1) (3,0 g, 2,40 mmol) en MeOH seco (90 ml), enfriada a 0 °C, se añadió en atmósfera de argón MeONa (0,519 g, 9,6 mmol, 4,0 equiv.). Después de 1 hora a 0 °C y luego de 2 horas a temperatura ambiente, un control del avance de la reacción por HPLC indicó la finalización. La solución se enfrió a 0 °C y luego se neutralizó a (pH 5-6) con una solución acuosa de ácido cítrico 10%. Se evaporó el metanol. La mezcla acuosa se vertió en 150 ml de acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua (20 ml) y salmuera (20 ml), se secó sobre MgSO₄ y se filtró. La evaporación del solvente al vacío y la cromatografía flash en gel de sílice dieron H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Thr-Sar-MeLeu-Leu-MeLeu-Ala-OMe puro.

Preparación de H-D-Hiv(O-(N-imidazolil)carbonil)-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Thr(O-(N-imidazol)carbonil)-Sar-MeLeu-Leu-MeLeu-Ala-OMe (1B)

Una solución del undecapéptido obtenido en la reacción anterior (2,96 g, 2,31 mmol, 1,0 equiv.) y 1,1'-carbonildiimidazol (1,50 g, 9,25 mmol, 4,0 equiv.) en 53 ml de CH₂Cl₂ anhidro fue agitada a temperatura ambiente durante 22 hs. El progreso de la reacción fue monitoreado por HPLC analítica y TLC. La solución se evaporó bajo presión reducida. El residuo se disolvió en 150 ml de acetato de etilo y se lavó sucesivamente con ácido cítrico 10% (30 ml), agua (30 ml) y salmuera (30 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía flash para dar H-D-Hiv(O-(N-imidazolil)carbonil)-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Thr(O-(N-imidazolil) carbonil)-Sar-MeLeu-Leu-MeLeu-Ala-OMe (1B), como un polvo blanco.

Preparación de H-D-Hiv(O-(N-imidazolil)carbonil)-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Thr(O, N-carbonil)-Sar-MeLeu-Leu-MeLeu-Ala-OMe (2B)

Una solución del undecapéptido obtenido en la reacción anterior (3,26 g, 2,22 mmol) en DMSO seco (40 ml) se agitó y calentó a 100 °C durante 3,5 horas en atmósfera de argón. El progreso de la reacción fue monitoreado por TLC y HPLC analítica. Posteriormente, la solución se disolvió en AcOEt (200 ml) y se lavó sucesivamente con ácido cítrico acuoso 10% (2 veces, 30 ml), agua (1 x 30 ml) y solución acuosa saturada de NaCl (1 x 30 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía flash. El residuo posterior a la evaporación del solvente se secó en alto vacío para dar el undecapéptido H-D-Hiv(O-(N-imidazolil)carbonil)-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Thr(O, N-carbonil)-Sar-MeLeu-Leu-MeLeu-Ala-OMe (2B) como un polvo blanco.

Preparación de H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-OMe (3B)

A una solución del undecapéptido (2B) obtenido en la reacción anterior (3,05 g, 2,17 mmol) en 100 ml de MeOH (seco), enfriada a 0 °C, se añadió MeOK (0,456 g, 6,53 mmol) en una porción, en atmósfera de argón. Después de 1 hora a 0 °C y luego 1 hora a temperatura ambiente, un control del avance de la reacción por HPLC indicó la finalización. La solución se enfrió a 0 °C y luego se neutralizó con una solución acuosa de ácido cítrico 10%. Se evaporó el metanol. La mezcla acuosa se vertió en 100 ml de una mezcla de AcOEt/agua (1:1 v/v). La capa orgánica se lavó con agua (1 x 10 ml) y salmuera (1 x 10 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida. La mezcla en bruto fue separada por HPLC preparativa para dar el pentapéptido H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-OMe (3B).

Preparación de H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-OH (4, Fragmento Aa)

Una solución del pentapéptido obtenido en la reacción anterior (1,265 g, 1,88 mmol, 1,0 equiv.) en THF (18,8 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de agua helada, y luego se añadió LiOH 0,2M (18,8 ml, 3,66 mmol, 2,0 equiv.) gota a gota durante 20 min. Se retiró el baño de enfriamiento y la mezcla (pH = 12-13) se agitó a temperatura ambiente durante alrededor de 2,5 hs (control por TLC). Posteriormente, la solución se enfrió a 0 °C y se neutralizó con HCl 0,1M (pH 2-3). El tetrahidrofurano se evaporó bajo presión reducida. El residuo se disolvió en AcOEt (100 ml) y se lavó con ácido cítrico 10% (1 x 20 ml), agua (1 x 20 ml) y salmuera (1 x 20 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y evaporó bajo presión reducida. La mezcla en bruto se separó por CC para dar el pentapéptido (sal de sodio) H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Ona como un polvo blanco.

HR-MALDI-MS: 677,46 [M + Na]⁺ ([C₃₄H₆₂N₄NaO₈]⁺; calc. 677,4465)

2. Preparación del Fragmento (Ba):

H-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe (Ba)

2.1. Preparación de Boc-MeLeu-Gly-OMe

A una solución de H-Gly-OMe HCl disponible comercialmente (4,0 g, 31,8 mmol, 1,0 equiv.) en DCM seco (240 ml), enfriada a 0 °C, se añadió en atmósfera de argón DIPEA (32,88 ml, 189,0 mmol, 6,0 equiv.). Posteriormente, después de 15 minutos, se añadió HATU (15,72 g, 41,34 mmol, 1,3 equiv.) y Boc-MeLeu-OH (7,8 g, 31,8 mmol, 1,0 equiv.) en una porción. Después de 15 min a 0 °C y luego 22,45 horas a temperatura ambiente, un control del avance de la reacción por TLC indicó la finalización. La reacción fue desactivada por adición de NaHCO₃ 10% (40 ml) y agitada durante 15 min. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (400 ml) y se lavó con ácido cítrico 10% (1 x 80 ml), agua (1 x 80 ml) y salmuera (1 x 80 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida. La mezcla en bruto se separó para dar el éster Boc-MeLeu-Gly-OMe como una espuma blanca aceitosa

UPLC-ESI-MS (m/z) 339,0234 [M + Na]⁺ ([C₁₅H₂₈N₂NaO₅]⁺; calc. 339,1896)

2.2. Preparación de H-MeLeu-Gly-OMe

Una solución del dipéptido obtenido en la reacción anterior (9,9 g, 31,29 mmol, 1,0 equiv.) en TFA/DCM (30 ml, 2:3 v/v) se mantuvo a 0 °C durante 45 min y 2 horas a temperatura ambiente, y los solventes se eliminaron a presión reducida. El producto en bruto se secó a alto vacío (20 min). Posteriormente, se añadió DCM (60 ml) y la mezcla se trituró a 0 °C con DIPEA (2,0 ml) a pH 7-8 para neutralizar el exceso de TFA. Después de la evaporación y secado, la sal de amina en bruto del dipéptido H-MeLeu-Gly-OMe fue utilizada para el paso de acoplamiento siguiente sin purificación adicional.

UPLC-ESI-MS (m/z) 217,0546 [M + H]⁺ ([C₁₀H₂₁N₂O₃]⁺; calc. 217,1552)

2.3. Preparación de Boc-Leu-MeLeu-Gly-OMe

A una solución del dipéptido obtenido en la reacción anterior (3,38 g, 15,63 mmol, 1,0 equiv.) en DCM seco (160 ml), enfriado a 0°C, se añadió en atmósfera de argón DIPEA (8,08 ml, 46,89 mmol, 3,0 equiv.). Posteriormente, después de 10 min se añadió HATU (7,72 g, 20,14 mmol, 1,3 equiv.) y Boc-Leu-OH (3,98 g, 17,19 mmol,

1,1 equiv.) en una porción. Después de 15 min. a 0 °C y luego 15,45 hs a temperatura ambiente, un control del avance de la reacción por TLC indicó la finalización. La reacción fue desactivada por adición de NaHCO₃ 10% (36 ml) y agitada durante 15 min. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (240 ml) y lavó con ácido cítrico 10% (1 x 60 ml) y salmuera (1 x 60 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y evaporó bajo presión reducida. La mezcla en bruto se separó por CC para dar el éster Boc-Leu-MeLeu-Gly-OMe como un aceite amarillento

UPLC-ESI-MS (m/z) 430,0120 [M + H]⁺ ([C₂₁H₄₀N₃O₆]⁺; calc. 430,2917)

2.4. Preparación de H-Leu-MeLeu-Gly-OMe

Una solución del tripéptido obtenido en la reacción anterior (3,0 g, 6,98 mmol, 1,0 equiv.) en TFA/DCM (12 ml, 1:1 v/v) se mantuvo a 0 °C durante 1 hora y 2 horas a temperatura ambiente, y se eliminaron los solventes a presión reducida. El producto en bruto se secó a alto vacío (15 min). Posteriormente, se añadió DCM (20 ml) y la mezcla se trituró a 0 °C con DIPEA a pH 7-8 para neutralizar el exceso de TFA. Después de la evaporación y el secado, la sal de amina en bruto de H-Leu-MeLeu-Gly-OMe fue utilizada para el paso de acoplamiento siguiente sin purificación adicional.

UPLC-ESI-MS (m/z) 330,0227 [M + H]⁺ ([C₁₆H₃₂N₃O₄]⁺; calc. 330,2393); 352,0016 [M + Na]⁺ ([C₁₆H₃₁N₃NaO₄]⁺; calc. 352,4248); 659,1626 [2M + H]⁺ ([C₃₂H₆₃N₆O₈]⁺; calc. 659,1626)

2.5. Preparación de Boc-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe

A una solución del tripéptido obtenido en la reacción anterior (2,3 g, 6,98 mmol, 1,0 equiv.) en DCM seco (105 ml), enfriada a 0 °C, se añadió en atmósfera de argón DIPEA (3,61 ml, 20,34 mmol, 3,0 equiv.). Posteriormente, después de 10 min, se añadió HATU (3,45 g, 9,07 mmol, 1,3 equiv.) y Boc-MeVal-OH (1,78 g, 7,68 mmol, 1,1 equiv.) en una porción. Después de 15 min a 0 °C y luego 45 horas a temperatura ambiente, un control del avance de la reacción por TLC indicó la finalización. La reacción fue desactivada por adición de NaHCO₃ 10% (25 ml) y agitada durante 15 min. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (150 ml) y lavó con ácido cítrico 10% (1 x 50 ml), agua (1 x 50 ml) y salmuera (1 x 50 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida. La mezcla en bruto fue separada para dar el éster Boc-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe como un aceite amarillento.

UPLC-ESI-MS (m/z) 543,0484 [M + H]⁺ ([C₂₇H₅₁N₄O₇]⁺; calc. 543,3758); 565,0467 [M + Na]⁺ ([C₂₇H₅₀N₄NaO₇]⁺; calc. 565,3577)

2.6. Preparación de H-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe

Una solución del tetrapéptido obtenido en la reacción anterior (3,56 g, 6,56 mmol, 1,0 equiv.) en TFA/DCM (12 ml, 1:1 v/v) se mantuvo a 0 °C durante 1 hora y 2 horas a temperatura ambiente, y los solventes se eliminaron a presión reducida. El producto en bruto se secó a alto vacío (alrededor de 15 min). Posteriormente, se añadió DCM (45 ml) y la mezcla se trituró a 0 °C con DIPEA a pH 7-8 para neutralizar el exceso de TFA. Después de la evaporación y secado, la sal de amina en bruto del tetrapéptido H-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe fue utilizada para el paso de acoplamiento siguiente sin purificación adicional.

UPLC-ESI-MS (m/z) 443,0694 [M + H]⁺ ([C₂₂H₄₃N₄O₅]⁺; calc. 443,3233); 465,0063 [M + Na]⁺ ([C₂₂H₄₂N₄NaO₅]⁺; calc. 465,3053)

2.7. Preparación de Boc-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe

A una solución del tetrapéptido obtenido en la reacción anterior (2,90 g, 6,56 mmol, 1,0 equiv.) en DCM seco (110 ml), enfriada a 0 °C, se añadió en atmósfera de argón DIPEA (3,39 ml, 19,68 mmol, 3,0 equiv.). Posteriormente, después de 10 min. se añadió HATU (3,24 g, 8,53 mmol, 1,3 equiv.) y Boc-D-MeAla-OH (1,46 g, 7,21 mmol, 1,1 equiv.) en una porción. Después de 15 min a 0 °C y luego 17,45 horas a temperatura ambiente, un control del avance de la reacción por TLC indicó la finalización. La reacción fue desactivada por adición de NaHCO₃ 10% (25 ml) y agitada durante 15 min. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (150 ml) y lavó con ácido cítrico 10% (1 x 50 ml), agua (1 x 50 ml) y salmuera (1 x 50 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida. La mezcla en bruto se separó por CC para dar el éster Boc-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe como una espuma amarillenta.

UPLC-ESI-MS (m/z) 628,56 [M + H]⁺ ([C₃₁H₅₈N₅O₈]⁺; calc. 628,4285); 650,53 [M + Na]⁺ ([C₃₁H₅₇N₅NaO₈]⁺; calc. 650,4105)

2.8. Preparación de H-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe

Una solución del pentapéptido obtenido en la reacción anterior (1,6 g, 2,55 mmol, 1,0 equiv.) en TFA/DCM (6 ml, 1:1 v/v) se mantuvo a 0 °C durante 1 hora y 2 horas a temperatura ambiente, y los solventes se eliminaron a presión reducida. El producto

en bruto se secó a alto vacío (alrededor de 15 min). Posteriormente, se añadió DCM (20 ml) y la mezcla se trituró a 0 °C con DIPEA a pH 7-8 para neutralizar el exceso de TFA. Después de la evaporación y secado, la sal de amina en bruto del pentapéptido H-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe fue utilizada para el paso de acoplamiento siguiente sin purificación adicional.

UPLC-ESI-MS (m/z) 528,49 [M + H]⁺ ([C₂₆H₅₀N₅O₆]⁺; calc. 528,3761)

2.9. Preparación de Boc-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe

A una solución del pentapéptido obtenido en la reacción anterior (1,33 g, 2,52 mmol, 1,0 equiv.) en DCM seco (60 ml), enfriada a 0 °C, se añadió en atmósfera de argón DIPEA (1,30 ml, 7,56 mmol, 3,0 equiv.). Posteriormente, después de 10 min, se añadió HATU (1,25 g, 3,28 mmol, 1,3 equiv.) y Boc-Abu-OH (0,56 g, 2,77 mmol, 1,1 equiv.) en una porción. Después de 15 min a 0 °C, y luego una noche a temperatura ambiente, un control del avance de la reacción por TLC indicó la finalización. La reacción fue desactivada por adición de NaHCO₃ 10% (15 ml) y agitada durante 15 min. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (100 ml) y se lavó con ácido cítrico 10% (1 x 40 ml), agua (1 x 40 ml) y salmuera (1 x 40 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida. La mezcla en bruto se separó por CC para dar el éster Boc-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe como una espuma amarillenta.

UPLC-ESI-MS (m/z) 713,1513 [M + H]⁺ ([C₃₅H₆₅N₆O₉]⁺; calc. 713,4813); 735,1010 [M + Na]⁺ ([C₃₅H₆₄N₆NaO₉]⁺; calc. 735,4632)

2.10. Preparación de H-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe (Ba)

Una solución del hexapéptido obtenido en la reacción anterior (0,82 g, 1,15 mmol, 1,0 equiv.) en TFA/DCM (6 ml, 1:1 v/v) se mantuvo a 0 °C durante 1 hora y 1 hora a temperatura ambiente, y los solventes se eliminaron a presión reducida. El producto en bruto se secó a alto vacío (alrededor de 15 min). Posteriormente, se añadió DCM (25 ml) y la mezcla se trituró a 0 °C con DIPEA a pH 7-8 para neutralizar el exceso de TFA. Después de la evaporación y secado, la sal de amina en bruto del hexapéptido H-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe fue utilizada para el paso de acoplamiento siguiente sin purificación adicional.

UPLC-ESI-MS (m/z) 613,1925 [M + H]⁺ ([C₃₀H₅₇N₆O₇]⁺; calc. 613,4289)

3. Acoplamiento del Fragmento (Aa) y del Fragmento (Ba)

3.1. Preparación de D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe

A una solución del hexapéptido H-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe obtenido en la reacción anterior (0,7 g, 1,14 mmol, 1,0 equiv.) en DCM seco (33 ml), enfriada a 0 °C, se añadió en atmósfera de argón DIPEA (0,59 ml, 3,42 mmol, 3,0 equiv.). Posteriormente, después de 10 min, se añadió HATU (0,56 g, 1,48 mmol, 1,3 equiv.) y pentapéptido D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-OH (0,75 g, 1,14 mmol, 1,0 equiv.) en una porción. Después de 15 min a 0 °C y luego 16,45 horas a temperatura ambiente, un control del avance de la reacción por TLC indicó la finalización. La reacción fue desactivada por adición de NaHCO₃ 10% (10 ml) y agitada durante 15 min. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (130 ml) y lavó con ácido cítrico 10% (1 x 35 ml), agua (1 x 35 ml) y salmuera (1 x 35 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó por CC para dar el undecapéptido D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OMe como una espuma blanca.

UPLC-ESI-MS (m/z) 625,6903 [M/2 + H]⁺ ([C₃₂H₅₉N₅O₇]⁺; calc. 625,4415); 1249,7793 [M + H]⁺ ([C₆₄H₁₁₇N₁₀O₁₄]⁺; calc. 1249,8751)

3.2. Preparación de D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-MeLeu-Leu-Gli-OH

Una solución del undecadepsipéptido obtenido en la reacción anterior (1,30 g, 1,04 mmol, 1,0 equiv.) en THF (10,4 ml) fue enfriada a 0 °C en un baño de agua helada, y luego se añadió LiOH 0,2M (10,4 ml, 2,08 mmol, 2,0 equiv.) gota a gota durante 10 min. Se mantuvo el baño de enfriamiento y la mezcla (pH = 12-13) se agitó a 0 °C durante 20 min y 30 min a temperatura ambiente (control por TLC). Posteriormente, la solución se enfrió a 0 °C y se neutralizó con ácido cítrico acuoso 10% (pH 3-4). La solución se evaporó bajo presión reducida. El residuo se disolvió en AcOEt (140 ml) y se lavó con agua (1 x 30 ml) y salmuera (1 x 30 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó por CC para dar el undecapéptido D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-OH como un polvo blanco.

UPLC-ESI-MS (m/z) 1235,7690 [M + H]⁺ ([C₆₃H₁₁₅N₁₀O₁₄]⁺; calc. 1235,8594)

4. Macrolactonización: Preparación de Ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ia)

A una solución de DMAP (0,507 g, 4,144 mmol, 4,0 equiv.) y hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio (PyBOP) (1,078 g, 2,071 mmol, 2,0 equiv.) en DCM (128 ml) se añadió gota a gota durante 2 horas una solución de ácido undecadepsipéptido obtenido en la reacción anterior (1,28 g, 1,036 mmol, 1,0 equiv.) en DCM (20 ml). La mezcla se agitó durante una noche (22 hs) después de completar la adición de ácido y luego se transfirió a una ampolla de decantación. Tiempo de reacción total = 24 hs. La solución se lavó con HCl 0,1M (20 ml) y la capa orgánica se separó y secó sobre MgSO₄, se filtró y concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por CC dando así el cicloundecadepsipéptido Ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ia) como un sólido blanco. Posteriormente, el compuesto obtenido fue vuelto a purificar por HPLC preparativa (para dar Ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) como un polvo blanco. Pureza 99,38% (80 °C, 30 min).

(C₆₃H₁₁₂N₁₀O₁₃, MW = 1217,6226 g/mol),

UPLC (40 °C, ACQUITY UPLC ® BEH C₁₈ 1,7 µm, 214 nm, 50 → 95%, 7 min)

t_R = 2,923 min

UPLC

El rendimiento global para obtener el undecadepsipéptido Ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) comenzando a partir del undecadepsipéptido natural Ciclo-(MeBmt-Thr-Sar-MeLeu-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) es superior al 50%.

Ejemplo 1b:

Los compuestos (Ic), (If), (Ig), (Ii) y (Ik) pueden ser preparados de acuerdo con una vía de reacción análoga a la del Ejemplo 1A.

Ejemplo 2

Preparación de cicloundecadepsipéptido (Ib):

Ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ib)

2. Preparación del Fragmento (Bb):

H-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe (Bb)

2.1. Preparación de Boc-MeLeu-Ala-OMe

A una solución disponible comercialmente de H-Ala-Ome HCl (2,00 g, 14,32 mmol, 1,0 equiv.) en DCM seco (130 ml), enfriada a 0 °C, se añadió en atmósfera de argón DIPEA (14,68 ml, 86,0 mmol, 6,0 equiv.). Posteriormente, después de 15 minutos, se añadió HATU (6,52 g, 17,18 mmol, 1,2 equiv.) y Boc-MeLeu-OH (3,512 g, 14,32 mmol, 1,0 equiv.) en una porción. Después de 15 min a 0 °C y luego 48 horas a temperatura ambiente (RT = 2 días 15 min), un control del avance de la reacción por TLC indicó la finalización. La reacción fue desactivada por adición de NaHCO₃ 10% (20 ml) y agitada durante 15 min. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (200 ml) y lavó con ácido cítrico 10% (1 x 40 ml), agua (1 x 40 ml) y salmuera (1 x 40 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida. La mezcla en bruto se separó por CC para dar el éster Boc-MeLeu-Ala-OMe como un aceite amarillo pálido. La muestra (30 mg) fue vuelta a purificar por RP-HPLC semi-preparativa y el péptido fue liofilizado para dar el éster Boc-MeLeu-Ala-OMe como un polvo blanco.

2.2. Preparación de H-MeLeu-Ala-OMe

Una solución del dipéptido obtenido en la reacción anterior (1,70 g, 5,14 mmol, 1,0 equiv.) en TFA/DCM (10 ml, 2:3 v/v) se mantuvo a 0 °C durante 1,5 horas y los solventes se eliminaron bajo presión reducida. El producto en bruto se secó a alto vacío (20 min). Posteriormente, se añadió DCM (10 ml) y la mezcla se trituró a 0 °C con DIPEA a pH 7-8 para neutralizar el exceso de TFA. Posteriormente, la mezcla de reacción se diluyó con DCM (60 ml) y lavó con agua (1 x 10 ml). La fase orgánica se filtró, secó (Na₂SO₄), evaporó y secó a alto vacío. La sal de amina en bruto de H-MeLeu-Ala-OMe fue utilizada para el paso de acoplamiento siguiente sin purificación adicional.

2.3 Preparación de Boc-Leu-MeLeu-Ala-OMe

A una solución del dipéptido obtenido en la reacción anterior (7) (2,17 g, 9,42 mmol, 1,0 equiv.) en DCM seco (108 ml), enfriada a 0 °C, se añadió en atmósfera de argón DIPEA (6,45 ml, 37,68 mmol, 4,0 equiv.). Posteriormente, después de 10 min, se añadió HATU (4,65 g, 12,25 mmol, 1,3 equiv.) y Boc-Leu-OH (2,39 g, 10,36 mmol, 1,1 equiv.) en una porción. Después de 15 min a 0 °C, y luego 15 horas a temperatura ambiente (15 hs 15 min), un control del avance de la reacción por TLC indicó la finalización. La reacción fue desactivada por adición de NaHCO₃ 10% (10 ml) y agitada durante 15 min. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (50 ml) y lavó con ácido cítrico 10% (1 x 20 ml), agua (1 x 20 ml) y salmuera (1 x 20 ml). La

fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se evaporó a presión reducida. La mezcla en bruto se separó por CC para dar el tripéptido Boc-Leu-MeLeu-Ala-OMe como un aceite amarillento. La muestra fue vuelta a purificar por RP-HPLC semi-preparativa y se liofilizó el péptido para dar el tripéptido Boc-Leu-MeLeu-Ala-OMe como un polvo blanco.

2.4. Preparación de H-Leu-MeLeu-Ala-OMe

Una solución del tripéptido obtenido en la reacción anterior (2,00 g, 4,50 mmol, 1,0 equiv.) en TFA/DCM (10 ml, 2:3 v/v) se mantuvo a 0 °C durante 2 hs y los solventes se eliminaron bajo presión reducida. El producto se secó a alto vacío (20 min) para obtener el material en bruto. Posteriormente, se añadió DCM (20 ml) y la mezcla se trituró a 0 °C con DIPEA a pH 7-8 (papel de tornasol) para neutralizar el exceso de TFA. Después de la evaporación y secado, la amina en bruto H-Leu-MeLeu-Ala-OMe fue utilizada para el paso de acoplamiento siguiente sin purificación adicional. La muestra (25 mg) fue vuelta a purificar por RP-HPLC semi-preparativa y se liofilizó el producto para dar el tripéptido H-Leu-MeLeu-Ala-OMe como un sólido.

2.5. Preparación de Boc-D-MeAla-EtVal-OH

Se obtuvo Boc-D-MeAla-EtVal-OH a partir de Boc-D-MeAla-Val-OMe utilizando BuLi y fluoroborato de trietiloxonio, seguido de la hidrólisis del éster metílico de acuerdo con la literatura [Jean François. Guichou, tesis doctoral titulada "De nouveaux analogues de Cyclosporine A comme agent anti-VIH-1", Faculté des Sciences, Université de Lausanne, 2001, p.121-122].

2.6. Preparación de Boc-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe

A una solución del tripéptido H-Leu-MeLeu-Ala-OMe (0,096 g, 0,291 mmol, 1,0 equiv.) en DCM seco (8 ml), enfriada a -8 °C, se añadió en atmósfera de argón DIPEA (0,15 ml, 0,87 mmol, 3,0 equiv.). Posteriormente, después de 10 min, se añadió HATU (0,13 g, 0,35 mmol, 1,2 equiv.) y el dipéptido Boc-D-MeAla-EtVal-OH (0,1 g, 0,29 mmol, 1,0 equiv.) en una porción. Después de 10 min a -8 °C y luego 40 min a temperatura ambiente, un control del avance de la reacción por HPLC indicó la finalización. La reacción fue desactivada por adición de NaHCO_3 10% (1 ml) y agitada durante 15 min. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (20 ml) y lavó con ácido cítrico 10% (1 x 5 ml), agua (1 x 5 ml) y salmuera (1 x 5 ml). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se evaporó bajo presión reducida. La mezcla en

bruto se separó por CC para dar el pentapéptido Boc-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe como un aceite. La muestra fue vuelta a purificar por RP-HPLC semi-preparativa y se liofilizó el producto para dar el pentapéptido Boc-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe como un polvo blanco.

2.7. Preparación de H-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe

Una solución del pentapéptido obtenido en la reacción anterior (0,45 g, 0,69 mmol, 1,0 equiv.) en TFA/DCM (4,0 ml, 2:3 v/v) se mantuvo a 0 °C durante 1,5 horas y los solventes se eliminaron a presión reducida. El residuo se secó a alto vacío (0,5 hs). Posteriormente, se añadió DCM (10 ml) y la mezcla se trituro a 0 °C con DIPEA a pH 7-8 (papel de tornasol) para neutralizar el exceso de TFA. Después de la evaporación y secado, la sal de amina en bruto del pentapéptido HD-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe fue utilizada para el paso de acoplamiento siguiente sin purificación adicional. Una muestra (30 mg) fue purificada por RP-HPLC semi-preparativa y se liofilizó el péptido para dar la amina libre del pentapéptido HD-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe como un polvo blanco.

2.8. Preparación de Boc-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe

A una solución del pentapéptido en bruto obtenido en la reacción anterior (0,2 g, 0,36 mmol, 1,0 equiv.) en DCM seco (10 ml), enfriada a 0 °C, se añadió en atmósfera de argón DIPEA (0,18 ml, 1,08 mmol, 3,0 equiv.). Posteriormente, después de 5 minutos, se añadió HATU (0,19 g, 0,5 mmol, 1,4 equiv.) y Boc-Abu-OH (0,088 g, 0,42 mmol, 1,1 equiv.) en una porción. Después de 15 min a 0 °C y luego 1,15 horas a temperatura ambiente (RT = 1,5 hs), un control del avance de la reacción por TLC indicó la finalización. La reacción fue desactivada por adición de NaHCO₃ 10% (2 ml) y agitada a 15 min. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (50 ml) y lavó con ácido cítrico 10% (1 x 10 ml), agua (1 x 10 ml) y salmuera (1 x 10 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida. La mezcla en bruto se separó por CC para dar el hexapéptido Boc-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe como un aceite amarillento. Una muestra (30 mg) fue vuelta a purificar por RP-HPLC semi-preparativa y se liofilizó el producto para dar el hexapéptido Boc-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe como un polvo blanco.

2.9. Preparación de H-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe Fragmento (Bb)

Una solución del hexapéptido obtenido en la reacción anterior (0.187 g, 0,25 mmol, 1,0 equiv.) en TFA/DCM (3,0 ml, 2:3 v/v) se mantuvo a 0 °C durante 1,5 horas y los solventes se eliminaron a presión reducida. El producto en bruto se secó a alto vacío (0,5 hs). Posteriormente, se añadió DCM (3 ml) y la mezcla se trituró a 0 °C con DIPEA a pH 7-8 (papel de tornasol) para eliminar el TFA. Después de la evaporación y secado, la amina en bruto H-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe fue utilizada para el paso de acoplamiento siguiente sin purificación adicional. Una muestra del producto en bruto (23 mg) fue vuelta a purificar por RP-HPLC semi-preparativa y se liofilizó el péptido para dar el Fragmento (Ba) H-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe como un polvo blanco.

UPLC-ESI-MS (m/z) 641,259 [M + H]⁺ ([C₃₂H₆₁N₆O₇]⁺; calc.641,4602)

3. Acoplamiento del Fragmento (Aa) y el Fragmento (Bb)

3.1. Preparación de H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe

A una solución del hexapéptido H-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe obtenido en la reacción anterior (0,16 g, 0,25 mmol, 1,0 equiv.) en DCM seco (10 ml), enfriada a 0 °C, se añadió en atmósfera de argón DIPEA (0,214 ml, 1,26 mmol, 5,0 equiv.). Posteriormente, después de 5 minutos se añadió HATU (0,12 g, 0,31 mmol, 1,25 equiv.) y el pentadepsipéptido H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-OH (4), obtenido anteriormente (0,16 g, 0,25 mmol, 1,0 equiv.) en una porción. Después de 15 min a 0 °C, y luego 1,15 horas a temperatura ambiente (RT = 1,5 hs), un control del avance de la reacción por TLC indicó la finalización. La reacción fue desactivada por adición de NaHCO₃ 10% (3 ml) y agitada durante 15 min. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (40 ml) y lavó con ácido cítrico 10% (1 x 8 ml), agua (1 x 8 ml) y salmuera (1 x 8 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida. La mezcla en bruto se separó por CC para dar el undecapéptido H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe como una espuma blanca. Una muestra analítica (18 mg) fue vuelta a purificar por RP-HPLC semi-preparativa y se liofilizó el producto para dar el undecapéptido H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe como un polvo blanco.

3.2. Preparación de H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OH

Una solución del éster metílico del undecapéptido obtenido en la reacción anterior (0,27 g, 0,21 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2,5 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de agua helada, y luego se añadió LiOH 0,2M (2,11 ml, 0,42 mmol, 2,0 equiv.) gota a gota durante 10 min. Se retiró el baño de enfriamiento y la mezcla (pH = 12-13; papel de tornasol) se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora 20 min (control por TLC). Posteriormente, la solución se enfrió a 0 °C y acidificó con HCl 1,0M a pH 3-4. La solución se evaporó bajo presión reducida. El residuo se disolvió en AcOEt (40 ml) y lavó con ácido cítrico 10% (1 x 8 ml), agua (1 x 8 ml) y salmuera (1 x 8 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó bajo presión reducida. La mezcla en bruto se separó por CC para dar el ácido H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OH como un polvo blanco. La muestra (40 mg) fue vuelta a purificar por RP-HPLC semi-preparativa y se liofilizó el producto para dar el undecapéptido H-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal-MeBmt-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-OH como un polvo blanco.

4. Macrolactonización: Preparación de Ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-EtVal-MeLeu-Leu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ib)

A una solución de DMAP (0,048 g, 0,39 mmol, 4,0 equiv.) y hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio (PyBOP) (0,102 g, 0,196 mmol, 2,0 equiv.) en DCM (12 ml) se añadió gota a gota durante 1,5 horas una solución del undecapéptido obtenido en la reacción anterior (0,124 g, 0,098 mmol, 1,0 equiv.) en DCM (4 ml). Se agitó la mezcla después de completar la adición del ácido (RT = 24 hs), y luego se transfirió a una ampolla de decantación. La solución se lavó con HCl 1M (2 ml) y la capa orgánica se separó y secó sobre MgSO₄, se filtró y concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna, dando así el cicloundecadepsipéptido Ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ia) como un sólido blanco. Una muestra (77 mg) fue purificada por RP-HPLC semi-preparativa y se liofilizó el producto para dar el cicloundecadepsipéptido Ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ib) como un polvo blanco.

UPLC-ESI-MS (m/z) 1245,787 [M + H]⁺ ([C₆₅H₁₁₇N₁₀O₁₃]⁺; calc. 1245,8802), 623,465 [M/2 + H]⁺ (calc. 623,444)

Ejemplo 3:

Preparación de Ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ih)

La preparación de (Ih) se llevó a cabo por analogía con la preparación del compuesto descrito en el Ejemplo 2.

El Fragmento (Bh) fue preparado aplicando condiciones de reacción similares a las descritas en el Ejemplo 2 para la preparación del Fragmento (Bb). Luego, el Fragmento (Bh) se acopló al Fragmento (Aa) aplicando condiciones de reacción similares a las descritas en el Ejemplo 2.

Luego se llevó a cabo la macrolactonización aplicando condiciones similares a las descritas en el Ejemplo 2a dando como resultado el cicloundecadepsipéptido Ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ih).

UPLC-ESI-MS (m/z) 1259,888 $[M + H]^+$ ($[C_{66}H_{119}N_{10}O_{13}]^+$; calc. 1259,8958); 1260,788 $[M + 2H]^{2+}$ ($[C_{66}H_{120}N_{10}O_{13}]^{2+}$; calc. 1260,9037)

Ejemplo 4:

Preparación de Ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Id)

El Fragmento H-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Ala-OMe (Bd) fue preparado aplicando condiciones de reacción similares a las descritas en el Ejemplo 1 para la preparación del Fragmento (Ba). Luego, se llevaron a cabo el acoplamiento al Fragmento (Aa) y la macrolactonización aplicando condiciones de reacción similares a las descritas en el Ejemplo 1 dando como resultado el cicloundecadepsipéptido Ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Id).

UPLC-ESI-MS (m/z) 1261,888 $[M + H]^+$ ($[C_{66}H_{117}N_{10}O_{14}]^+$; calc. 1261,8751)

Ejemplo 5:

Efectos inhibitorios en un sistema de replicón de VHC

Para determinar si los compuestos cicloundecadepsipéptidos de la presente invención tienen actividad anti-VHC, se realizaron experimentos que compararon los efectos inhibitorios de estos compuestos en un sistema de replicón de VHC.

Los ensayos utilizaron Huh 9-13 que contiene el virus de hepatitis C genotipo 1b replicón Con1 (Lohmann et al. 2001. J. Virol. 75:1437-1449, y Lohmann et al. 1999.

Science. 285:110-113). Las células fueron subcultivadas en un medio de crecimiento celular DMEM suplementado con 10% de FCS, 1% de aminoácidos no esenciales, 1% de penicilina/estreptomicina y 2% de Geneticin (Invitrogen) en una proporción de 1:4 - 1:5 y cultivadas durante 3 - 4 días en frascos de cultivo de tejidos de 75cm² (Techno Plastic Products), se las cosechó y sembró en medio de ensayo (DMEM, 10% de FCS, 1% de aminoácidos no esenciales, 1% de penicilina/estreptomicina) a una densidad de 5000 células/pocillo (100 µl/pocillo) en placas de microtitulación de cultivo de tejidos de 96 pocillos (Falcon, Beckton Dickinson) para la evaluación de efecto citostático/citotóxico y antiviral. Las placas de microtitulación se incubaron durante una noche (37 °C, CO₂ 5%, humedad relativa 95-99%), obteniéndose una monocapa celular no confluyente.

La densidad celular y los efectos citostáticos se estimaron en cultivos paralelos en placas comunes de 96 pocillos (Beckton-Dickinson) usando el ensayo MTT (CellTiter 96 Aqueous Non-Radiactive Cell Proliferation Assay, Promega). En este ensayo, 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxi-fenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio (MTS) es bio-reducido a un formazán que se cuantifica a 498 nm en un lector de placas. La producción del formazán está directamente relacionada con el número de células viables. Se midió la absorbancia a una longitud de onda de 498nm (Safire², Tecan) y las densidades ópticas (valores de OD) se transformaron en porcentajes de los controles no tratados.

Los compuestos fueron disueltos en DMSO a una concentración de 4 mmol/L. Las soluciones de reserva se utilizaron inmediatamente para configurar los experimentos. Se examinaron los compuestos en 24 concentraciones diferentes que abarcaban de 0,0001 µmol/L a 100 µmol/L. La concentración máxima de DMSO en el ensayo se determinó en 2,5% (a una concentración final 100 µM del compuesto). Durante la configuración del ensayo, el porcentaje de DMSO disminuyó en forma concomitante con la reducción de la concentración del compuesto.

Para la evaluación de los efectos antivirales, se aspiró el medio de ensayo y las placas con las monocapas secas se almacenaron a -80 °C hasta la extracción. Después de descongelar las placas a temperatura ambiente, la monocapa celular se lisó con 100 µl de buffer de lisis célula-a-ADNc (Invitrogen). Se realizó la lisis de las células durante 10 min a temperatura ambiente después de transferir todo el líquido a una placa de PCR (Axygen). La placa de PCR se incubó durante 15 minutos a 75 °C (T3, Biometra). El lisado se diluyó 1:2 con agua libre de ARNasa/ADNasa, después de lo cual se transfirieron 5 µl a la placa de PCR en tiempo real (Applied Biosystems).

El contenido de ARN del replicón se cuantificó con un método de RT-PCR en tiempo real, cuantitativo, de un solo paso (RT-qPCR): Low Rox One-Step RT-qPCR master mix, Abgene). Los cebadores directo e inverso utilizados fueron: 5'-CCA GAT CAT CCT GAT CGA CCA G-3' y 5'-CCG GCT ACC TGC CCA TTC-3', respectivamente. La sonda fluorogénica fue 5'-ACATCGCATCGAGCGAGCACGTAC-3'. El análisis de las muestras se realizó con un equipo SDS7500F (Applied Biosystems, perfil de termociclado estándar: 30 min a 48 °C, 10 min a 95 °C, 40 ciclos de 15 seg a 95 °C y 1 min a 60 °C) después de que las cantidades de ARN del replicón se transformaron en porcentajes de los controles no tratados.

La EC₅₀ (valor derivado de la curva dosis-respuesta) representa la concentración a la cual se observa 50% de inhibición de la replicación viral. La CC₅₀ (valor derivado de la curva dosis-respuesta) representa la concentración a la cual la actividad metabólica de las células se reduce al 50% de la actividad metabólica de las células no tratadas.

Los resultados de estos experimentos permiten el cálculo de EC₅₀ ± SD (desviación estándar), la cual es la concentración efectiva requerida para inhibir la replicación del replicón del VHC en un 50%, y de la CC₅₀ ± SD (siempre que sea posible), la cual es la concentración requerida que inhibe la proliferación de las células en crecimiento exponencial en un 50%. Los valores de EC₅₀ y CC₅₀ ± SD fueron calculados, respectivamente, como la mediana de todos los valores de EC₅₀ o CC₅₀ derivados de las tres curvas de dosis-respuesta individuales. El índice de selectividad (SI), indicador de la ventana terapéutica de los compuestos se calculó como la relación entre CC₅₀ y EC₅₀.

La Tabla 1 muestra los resultados de la comparación de los valores de EC₅₀, CC₅₀ (µmol/L) y SI de los compuestos seleccionados en las células Huh 9-13.

Compuesto	EC ₅₀ (µmol/L)		CC ₅₀ (µmol/L)		SI
	media	sd	media	sd	
Debio 025	0,034	0,02	2,5	0,6	73,5
(Ia)	0,034	0,019	60,1		1791,8
(Ib)	0,037	0,023	52,3		1398
(Ic)	0,022	0,006	86,9		4024,1

46

(Id)	0,025	0,013	44,4		1745,9
(Ie)	0,07	0,02	8,3	3,3	117,9
(If)	0,025	0,02	81,8		3236,8
(Ig)	0,033	0,016	67		2045,2
(Ih)	0,022	0,02	20,5		950
(Ii)	0,041	0,023	25,4		623,8
(Ik)	0,075	0,033	9,8	0,9	132

Tabla 1

Se considera que una concentración del compuesto produce un efecto antiviral genuino en el sistema de replicón del VHC cuando a esa concentración particular el efecto anti-replicón está muy por encima del umbral del 70% y se observa una reducción en la actividad metabólica de no más del 30%.

Como se muestra en la Tabla 1, estos resultados obtenidos en células Huh 9-13 muestran que estos compuestos inhiben selectivamente la replicación del replicón del virus de la hepatitis C en cultivos celulares y demuestran valores de potencia similares o mayores que Debio 025 con valores de EC₅₀ de dos dígitos en el rango nanomolar e índices de selectividad similares a superiores.

Ejemplo 6

Actividad no inmunosupresora

Para determinar si los compuestos cicloundecadepsipéptidos de la presente invención tienen actividad no inmunosupresora, se realizaron experimentos que compararon la inhibición dependiente de la dosis de la proliferación de células T inducida por Concanavalina-A (ver Tabla 2).

El método de los ensayos se realizó de acuerdo con lo descrito por Dayton et al. (1992. Mol. Pharmacol. 41. 671-676) y Mishell et al. (1980. Cell proliferation in selected methods in cellular immunology, V, XXIX, W.H. Freeman Co., San Francisco, CA. 153-160). La IC₅₀ (mitad de la concentración inhibitoria máxima) de los compuestos se calculó a partir de la curva dosis-respuesta y se comparó con la IC₅₀ de CsA (relación de IC₅₀).

Compuesto	IC ₅₀ (micromol/L)	Relación de IC ₅₀
-----------	-------------------------------	------------------------------

47

Ciclosporina A (CsA)	0,006	1
(Ia)	2	333
(Ib)	9,44	1573
(Ic)	0,984	164
(Id)	1,435	239
(Ie)	2	333
(If)	7,725	1288
(Ig)	2,69	448
(Ih)	1,74	290
(Ii)	2,69	448
(Ik)	3,44	573

Tabla 2

En este estudio, los Compuestos (Ia), (Ib) y (Id) son al menos alrededor de 300 veces menos inmunosupresores que la Ciclosporina A (CsA) (en términos de relación de IC₅₀).

Ejemplo 7:

Interacciones con transportadores hepáticos

Para determinar si los compuestos cicloundecadepsipéptidos de la presente invención interactúan con transportadores hepáticos, se realizaron experimentos que compararon la inhibición dependiente de la concentración hacia la proteína 2 asociada a resistencia a múltiples fármacos (MRP2), el polipéptido 1B1 transportador de aniones orgánicos (OATP1B1), la bomba exportadora de sales biliares (BSEP) y el polipéptido co-transportador de sodio-taurocolato (NTCP). Estos transportadores están involucrados en la circulación hepatobiliar de compuestos endógenos como sales biliares o bilirrubina (para una revisión, ver C. Pauli-Magnus et al, J. Hepatology, 2005, 43:342-357). Algunos de ellos también contribuyen a la eliminación de xenobióticos.

MRP2 y BSEP fueron expresados mediante SOLVO Biotechnology en células ováricas (Sf9) de *Spodoptera frugiperda* infectando las células de insecto con un baculovirus recombinante. La inhibición del transporte de los sustratos sonda radioactivos (estradiol-17-beta-glucurónido y taurocolato para MRP2 y BSEP, respectivamente) en vesículas de membrana evertidas, que contenían el transportador, se midió mediante recuento por centelleografía.

Los ensayos de OATP1B1 y NTCP se realizaron con células de ovario de hámster chino (CHO) que expresan estos transportadores de captación humanos. La cantidad de sustrato sonda transportado (estróna-3-sulfato y taurocolato para OATP1B1 y NTCP, respectivamente) se determinó por centelleografía líquida o fotometría de fluorescencia después de la lisis celular.

La IC₅₀ (definida como la concentración necesaria para inhibir el transporte del sustrato sonda en un 50%, la mitad de la concentración inhibitoria máxima) de los compuestos se calculó a partir de la curva de concentración-respuesta y se comparó con la IC₅₀ de Debio 025 (relación de IC₅₀ expresada como "múltiplo de Debio 025" en las tablas).

MRP2 es la fuerza impulsora principal en el flujo biliar independiente de las sales biliares y transporta una gran variedad de aniones orgánicos incluyendo bilirrubina-diglucurónido, conjugados de sales biliares, así como también varios fármacos. La Tabla 3 muestra los resultados de la interacción de los compuestos seleccionados con respecto a este transportador.

MRP2		
	IC ₅₀ (µM)	múltiplo de Debio 025
Debio 025	15	1
(lb)	n.i.	n.a.
(lh)	n.i.	n.a.
(ld)	n.i.	n.a.
(le)	20	0,73
(lc)	2,2	6,6
(la)	n.i.	n.a.
(lf)	n.i.	n.a.

n.i.: sin inhibición

n.a. no aplicable

Tabla 3

OATP1B1 transporta sales biliares de manera independiente del sodio. Por otra parte, numerosos fármacos son sustratos de OATPs. La Tabla 4 muestra los resultados de la interacción de los compuestos seleccionados con respecto a OATP1B1.

OATP1B		
	IC ₅₀ (µM)	múltiplo de Debio 025
Debio 025	0,42	1
(lb)	6,2	0,07
(lh)	12	0,04
(ld)	7,9	0,05
(le)	0,58	0,72
(lc)	2,3	0,18
(la)	18	0,02
(lf)	15	0,03

Tabla 4

BSEP es el principal sistema de eflujo de sales biliares que participa en la secreción de compuestos colefílicos del hepatocito a los canalículos biliares. La Tabla 5 muestra los resultados de la interacción de los compuestos seleccionados con respecto a BSEP.

BSEP		
	IC ₅₀ (µM)	múltiplo de Debio 025
Debio 025	0,24	1
(lb)	0,15	1,6
(lh)	0,30	0,80
(ld)	0,57	0,42
(le)	0,60	0,40
(lc)	0,16	1,5
(la)	0,40	0,60
(lf)	0,48	0,50

Tabla 5

NTCP interviene en la captación de sales biliares dependiente del sodio de la circulación portal, que es esencial para la formación de la bilis. La Tabla 6 muestra los resultados de la interacción de los compuestos seleccionados con respecto a NTCP.

NTCP		
	IC ₅₀ (µM)	múltiplo de Debio 025
Debio 025	3,2	1

(lb)	65	0,05
(lh)	n.i.	n.a.
(ld)	2,5	1,2
(le)	26	0,12
(lc)	30	0,11
(la)	n.i.	n.a.
(lf)	n.i.	n.a.

n.i.: sin inhibición
n.a.: no aplicable

Tabla 6

Además de estas investigaciones *in vitro* sobre transportadores hepáticos, los compuestos cicloundecadepsipéptidos de la presente invención también fueron evaluados con respecto a la inhibición *in vitro* de enzimas metabólicas, así como sobre las propiedades farmacocinéticas en animales *in vivo*.

Como se muestra en las Tablas 3-6, los resultados de los experimentos de transporte *in vitro* muestran que estos compuestos demuestran una potencia mucho más baja para inhibir algunos transportadores hepáticos, en comparación con Debio 025. En particular, algunos compuestos muestran ausencia de inhibición de MRP2 y/o una potencia hasta 50 veces menor hacia OATP1B1. Por lo tanto, se espera que estos compuestos reduzcan los posibles efectos adversos (por ej., hiperbilirrubinemia) relacionados con la inhibición de transportadores hepáticos, o las interacciones farmacológicas potenciales (por ej., con inhibidores de HMG-CoA reductasa como atorvastatina) relacionadas con la inhibición de los transportadores hepáticos, o incluso ambos.

51

Lista de Abreviaturas

Abu	ácido L- α -amino-n-butírico
Ac	acetilo
AcOEt	acetato de etilo
AcOH	ácido acético
Ala	L-alanina
Boc	ter-butiloxycarbonilo
BSEP	bomba exportadora de sales biliares
t-Bu	ter-butilo
Ca(MeO) ₂	metóxido de calcio
CC	cromatografía en columna
DCM	diclorometano
DIPEA	N, N-diisopropiletilamina
DMAP	4-(N,N-dimetilamino) piridina
DMSO	dimetil sulfóxido
Eq	equivalente
ESI-MS	espectrometría de masas de ionización por electrospray
EtVal	N-etil-L-valina
Fmoc	9-fluorenilmetoxycarbonilo
HATU	N-[(dimetilamino)-1H-1,2,3-triazol[4,5-b]piridin-1-il-metilen]-N-metilmetanaminio hexafluorofosfato N-óxido
D-Hiv	ácido D-hidroxiisovalérico
g	gramo
HCOOH	ácido fórmico
HPLC	cromatografía líquida de alta resolución
HR-MALDI-MS	espectrometría de masas MALDI-TOF de alta resolución
HR-Q-TOF-MS	espectrometría de masas Q-TOF de alta resolución
Im ₂ CO	N,N-carbonil-diimidazol (CDI)
Kg	kilogramo
KOMe	metóxido de potasio
L	litro
MALDI	desorción/ionización por láser asistida por matrices
MALDI-TOF	espectrometría de masas de tiempo de vuelo
Me	metilo
D-MeAla	N-metil-D-alanina

MeBmt	N-metil-(4R)-4-[(E)-2-butenil]-4,4-dimetil-L-treonina
MeLeu	N-metil-L-leucina
MeCN	acetonitrilo
MeOH	metanol
MeVal	N-metil-L-valina
mg	miligramo
ml	mililitro
MRP2	proteína 2 asociada a resistencia a múltiples fármacos
MS	espectrometría de masas
MtBE	metil-ter-tiobutil éter
NMR	resonancia magnética nuclear
NTCP	polipéptido co-transportador de sodio-taurocolato
OATP1B1	polipéptido 1B1 transportador de aniones orgánicos
PyBOP	(benzotriazol-1-iloxi)-tris(pirrolidin)fosfonio
	hexafluorofosfato
RP	fase reversa
RP-HPLC	HPLC de fase reversa
RT	tiempo de reacción
Thr	L-treonina
TFA	ácido trifluoroacético
t _R	tiempo de retención
THF	tetrahidrofurano
T _j	temperatura del encamisado
TLC	cromatografía en capa fina
Tr	temperatura en el reactor
UPLC	cromatografía líquida de ultra-resolución
Vol. volumen)	volúmenes (1 g de materia prima fundamental equivale a 1

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto cicloundecadepsipéptido de Fórmula (I)

Ciclo-(AXX₁-AXX₂-AXX₃-AXX₄-AXX₅-AXX₆-AXX₇-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (I)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

en el cual:

AXX₁ es MeBmt, 4-fluoro-MeBmt, dihidro-MeBmt, 8-hidroxi-MeBmt;
O-acetyl-MeBmt;

AXX₂ es Abu, Val, Thr, Thr(OMe), Thr(OAc), Thr(OCOCH₂CH₂CH₂OH), Nva,
5-hidroxi-Nva;

AXX₃ es D-MeAla, D-3-fluoro-MeAla, D-MeSer, D-MeSer(OAc),
D-MeSer(OCH₂CH₂OH), D-MeSer(OCH₂CH₂NEt₂), D-MeAsp(OMe);

AXX₄ es Melle, MeMet, MeVal, MeThr, MeThr(OAc), MeAla, EtVal, EtIle, EtPhe,
EtTyr, EtThr(OAc), MeThr(OAc), MeTyr, MeTyr(OAc), MeTyr(OMe), MePhe,
MeMet(Ox) en el cual el átomo de azufre de la metionina es sulfóxido o
sulfona;

AXX₅ es Leu, Val, Ile;

AXX₆ es MeAla, Sar, MeLeu; y

AXX₇ es Gly, Ala.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 caracterizado porque en la
Fórmula (I),

AXX₁ es MeBmt, 8-hidroxi-MeBmt;

AXX₂ es Abu, Val, Thr, Thr(OMe), Thr(OAc), Thr(OCOCH₂CH₂CH₂OH),
5-hidroxi-Nva;

AXX₃ es D-MeAla, D-3-fluoro-MeAla, D-MeSer, D-MeSer(OAc), D-MeAsp(OMe);

AXX₄ es Melle, MeMet, MeMet(Ox) en el cual Ox es -SOMe, -SO₂Me, MeVal, EtVal,
EtIle, MeTyr; y

AXX₅ es Leu, Val, Ile

AXX₆ es MeAla, Sar, MeLeu; y

AXX₇ es Gly, Ala.

3. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2
caracterizado porque

AXX₁ es MeBmt;
 AXX₂ es Abu, Val, Thr;
 AXX₃ es D-MeAla;
 AXX₄ es Melle, MeVal, EtVal;
 AXX₅ es Leu, Val, Ile;
 AXX₆ es MeAla, MeLeu, Sar; y
 AXX₇ es Gly, Ala.

4. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 que tiene las siguientes fórmulas:

ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ia)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ib)
 ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Ile-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ic)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Id)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Val-MeAla-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ie)
 ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (If)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Ile-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ig)
 ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ih)
 ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-Melle-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ii)
 ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Val-Sar-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ik)

5. Una composición farmacéutica para prevenir o tratar infecciones por hepatitis C o trastornos inducidos por VHC, que comprende el compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, junto con uno o más diluyentes o vehículos aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

6. Una combinación farmacéutica que comprende al menos: a) un primer agente que consiste del compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, y b) un segundo agente que tiene propiedades de actuar contra la replicación del VHC.

7. La combinación farmacéutica de la reivindicación 6 para usar en la prevención o el tratamiento de infecciones por hepatitis C o trastornos inducidos por VHC.

8. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 como un medicamento.

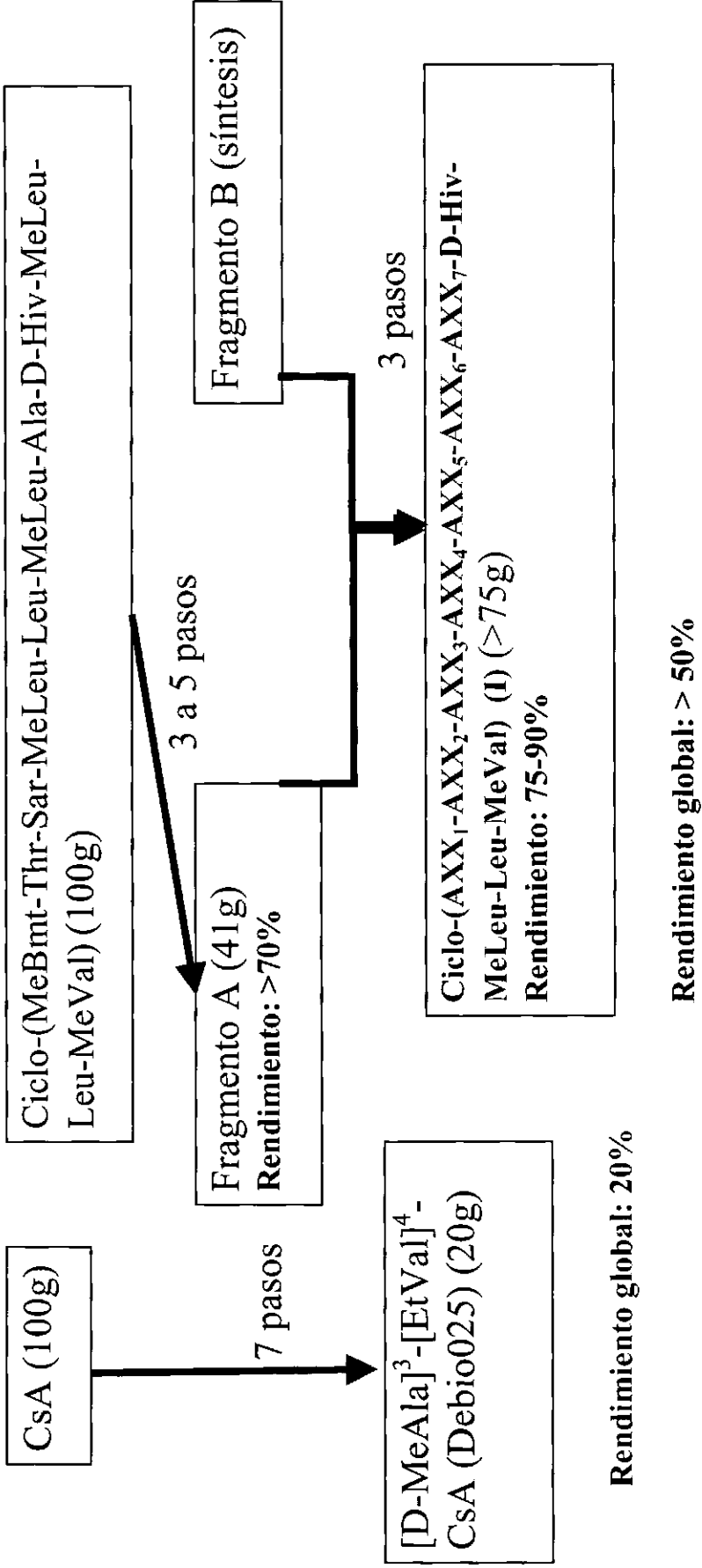
SS

9. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 como un agente antiviral.
10. El uso del compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en la fabricación de un medicamento en el tratamiento de prevención de infecciones por hepatitis C o trastornos inducidos por VHC.
11. Un método para prevenir o tratar infecciones por hepatitis C o trastornos inducidos por VHC en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5.
12. Un método para inhibir la replicación del VHC en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5.
13. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 12 que comprende la co-administración concomitantemente o en secuencia de una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 y al menos un segundo agente seleccionado de un agente que tiene propiedades para actuar contra la replicación del VHC.
14. El método de la reivindicación 13 en el cual dicho agente que tiene propiedades anti-VHC es seleccionado entre el grupo que consiste de un interferón, como interferón-alfa-2a o interferón alfa-2b; o un conjugado de interferón con un polímero soluble en agua o con albúmina humana; un agente anti-viral, como ribavirina, lamivudina, NV08 o NM283; un inhibidor de factores codificados por VHC como proteasa NS3-4A, helicasa o ARN polimerasa; un agente antifibrótico como un derivado de N-fenil-2-pirimidin-amina; un agente inmunomodulador, como ácido micofenólico; o un agonista del receptor S1 P como FTY720 o un análogo del mismo opcionalmente fosforilado.

RESUMEN

La presente invención se refiere a nuevos compuestos cicloundecadepsipéptidos y al uso de dichos compuestos como un medicamento, en particular como agentes antivirales, más particularmente para prevenir o tratar infecciones por hepatitis C o trastornos inducidos por VHC.

Figura 1:



5x

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2009/007361

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K38/13 C07K7/64 C07K11/02		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2006/038088 A1 (DEBIOPHARM SA [CH]; SCALFARO PIETRO [CH]; DUMONT JEAN-MAURICE [CH]; VU) 13 April 2006 (2006-04-13) cited in the application page 3, line 23 - page 5, line 21 page 7, line 16 - page 13, line 30 page 17, line 15 - page 20, line 26	1-14
Y	WO 02/092033 A1 (LG HOUSEHOLD & HEALTH CARE LTD [KR]; KIM SANG-NYUN [KR]; AHN HO-JEONG) 21 November 2002 (2002-11-21) cited in the application page 6, line 8 - page 10, line 25; examples 1,4	1-14
-/-		
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 24 February 2010		Date of mailing of the international search report 04/03/2010
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Donath, Cornelia

59

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2009/007361

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2005/021028 A1 (NOVARTIS AG [CH]; NOVARTIS PHARMA GMBH [AT]; HIJIKATA MAKOTO [JP]; SHI) 10 March 2005 (2005-03-10) cited in the application page 2, line 12 - page 7, line 24	1-14
A	HANSSON M J ET AL: "The nonimmunosuppressive cyclosporin analogs NIM811 and UNIL025 display nanomolar potencies on permeability transition in brain-derived mitochondria" JOURNAL OF BIOENERGETICS AND BIOMEMBRANES, PLENUM PUBLISHING, NEW YORK, NY, US, vol. 36, no. 4, 1 August 2004 (2004-08-01) , pages 407-413, XP002330699 ISSN: 0145-479X the whole document	1-14
A	NAKAGAWA M ET AL: "Specific inhibition of hepatitis C virus replication by cyclosporin A" BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, ACADEMIC PRESS INC. ORLANDO, FL, US, vol. 313, no. 1, 2 January 2004 (2004-01-02), pages 42-47, XP004479114 ISSN: 0006-291X the whole document	1-14

60

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/IB2009/007361

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006038088	A1	13-04-2006	AU 2005290984 A1	13-04-2006
			BR PI0515494 A	29-07-2008
			CA 2580448 A1	13-04-2006
			CN 101056648 A	17-10-2007
			EA 200700725 A1	26-10-2007
			EP 1793844 A1	13-06-2007
			JP 2008514690 T	08-05-2008
			KR 20070073761 A	10-07-2007
			SG 139750 A1	29-02-2008
			US 2009081164 A1	26-03-2009
			US 2006252675 A1	09-11-2006
			ZA 200702610 A	27-08-2008
WO 02092033	A1	21-11-2002	EP 1392224 A1	03-03-2004
			KR 20020088117 A	27-11-2002
			US 2004161399 A1	19-08-2004
WO 2005021028	A1	10-03-2005	AU 2004268382 A1	10-03-2005
			AU 2008203031 A1	31-07-2008
			BR PI0414062 A	24-10-2006
			CA 2537137 A1	10-03-2005
			CN 1842343 A	04-10-2006
			DK 1663287 T3	09-11-2009
			EP 1663287 A1	07-06-2006
			ES 2328361 T3	12-11-2009
			HR 20090535 T1	30-11-2009
			IS 8371 A	24-03-2006
			JP 2007504260 T	01-03-2007
			KR 20060132798 A	22-12-2006
			MX PA06002394 A	20-06-2006
			SG 149063 A1	29-01-2009
			SI 1663287 T1	31-10-2009
			US 2007275884 A1	29-11-2007
			ZA 200601550 A	30-05-2007

61

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 17089/PCT	FOR FURTHER ACTION		See Form PCT/PEA/416
International application No. PCT/IB2009/007361	International filing date (day/month/year) 06.11.2009	Priority date (day/month/year) 06.11.2008	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC INV. A61K38/13			
Applicant DEBIO RECHERCHE PHARMACEUTIQUE S.A.			
1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of <u>6</u> sheets, including this cover sheet. 3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising: a. ☐ sent to the applicant and to the International Bureau a total of sheets, as follows: ☐ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions). ☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box. b. ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing, in electronic form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see paragraph 3bis of Annex C of the Administrative Instructions).			
4. This report contains indications relating to the following items: ☒ Box No. I Basis of the report ☐ Box No. II Priority ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability ☐ Box No. IV Lack of unity of invention ☒ Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement ☐ Box No. VI Certain documents cited ☐ Box No. VII Certain defects in the international application ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application			
Date of submission of the demand 2010-09-06		Date of completion of this report 21.01.2011	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Fax: +49 89 2399 - 4465		Authorized officer Donath, Cornelia Telephone No. +49 89 2399-8710 	

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**International application No.
PCT/IB2009/007361**Box No. I Basis of the report**

1. With regard to the **language**, this report is based on
- ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of:
 - ☐ international search (under Rules 12.3(a) and 23.1(b))
 - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4(a))
 - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2(a) and/or 55.3(a))
2. With regard to the **elements*** of the international application, this report is based on *(replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report):*

Description, Pages

1-52 as originally filed

Claims, Numbers

1-14 as originally filed

Drawings, Sheets

1/1 as originally filed

- ☒ a sequence listing - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.
3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:
- ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing (*specify*):
 - ☐ any table(s) related to sequence listing (*specify*):
4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since either they are considered to go beyond the disclosure as filed, or they were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rules 70.2(c) and (c-bis)):
- ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing (*specify*):
5. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 70.2 (e)).
6. ☐ Supplementary international search report(s) from Authority(ies) have been received and taken into account in drawing up this report (Rule 45bis.8(b) and (c)).

63

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/IB2009/007361

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-14</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>4</u>
	No: Claims	<u>1-3, 5-14</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-14</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

64

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/IB2009/007361

Supplemental Box relating to Sequence Listing

Continuation of Box I, Item 2:

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:
 - a. (means)
 - ☒ on paper
 - ☒ in electronic form
 - b. (time)
 - ☐ in the international application as filed
 - ☐ together with the international application in electronic form
 - ☒ subsequently to this Authority for the purposes of search and/or examination
 - ☐ to this Authority as an amendment on
2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:
 - * If item 4 in Box No. 1 applies, the sequence listing, which forms part of the basis of the report, may be marked "superseded."

65

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/IB2009/007361

Re Item V

**Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial
applicability; citations and explanations supporting such statement**

1 The following documents are cited:

D1 WO 2006/038088 A1 (DEBIOPHARM SA [CH]; SCALFARO PIETRO [CH]; DUMONT JEAN-MAURICE [CH]; VU) 13 April 2006 (2006-04-13) cited in the application

D2 WO 02/092033 A1 (LG HOUSEHOLD & HEALTH CARE LTD [KR]; KIM SANG-NYUN [KR]; AHN HO-JEONG) 21 November 2002 (2002-11-21) cited in the application

2 The present international application refers to cycloundecadepsipeptide compounds as well as to the use of said compounds as a medicament, in particular as antiviral agents, and more particularly for preventing or treating Hepatitis C infections or HCV induced disorders.

In view of the documents cited in the international Search Report the subject-matter of claims 1-14 has to be regarded as being new (Article 33(2) PCT).

3 The closest prior art to evaluate the inventiveness of claims 1-14 is document D1.

D1 discloses the use of [D-MeAla]³-[EtVal]⁴-Cyclosporin A for the preparation of a medicament for the treatment of HCV infection in a patient. It was shown that due to the amino acids in the 3- and 4-positions, [D-MeAla]³-[EtVal]⁴-Cyclosporin A has a dramatically reduced ability to interact with calcineurin as well as a significantly increased affinity for cyclophilins, which increased affinity is correlated with an elevated efficacy against inhibition of HCV replication. The pharmaceutical composition comprising the [D-MeAla]³-[EtVal]⁴-Cyclosporin A also may additionally comprise a second agent having the properties to act against HCV replication such as interferon- α -2a (see D1, p.3, l.23 - p.5, l.21; p.7, l.16 - p.13, l.30; p.17, l.15 - p.20, l.26).

The subject-matter of claims 1-14 only differs from the teachings of D1 in that the cyclosporin A derivative of the present international application shows two different amino acid residues, i.e. in position 8 -Hiv instead of Ala, and in position 10 -Leu instead of MeLeu.

66

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/IB2009/007361

However, from D2 it is already well known that these amino acid residues can be easily and effectively be used at the specified positions. D2 discloses cyclosporin derivatives wherein at least one amino acid residue has been modified compared to the cyclosporin A, e.g. the 8th position has been changed to D- α -hydroxyisovaleric acid and the 10th position has been changed to Leu. Although the cyclosporin derivatives from D2 have been prepared for a different purpose than in the present international application it is shown therein that in order to be still an active cyclosporin derivative Hiv and Leu can be introduced in position 8 or 10, respectively.

Therefore, in the light of D1 in combination with D2 the additional features which distinguish the subject-matter of claims 1-3 and 5-14 (insofar they are dependent on claims 1-3) from the prior art are well known within the skill of the art and thus, are not suitable to render the subject-matter of these claims inventive, unless every compound which can be generated with regard to the various possibilities given in Claim 1 will show some kind of unexpected advantages over those of the prior art which should be demonstrated.

In view of the above claims 1-3 and 5-14 are considered not to involve an inventive step.

With regard to the compounds as defined in claim 4 an inventive step has to be acknowledged. The ten compounds (Ia) to (Ik) have been compared to the compound (Debio 025) of the prior art (D1) and it could be shown that these compounds selectively inhibit the replication of hepatitis C virus replicon in cell culture, have a similar to higher potency with E_{50} values than the cyclosporin derivative of the prior art, and furthermore, show a much lower potency to inhibit some hepatic transporters as compared to the compound of the prior art.

Therefore, an inventive step for the subject-matter of claim 4 and claims 5-14 (insofar as they refer to claim 4) has to be acknowledged.

Re Item VIII

Certain observations on the international application

- 4 With respect to claims 11-14 you are already informed that in case of an European application said claims are not allowable because, "methods of treatment of the human or animal body by surgery or therapy and diagnostic methods practised on the human or animal body shall not be regarded as inventions which are susceptible of industrial application."

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: A61K 038/013	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) DEBIO RECHERCHE PHARMACEUTIQUE S.A.	
(30) Prioridad	(31) Prioridad PCT/IB2008/002982	(32) Fecha 06/11/2008	(33) País IB
		(72) Inventor(es) ROLAND WENGER Y OTROS	
		(74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ	
(85)	Fecha limite inicio fase nacional: 06/06/2011	(87) Publicación internacional	
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT	Fecha: 14/05/2010	
	Fecha de presentación de la solicitud: 06/11/2009	N° publicación: WO 2010/052559 A1	
	No. de solicitud PCT/IB2009/007361		
(54) Título: COMPUESTOS CICLOUNDECADEPSIPÉPTIDOS Y EL USO DE DICHS COMPUESTOS COMO UN MEDICAMENTO			

Reivindicación(es):

1. Un compuesto cicoundecadepsipéptido de Fórmula (I)
Ciclo-(AXX₁-AXX₂-AXX₃-AXX₄-AXX₅-AXX₆-AXX₇-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (I)

1 2 3 4 5 6
7 8 9 10 11

en el cual:

- AXX₁ es MeBmt, 4-fluoro-MeBmt, dihidro-MeBmt, 8-hidroxi-MeBmt;
O-acetyl-MeBmt;
- AXX₂ es Abu, Val, Thr, Thr(OMe), Thr(OAc), Thr(OCOCH₂CH₂CH₂OH), Nva, 5-hidroxi-Nva;
- AXX₃ es D-MeAla, D-3-fluoro-MeAla, D-MeSer, D-MeSer(OAc), D-MeSer(OCH₂CH₂OH), D-MeSer(OCH₂CH₂NEt₂), D-MeAsp(OMe);
- AXX₄ es Melle, MeMet, MeVal, MeThr, MeThr(OAc), MeAla, EtVal, EtIle, EtPhe, EtTyr, EtThr(OAc), MeThr(OAc), MeTyr, MeTyr(OAc), MeTyr(OMe), MePhe, MeMet(Ox) en el cual el átomo de azufre de la metionina es sulfóxido o sulfona;
- AXX₅ es Leu, Val, Ile;
- AXX₆ es MeAla, Sar, MeLeu; y
- AXX₇ es Gly, Ala.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 caracterizado porque en la Fórmula (I),

- AXX₁ es MeBmt, 8-hidroxi-MeBmt;
- AXX₂ es Abu, Val, Thr, Thr(OMe), Thr(OAc), Thr(OCOCH₂CH₂CH₂OH), 5-hidroxi-Nva;
- AXX₃ es D-MeAla, D-3-fluoro-MeAla, D-MeSer, D-MeSer(OAc), D-MeAsp(OMe);
- AXX₄ es Melle, MeMet, MeMet(Ox) en el cual Ox es -SOMe, -SO₂Me, MeVal, EtVal, EtIle, MeTyr; y
- AXX₅ es Leu, Val, Ile
- AXX₆ es MeAla, Sar, MeLeu; y
- AXX₇ es Gly, Ala.

3. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 caracterizado porque

- AXX₁ es MeBmt;
- AXX₂ es Abu, Val, Thr;

- AXX₃ es D-MeAla;
- AXX₄ es Melle, MeVal, EtVal;
- AXX₅ es Leu, Val, Ile;
- AXX₆ es MeAla, MeLeu, Sar; y
- AXX₇ es Gly, Ala.

4. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 que tiene las siguientes fórmulas:
ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ia)
ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ib)
ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Ile-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ic)
ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Id)
ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Val-MeAla-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ie)
ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (If)
ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-MeVal-Ile-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ig)
ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-EtVal-Leu-MeLeu-Ala-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ih)
ciclo-(MeBmt-Abu-D-MeAla-Melle-Leu-MeLeu-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ii)
ciclo-(MeBmt-Val-D-MeAla-MeVal-Val-Sar-Gly-D-Hiv-MeLeu-Leu-MeVal) (Ik)

5. Una composición farmacéutica para prevenir o tratar infecciones por hepatitis C o trastornos inducidos por VHC, que comprende el compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, junto con uno o más diluyentes o vehículos aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

6. Una combinación farmacéutica que comprende al menos: a) un primer agente que consiste del compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, y b) un segundo agente que tiene propiedades de actuar contra la replicación del VHC.

68

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 11 - 0040711
		Bogotá D.C., Mayo 02 de 2011 - 18:17:41

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431628971	02/05/2011	52.541.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-04	PRESENTACION DE OBSERVACIONES A SOLICITUDES	304.000.00	304.000.00
		12 MARCAS Y LEMAS COMERCIALES		\$304.000.00

SON: **TRESCIENTOS CUATRO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-067785- -00000-0000

Fecha: 2011-06-01 11:00:17 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 70

COLO: 18423-841-001-5

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Mayo 2 de 2011 - 18:17:53

69

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0046074

Bogotá D.C., Mayo 16 de 2011 - 07:34:06

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	411757905	13/05/2011	30.552.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. LINDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1642 S.DISTINTIVO CAMBIOO TITULARIDAT-TRANSFERENCIA INSCRIPC	361.000.00	361.000.00
				\$361.000.00

SON: **TRESCIENTOS SESENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-067785- -00000-0000

Fecha: 2011-06-01 11:00:17 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 70

COLO: 18423-841-001-5-

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Mayo 16 de 2011 - 07:34:16

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0049244

Bogotá D.C., Mayo 24 de 2011 - 06:50:03

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431629063	23/05/2011	53.714.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	21 CERTIFICACIONES	14.000.00	14.000.00
				\$14.000.00

SON: **CATORCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-067785- -00000-0000

Fecha: 2011-06-01 11:00:17 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 70

COLO: 18423-841-001-5

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.slc.gov.co e-mail: info@slc.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Mayo 24 de 2011 - 06:50:13



No. 11-067785- -00000-0000

Fecha: 2011-06-01 11:00:17
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 379 FASENACIONALII
Folios: 70

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☐ Indicación que se solicita una patente.

☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐ Descripción de la invención

☐ Dibujos de ser estos pertinentes

☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒ Indicación que se solicita una PCT

☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)

☐ Dibujos de ser estos pertinentes

☒ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐ Indicación que se solicita Diseño industrial

☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño

☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado

☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐ Representación gráfica de un esquema de trazado

☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

Bogotá,
2020

Doctor(a)
SUAREZ DE PAEZ LUZ CLEMENCIA

REFERENCIA	Radicación No.	11 67785
	Solicitud internacional	PCT/IB2009/007361
	Fecha inicio fase nacional	06/06/2011
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio No.	

010978

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.

Continúa en la página siguiente...

Radicación No.: 11 67785



CARLOS DANIEL LEMUS GIRALDO

Profesional Universitario 2044-09, (P) con asignación de funciones
de la Dirección de Nuevas Creaciones.

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha .

adpall 15 JUL. 2011