JOSE LL

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, I

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 06-039722- -00010-0000
Fecha: 2011-06-28 16:11:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 539

No. 06-039722- -00010-0000
Fecha: 2011-06-28 16:11:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 534

Señor
SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
E. S. D.

Re: PI.-**INTERMUNE INC.**-Solicitud de Patente de Invención en Fase Nacional PCT para **"ÁCIDOS CARBOXÍLICOS MACROCÍCLICOS Y ACILSULFONAMIDAS COMO INHIBIDORES DE REPLICACIÓN DEL HCV"**.-Clase **A61K**.-Expediente número **06-039.722-**

1. Me refiero al auto dictado por ese Despacho notificado por fijación en lista de 18 de Febrero de 2011 y a mi memorial de solicitud de plazo de 26 de Abril de 2011, así como también a mi memorial de 19 de Mayo de 2011, mediante el cual se informó a ese Despacho que la sociedad solicitante ARRAY BIOPHARMA, INC., cedió sus derechos sobre la solicitud de patente arriba mencionada a la sociedad **INTERMUNE, INC.**, así como la adición de un nuevo inventor a la solicitud de patente de la referencia, el cual no fue registrado inicialmente en la solicitud internacional, debido a un error involuntario.

2. Con el fin de responder las objeciones presentadas por el Señor Examinador en su Concepto Técnico No. **244** en relación con la Claridad del Capítulo Reivindicatorio de la solicitud en estudio, me permito dirigir su atención a las siguientes modificaciones y argumentos técnicos por medio de los cuales se superan completamente dichas objeciones.

3. **SOLICITUD DIVISIONAL**

En primera instancia, y antes de presentar los argumentos técnicos y modificaciones que permiten superar las objeciones anteriormente señaladas, me permito manifestar a ese Despacho que con el fin de brindar mayor claridad al objeto de la invención, es deseo del solicitante restringir la materia objeto de la presente solicitud al compuesto de la actual reivindicación 9 y la composición farmacéutica que la contiene (actual reivindicación 10), presentando en consecuencia una solicitud divisional dirigida a proteger la materia contenida en las reivindicaciones 1 a 8 actualmente presentadas.

Por lo tanto, debidamente autorizado por el solicitante, y de conformidad con el Artículo 36 de la Decisión Andina 486 de 2000, el Artículo 7 del Decreto 2591 de 13 de Diciembre de 2000 y el Artículo 11 de la Resolución No. 00210 de 15 de Enero de 2001, se ha dividido la presente solicitud de patente en dos **(2)** solicitudes, a saber:

(1) Una solicitud **original** compuesta por **2** reivindicaciones que encuentran su sustento en la descripción y en el capítulo reivindicatorio originalmente presentados a ese Despacho con la presente solicitud número **06-039.722**, y que corresponden específicamente a las reivindicaciones **9** y **10** que actualmente se encuentran bajo estudio, sobre las cuales se han hecho pequeñas modificaciones con el fin de adecuarlas como nuevas reivindicaciones 1 y 2, tal como se expondrá más adelante en este mismo memorial.

De esta manera, el capítulo reivindicatorio de la solicitud número **06-039.722** original, se encuentra ahora dirigido a proteger únicamente el compuesto químico de la reivindicación 9 actualmente presentada (Ejemplo 3-55 de la página 351 de la descripción) y la composición farmacéutica que lo contiene, correspondiente a la reivindicación 10 del capítulo reivindicatorio estudiado por el señor Examinador.

(2) Una solicitud **divisional** número **06-039.722A** que presenta un nuevo capítulo reivindicatorio constituido por **8** reivindicaciones que encuentran su sustento tanto en la descripción como en el capítulo reivindicatorio originalmente presentados, y que corresponden particularmente a las reivindicaciones 1 a 8 actualmente presentadas ante ese Despacho para la solicitud original número **06-039.722**. Dichas reivindicaciones han sido modificadas de manera que se excluye completamente la materia contenida dentro de la solicitud original.

Consecuentemente, la nueva solicitud divisional número **06-039.722A** se encuentra dirigida a proteger los compuestos químicos de acuerdo con las fórmulas generales I, VIII o IX y derivadas de las mismas, así como las composiciones farmacéuticas que los contienen.

En relación con lo anterior, me permito señalar que los capítulos reivindicatorios, tanto de la solicitud original como de la solicitud divisional, cuentan con pleno sustento en la descripción de la solicitud en estudio, y no constituyen de ninguna manera una ampliación al alcance de la invención, tal como fue originalmente presentada toda vez que corresponden a reclamaciones de realizaciones preferidas de la invención, las cuales se encuentran cobijadas por el alcance del capítulo reivindicatorio actualmente presentado ante ese Despacho.

4. Acompaño los documentos que detallo a continuación, relacionados con cada una de las solicitudes resultantes del presente fraccionamiento:

(1) SOLICITUD No. 06-039.722: "ÁCIDOS CARBOXÍLICOS MACROCÍCLICOS Y ACILSULFONAMIDAS COMO INHIBIDORES DE REPLICACIÓN DEL HCV"

(h) Formato Único de Conversión, División y Fusión de Solicitudes número 2000-14.

5. **CLARIDAD DEL CAPÍTULO REIVINDICATORIO**.

Ahora bien, en el mencionado Concepto Técnico No. **244** el Señor Examinador ha objetado la claridad del capítulo reivindicatorio actualmente presentado, señalando que existe falta de claridad y concisión por el hecho de que dentro de las definiciones proporcionadas para algunos de los radicales que conforman las fórmulas generales reivindicadas, se encuentran expresiones que corresponden a términos generales y ambiguos o que no son claras respecto de la información proporcionada en los ejemplos de la solicitud, señalando en consecuencia que "*es preciso que el solicitante concrete la materia reivindicada bajo las fórmulas señaladas, mediante una generalización razonable de los sustituyentes en cada radical y variable, de manera coherente y acorde con los compuestos ejemplificados en la descripción y que sustentan actividad como inhibidores de la proteasa NS3 del HCV*".

Sobre este particular me permito manifestar que con el propósito de definir más claramente el alcance de protección pretendido mediante la solicitud original, se presenta adjunto a este memorial un capítulo reivindicatorio modificado el cual está dirigido a una realización preferida de la invención, de acuerdo con lo expuesto a lo largo del texto de la descripción de la solicitud en estudio.

En conexión con lo anterior me permito reiterar que estas modificaciones no constituyen de ninguna manera una ampliación al alcance de la invención, tal como fue originalmente presentada, toda vez que se está limitando de forma significativa el número de posibles compuestos reclamados en concordancia con lo señalado dentro del texto de la descripción, toda vez que tal como se ha mencionado previamente el solicitante ha decidido excluir de la solicitud inicial las reivindicaciones 1 a 8 actualmente presentadas, para de esta forma proporcionar un capítulo reivindicatorio conformado únicamente por las reivindicaciones 9 y 10, renumeradas como reivindicaciones 1 y 2 y modificadas con el fin de hacer más clara su comprensión, las cuales tienen por objeto principal el compuesto del ejemplo 3-55 de la página 351 de la memoria descriptiva, es decir, el compuesto químico (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-Fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334191).

Adicionalmente, considero conveniente señalar que la redacción de la nueva reivindicación 2 (reivindicación 10 original) ha sido modificada de conformidad con la redacción de la reivindicación 8 actualmente presentada, con el fin de definir en

(a) Nuevo capítulo reivindicatorio modificado compuesto ahora por **2** reivindicaciones, cuyo sustento se encuentra en la página 351 de la descripción de la solicitud número **06-039.722** inicialmente radicada el 26 de Abril de 2006, así como en las reivindicaciones 9 y 10 del capítulo reivindicatorio actualmente presentado para la solicitud original.

(2) SOLICITUD DIVISIONAL B: "ÁCIDOS CARBOXÍLICOS MACROCÍCLICOS Y ACILSULFONAMIDAS COMO INHIBIDORES DE REPLICACIÓN DEL HCV".

(a) Recibo número 11-0052110, expedido por la Superintendencia de Industria y Comercio, que acredita el pago de los derechos que causa el presente fraccionamiento;

(b) Resumen, Objeto y finalidad de la invención y páginas 2 a 441 del texto de la descripción que corresponden al originalmente presentado en la solicitud número **06-039.722**;

(c) Páginas 442 a 451 del nuevo capítulo reivindicatorio compuesto por **8** reivindicaciones, las cuales encuentran pleno sustento en la descripción y en las reivindicaciones 1 a 8 del capítulo reivindicatorio actualmente presentado para la solicitud número **06-039.722** inicialmente radicada;

(d) Extracto de la solicitud, en sus dos formas, que incluye el título que se encuentra de acuerdo con el objeto de la presente invención fraccionada y que incluye la reivindicación 1;

(e) Tarjeta de propietario;

(f) Fotocopia del documento que acredita a la suscrita ALICIA LLOREDA y/o al doctor GUSTAVO TAMAYO, y/o a la doctor IGNACIO SANTAMARIA y/o a al doctor ENRIQUE ALVAREZ, en los términos del Párrafo 1º del Artículo 543 del Decreto-Ley 410 de 1971, como Representantes Legales en Bogotá para todos los asuntos relacionados con la Propiedad Industrial de la sociedad **INTERMUNE, INC.**, organizada y existente de conformidad con las leyes de Estado de Delaware, Estados Unidos de América y domiciliada en Brisbane, Estado de California, Estados Unidos de América;

(g) Fotocopia de los documentos que acreditan el traspaso que los autores del invento de la referencia, hacen a favor de mí representado de sus derechos sobre el mismo junto con sus Traducciones Oficiales Nos. 2006-08-14-508, 2006-08-14-507, 2006-08-14-506, affidávit 2006-08-08-4863 y 2011-05-16-312;

forma más clara la composición farmacéutica que contiene el compuesto de interés para el solicitante.

De conformidad con lo anterior, me permito manifestar que a través de la significativa limitación realizada sobre el alcance de protección para la materia objeto de la invención tal como ha sido ahora reclamada, el solicitante ha superado plenamente todas las objeciones y comentarios expuestos en el Concepto Técnico No. **244**, dado que la solicitud original se ha restringido con el fin de reivindicar únicamente un compuesto químico particular y la composición farmacéutica que contiene dicha sustancia.

De otra parte, en relación con la solicitud divisional que se presenta ahora, correspondiente a las reivindicaciones 1 a 8 actualmente presentadas de la solicitud original, me permito señalar que tanto en la reivindicación independiente 1 como en la reivindicación dependiente 5 de dicha nueva solicitud divisional, el solicitante ha incluido una condición de exclusión (disclaimer) con el fin de evitar cualquier posibilidad de solapamiento entre la materia objeto de la solicitud original y la nueva solicitud divisional.

Adicionalmente, teniendo en cuenta algunos de los comentarios u observaciones expuestos por el señor Examinador acerca de la claridad de las reivindicaciones 1 a 8 en mención, me permito dirigir su atención al hecho de que se ha corregido una clara equivocación de carácter tipográfico que se presentó en forma involuntaria en la reivindicación 1 al hablar de los compuestos de fórmulas "I, VIII y **XI**", reemplazando la expresión errónea "XI" por la expresión correcta correspondiente al numeral "**IX**" que efectivamente acompaña la fórmula estructural allí señalada.

Sobre este particular, me permito manifestar que ésta ha sido la única corrección realizada al capítulo reivindicatorio ahora presentado para la solicitud divisional en relación con las reivindicaciones como se encuentran actualmente presentadas y como fueron estudiadas por el señor Examinador, toda vez que la misma corresponde a la corrección de un evidente error involuntario de carácter tipográfico, que fue señalado en el propio Concepto Técnico No. **244** y que no se hace necesario se mantenga para el capítulo reivindicatorio de la nueva solicitud divisional ahora presentada. En conexión con este hecho, me permito resaltar que la modificación realizada no corresponde a una ampliación de la materia actualmente reclamada y que da origen a la solicitud divisional en comento, toda vez que se trata simplemente de la corrección de un claro error tipográfico.

Finalmente, me permito aprovechar esta oportunidad para señalar al señor Examinador que, contrario a lo que ha afirmado en su Concepto Técnico respecto de la reivindicación 3, la misma sí se ha convertido en una reivindicación dependiente de la reivindicación 1, tal como se puede comprobar a partir de la lectura de la mencionada reivindicación que se encuentra en la página 446 de la solicitud.

Como consecuencia de lo anterior, el capítulo reivindicatorio modificado queda constituido por **2** reivindicaciones, las cuales reclaman de manera clara y concisa una realización preferida de la invención, que cuenta con pleno sustento en la descripción y el capítulo reivindicatorio originalmente presentados, por lo que dicho capítulo reivindicatorio modificado cumple a cabalidad con las exigencias estipuladas por el Artículo 30 de la Decisión Andina 486 de 2000, superando así las observaciones que al respecto fueron enunciadas en el Concepto Técnico No. **244**.

6. De otra parte, dado que la fecha de presentación de la solicitud resultante del presente fraccionamiento es la misma --**26 de Abril de 2006**-- atentamente solicito a usted se sirva dar a la solicitud fraccionada el mismo número de Expediente de la solicitud original, acompañada de la letra "**A**" para su identificación. Adicionalmente, la Clasificación Internacional para esta solicitud fraccionada, acorde con el objeto de la misma, es la siguiente: **A61K**.

7. En cuanto a la reivindicación de la prioridad respecto de la solicitud divisional, es la misma invocada en la solicitud original, la cual fue reivindicada oportunamente en Fase Internacional de las solicitudes número: US 60/511,541 de Octubre 14 de 2003 y US 60/612,460 de Septiembre 22 de 2004.

8. Ratifico a usted que la sociedad titular de la solicitud fraccionada en cuestión es **INTERMNUNE INC.**, organizada y existente de conformidad con las leyes del Estado de Delaware, Estados Unidos de América y domiciliada en Brisbane, Estado de California, Estados Unidos de América.

9. Así mismo, reitero a usted que el documento que acredita mi calidad de Representante Legal en dicha sociedad para todos los asuntos de la Propiedad Industrial, fue presentado junto con mi memorial de fecha 17 de Agosto de 2006 cuya traducción oficial es 2006-05-010.303 y legalizada por el Ministerio de Relaciones Exteriores bajo el número 443371 de 11 de mayo de 2006.

10. De conformidad con lo establecido por el Artículo 36 de la Decisión 486 de 2000, solicito a ese Despacho se sirva aceptar y estudiar la solicitud divisional presentada y conceder el privilegio de patente solicitado.

3

11. En vista de lo anterior, ruego a usted proceder a estudiar nuevamente la solicitud a la luz de las modificaciones y argumentaciones presentadas y conceder el privilegio de patente solicitado.

Señor Superintendente,

ALICIA LLOREDA RICAURTE

T. P. 53.215

NOTARIA 41 DEL CIRCULO DE BOGOTÁ D.C.
DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA
REPUBLICA DE COLOMBIA

El Notario 41 del círculo de Bogotá, da fe da que compareció personalmente: Alicia Lloreda Ricaurte
identificada (o) con: CC 39 690 713 y tarjeta profesional de abogado No. 33285 del Consejo Superior de la Judicatura, quien autentica la firma puesta por ella (el) mismo en este espacio.
(Art. 84 C. P. C. Decreto 2282/89 num. 8)

17 JUN. 2011

ALICIA LLOREDA RICAURTE

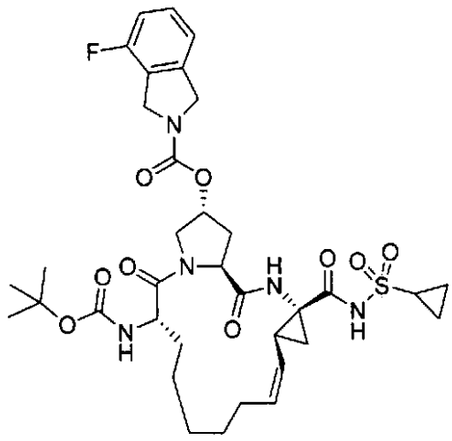
C.C. No. 39.690.713 de Usaquén

Jenny Natyly Morales Beltrán
C.C. 1.015[illegible].013
VoBo

Intermune Inc.
Exp. 06-039.722

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Una composición farmacéutica que comprende:

a) un compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

b) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

DIVISIONAL

INTERMUNE, INC.

EXPEDIENTE NO. 06-039.722A

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. **06-039.722A**

54. TITULO **"ÁCIDOS CARBOXÍLICOS MACROCÍCLICOS Y ACILSULFONAMIDAS COMO INHIBIDORES DE REPLICACIÓN DEL HCV"**

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL **A61K**

71. SOLICITANTE **INTERMUNE, INC.**

DOMICILIO Brisbane, Estado de California, Estados Unidos de América

74. REPRESENTANTE LEGAL ALICIA LLOREDA RICAURTE
T.P. 53.215

72. BOGOTA, D.C.

(FORMA P 10)

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación

FORMULARIO ÚNICO DE CONVERSION, DIVISIÓN Y FUSION DE SOLICITUDES
2000-14

① **SOLICITUD DE RENUNCIA:**

☐ Conversión. ☒ División. ☐ Fusión.

☒ Patente de Invención. ☐ Patente de Modelo de Utilidad.
☐ Registro de diseño Industrial. ☐ Esquemas de trazado para Circuitos Integrados.

② **SOLICITANTE**

Nombre: **INTERMUNE INC**, sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes del Estado de Delaware, Estados Unidos de América.
Dirección: 3280 Bayshore Boulevard, 94005, Brisbane, CA, Estados Unidos de América.
Teléfono: 326-42-70 Fax: 606-97-01
E-mail: jllcco@lloredacamacho.com
Domicilio: Brisbane, Estado de California, Estados Unidos de América

IDENTIFICACION
C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Número _____

③ **REPRESENTANTE O APODERADO**

Nombre: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**
Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5º., Bogotá - Colombia
Teléfono: 326-42-70 Fax: 606-97-01
E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACION
C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Número 39.690.713 TP 53.215

④ **CONVERSION**
Expediente No: _____
De: _____
A: _____

⑤ **DIVISION**
Expediente No: **06-039.722A**
No. de divisionales: Una (1)

⑥ **FUSION**
Expediente No: _____
Expediente No: _____

⑦ **Comprobante de pago No.** 11-0052110 **Fecha** 31 de Mayo de 2011

⑧
Anexos:
☒ Comprobante de pago de la tasa.
☒ Poderes, si fuere el caso.
☒ Certificado de existencia y representación legal de las partes, cuando sean personas jurídicas.
☒ Copia de la solicitud divisional.

⑨
NOMBRE: ALICIA LLOREDA RICAURTE **FIRMA:**
C.C. 39.690.713 T.P. 53.215

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

3

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0052110

Bogotá D.C., Mayo 31 de 2011 - 06:51:19

RECIBIDO DE : LLOREDA & CIA. S.A. NI 830.022.145

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	414999804	30/05/2011	24.532.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCION	571.000.00	571.000.00
				$571.000.00

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
****

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

4

TRADUCCION OFICIAL No. 2006-05-010-303

DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

PODER

Poder de Representación Legal, documento escrito en inglés y en español.

Dado y firmado este día 13 de abril de 2006

Firma (ilegible)

Certificado Notarial (Sociedad), documento también escrito en inglés y en español.

Pauline D. Williams
Comm. # 1411941
Notario Público • California
Condado de San Mateo
La Comisión expira el 18 de abril de 2007

Estado de California

Secretario de Estado

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por Pauline D. Williams
3. actuando como Notario Público, Estado de California
4. lleva el sello/estampilla de Pauline D. Williams, Notario Público, Estado de California

CERTIFICADO

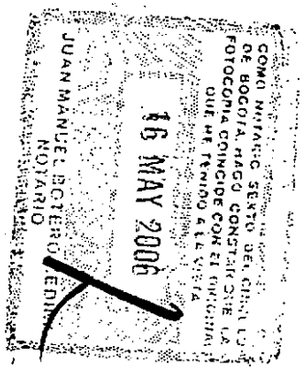
5. en Sacramento, California
6. este día 26 de abril de 2006
7. por el Subsecretario de Estado, Estado de California
8. No. 284543
9. Sello/Estampilla
   El Gran Sello del Estado de California
10. Firma: (ilegible)
    Secretario de Estado
    Por (firma: ilegible)

CONSULADO DE COLOMBIA EN SAN FRANCISCO
DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE TUVE A MI VISTA
10 MAY 2006
JULIAN DEL CASTILLO ROMERO MEDINA
CONSUL

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 10 de mayo de 2006, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

3



MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

443371
Anita Escobar
LA FIRMA ANTERIOR ES LA QUE APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 MAY 11 A 043
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

State of California

SECRETARY OF STATE

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. *Country: United States of America*
   This public document
2. *has been signed by PAULINE D. WILLIAMS*
3. *acting in the capacity of Notary Public, State of California*
4. *bears the seal/stamp of PAULINE D. WILLIAMS, Notary Public, State of California*

CERTIFIED

5. *At Sacramento, California*
6. *the 26th day of April 2006*
7. *by Deputy Secretary of State, State of California*
8. *No. 284543*
9. *Seal/Stamp:*

10. *Signature*

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
16 MAR 2006
JUAN MANUEL ROTERO MEDINA
NOTARIO

Secretary of State

BY

NP-24 A (REV. 4-05)

OSP 05 90772

6

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Estado de California (ss
Condado de San Mateo
Hoy 13 de Abril de 2006, compareció John A. Bendrick, a quien conozco y de quien me consta que firmó el anterior documento, y quien debidamente juramentado declaró y dijo que él es Vicepresidente de Propiedad Intelectual de INTERMUNE, INC. la compañía nombrada en el documento que antecede, una sociedad debidamente organizada y existente conforme a las leyes del Estado de Delaware, domiciliada en la ciudad de Brisbane Condado San Mateo Estado de CA legalmente constituida para un período de duración que aún no ha terminado, que ejerce su objeto social; conforme a las leyes del Estado de California; que el declarante está autorizado por dicha Compañía para conferir este poder; que el sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre y en representación de la expresada Compañía, es el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se confiere este instrumento está comprendido dentro del de la sociedad.

El suscrito Notario ha visto los Estatutos de incorporación firmados en Palo Alto Estado de CA, con fecha 23 Abr, 2001 y certifica que de conformidad con la legislación de dicho Estado la anterior declaración juramentada es prueba suficiente de que los hechos sobre que ella versa son ciertos o verdaderos, de lo cual da fe.

Notario Público.

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

State of California (ss
County of San Mateo
On this 13th day of April, 2006, personally came John A. Bendrick to me known, and known to me to be the person who signed the foregoing instrument, who being by me duly sworn did depose and say that he is the Vice-President-Intellectual Property of InterMune, Inc., the company named within, a Corporation organized and existing under the laws of the State of Delaware, domiciled at the City of Brisbane, County of San Mateo State CA of 3280 Bayshore Boulevard, 94005, legally constituted for a period of tenure not yet expired, which exercises its corporate purposes according to the laws of the State of California; that the deponent is authorized by said Company to confer this power of attorney; that the seal affixed hereunto by the deponent in the name and on behalf of said Corporation is the corporate seal thereof; and that the purpose for which this instrument is granted is included within the corporate purposes of the Company.

The undersigned Notary Public has seen the articles of incorporation of said Corporation executed at Palo Alto, State of California, under date of April 23, 2001, and hereby certifies that under the laws of said State the foregoing acknowledgment is sufficient proof that the facts therein contained are true, which he attests.

Notary Public: Pauline D. Williams

PAULINE D. WILLIAMS
COMM. # 1411941
NOTARY PUBLIC • CALIFORNIA
SAN MATEO COUNTY
Comm. Exp. APRIL 18, 2007

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE BOGOTA, DIAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE SE TENIDO A LA VISTA
10 MAY 2006

7

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN
SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCIÓN PCT

(21) N° de solicitud: **06-039.722A**

(22) Fecha de solicitud: 26-04-06

(30) Prioridad

(31) *No. Prioridad*	(32) *Fecha*	(33) *País*
60/511,541	14-10-03	US
60/612,460	22-09-04	US

(51) Int Cl: A61K

(71) Solicitante(s): **INTERMUNE, INC.**

(72) Inventor(es): BLATT Lawrence M; WENGLOWSKY Steven Mark; ANDREWS Steven Wade; JIANG Yutong; KENNEDY April Layne; CONDROSKI Kevin Ronald; JOSEY John Anthony; STENGEL Peter John; MADDURU Machender R.; DOHERTY George Andrew; WOODARD Benjamin T. y Scott D. Seiwert

(74) Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 14-05-06

(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT
Fecha de presentación de la solicitud: 13-10-04
No. de solicitud: ***PCT/US2004/033970***

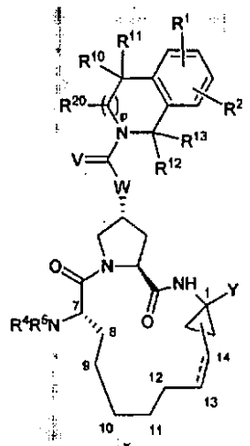
(87) Publicación internacional
Fecha: 28-04-05
N° publicación: ***WO 2005/037214 A2***

(54) Título: **ÁCIDOS CARBOXÍLICOS MACROCÍCLICOS Y ACILSULFONAMIDAS COMO INHIBIDORES DE REPLICACIÓN DEL HCV**

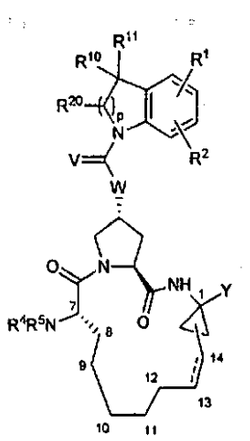
Resumen - Reivindicación(es):

Reivindicación número 1.-

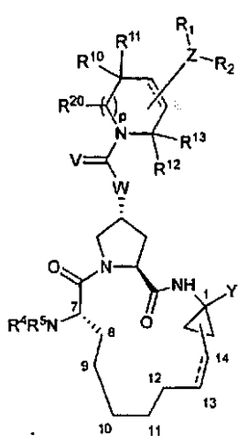
Un compuesto que tiene la fórmula I, VIII o IX:



I



VIII



IX

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, tiazolil, $C(O)NR^6R^7$, NR^6R^7, $C(O)OR^8$, $NHC(O)R^8$, $OCH_nNR^6R^7$ u OCH_nR^9; en donde R^9 es imidazolil o pirazolil; dicho tiazolil en la definición de R^1 y R^2 se encuentra opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} o alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro;

(b) R^4 es H

(c) R^5 es $C(O)NR^6R^7$, $C(O)R^8$, $C(O)OR^8$, o $(CO)CHR^{21}NH(CO)R^{22}$;

(d) R^6 y R^7 son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10}, o R^6 y R^7 se toman conjuntamente con el nitrógeno al cual se encuentran unidos para formar indolinil, pirrolidinil, piperidinil, piperazinil, o morfolinil;

(e) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10} que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo o fenilo; o R^8 es alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; o R^8 es un anillo de tetrahidrofurano enlazado a lo largo de la posición C_3 o C_4 del anillo de tetrahidrofurano; o R^8 es un anillo de tetrahidropiranilo enlazado a través de la posición C_4 del anillo de tetrahidropiranilo;

(f) Y es una sulfonamida de la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$, en donde R^9 en la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$ es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo o fenilo, o R^9 en la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$ es arilo $C_{6 o 10}$ que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres de halo, ciano, nitro, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} o alcoxi C_{1-6}; o R^9 en la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$ es un alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 grupos fluoro; o R^9 en la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$ es un anillo heteroaromático opcionalmente sustituido hasta dos veces con halo, ciano, nitro, hidroxi, o alcoxi C_{1-6}; o Y es un ácido carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(g) R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} o alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; o R^{10} y R^{11} se toman conjuntamente con el carbono al cual se encuentran unidos para formar ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo;

(h) p = 0 o 1;

(i) R^{12} y R^{13} son cada uno independientemente H o $(CH_2)_nNR^6R^7$ o; o R^{12} y R^{13} son cada uno independientemente alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con $(CH_2)_nOR^8$;

(j) R^{20} es H;

(k) n = 1-4;

(l) V es O o S;

(m) W es O o NR^{15}, en donde R^{15} es H;

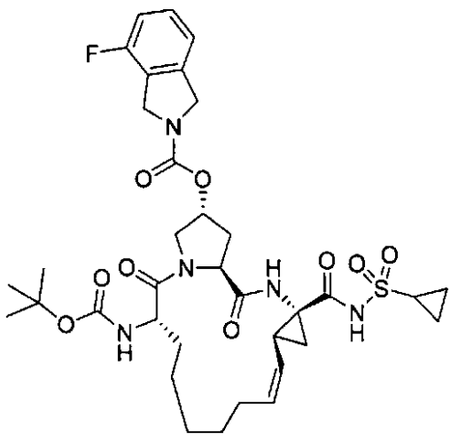
(n) la línea punteada representa un doble enlace opcional;

(o) R^{21} es alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-7};

(p) R^{22} es alquilo C_{1-6}; y

(q) Z es un sistema de anillo arilo o heteroarilo fusionado o anexado;

con la condición de que el compuesto no sea



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

PATENTE DE INVENCION ____ PCT __X__ MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL __

(21) N° de solicitud: **06-039.722A** (22) Fecha de solicitud: 26-04-06
(51) Clasificación Internacional: A61K

(71) Solicitante(s): **INTERMUNE, INC.**

(72) Inventor(es): BLATT Lawrence M; WENGLOWSKY Steven Mark; ANDREWS Steven Wade; JIANG Yutong; KENNEDY April Layne; CONDROSKI Kevin Ronald; JOSEY John Anthony; STENGEL Peter John; MADDURU Machender R.; DOHERTY George Andrew; WOODARD Benjamin T. y Scott D. Seiwert

(74) Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

(30) Prioridad	(31) *No. Prioridad*	(32) *Fecha*	(33) *País*
	60/511,541	14-10-03	US
	60/612,460	22-09-04	US

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 14-05-06
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT
Fecha de presentación de la solicitud: 13-10-04
No. de solicitud: ***PCT/US2004/033970***

(87) Publicación internacional
Fecha: 28-04-05
N° publicación: ***WO 2005/037214 A2***

(54) Titulo: **ÁCIDOS CARBOXÍLICOS MACROCÍCLICOS Y ACILSULFONAMIDAS COMO INHIBIDORES DE REPLICACIÓN DEL HCV**

9

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO TEMÁTICO

PATENTE DE INVENCION ____ PCT _X_ MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ___

(21) N° de solicitud: **06-039.722A** (22) Fecha de solicitud: 26-04-06
(51) Clasificación Internacional: A61K

(71) Solicitante(s): **INTERMUNE, INC.**

(72) Inventor(es): BLATT Lawrence M; WENGLOWSKY Steven Mark; ANDREWS Steven Wade; JIANG Yutong; KENNEDY April Layne; CONDROSKI Kevin Ronald; JOSEY John Anthony; STENGEL Peter John; MADDURU Machender R.; DOHERTY George Andrew; WOODARD Benjamin T. y Scott D. Seiwert

(74) Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

(30) Prioridad

(31) *No. Prioridad*	(32) *Fecha*	(33) *País*
60/511,541	14-10-03	US
60/612,460	22-09-04	US

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 14-05-06
(86) Datos relativos a la presentación de la solic. PCT
Fecha de presentación de la solicitud: 13-10-04
No. de solicitud: ***PCT/US2004/033970***

(87) Publicación internacional:
Fecha: 28-04-05
No. Publicación : ***WO 2005/037214 A2***

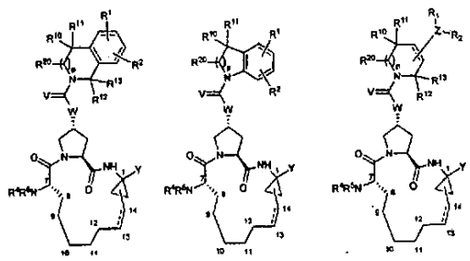
FIGURA CARACTERISTICA
6 x 6 cm

(54) Titulo: ÁCIDOS CARBOXÍLICOS MACROCÍCLICOS Y ACILSULFONAMIDAS COMO INHIBIDORES DE REPLICACIÓN DEL HCV

(57) Resumen:

Reivindicación número 1.-

Un compuesto que tiene la fórmula I, VIII o IX:



I VIII IX

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo
en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, tiazolil, $C(O)NR^6R^7$, NR^6R^7, $C(O)OR^8$, $NHC(O)R^8$, $OCH_nNR^6R^7$ u OCH_nR^9; en donde R^9 es imidazolil o pirazolil; dicho tiazolil en la definición de R^1 y R^2 se encuentra opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} o alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro;

(b) R^4 es H

(c) R^5 es $C(O)NR^6R^7$, $C(O)R^8$, $C(O)OR^8$, o $(CO)CHR^{21}NH(CO)R^{22}$;

(d) R^6 y R^7 son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10}, o R^6 y R^7 se toman conjuntamente con el nitrógeno al cual se encuentran unidos para formar indolinil, pirrolidinil, piperidinil, piperazinil, o morfolinil;

(e) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10} que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo o fenilo; o R^8 es alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; o R^8 es un anillo de tetrahidrofurano enlazado a lo largo de la posición C_3 o C_4 del anillo de tetrahidrofurano; o R^8 es un anillo de tetrahidropiranilo enlazado a través de la posición C_4 del anillo de tetrahidropiranilo;

(f) Y es una sulfonamida de la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$, en donde R^9 en la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$ es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo o fenilo, o R^9 en la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$ es arilo $C_{6\text{ o }10}$ que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres de halo, ciano, nitro, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} o alcoxi C_{1-6}; o R^9 en la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$ es un alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 grupos fluoro; o R^9 en la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$ es un anillo heteroaromático opcionalmente sustituido hasta dos veces con halo, ciano, nitro, hidroxi, o alcoxi C_{1-6}; o Y es un ácido carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(g) R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} o alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; o R^{10} y R^{11} se toman conjuntamente con el carbono al cual se encuentran unidos para formar ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo;

(h) p = 0 o 1;

(i) R^{12} y R^{13} son cada uno independientemente H o $(CH_2)_nNR^6R^7$ o; o R^{12} y R^{13} son cada uno independientemente alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con $(CH_2)_nOR^8$;

(j) R^{20} es H;

(k) n = 1-4;

(l) V es O o S;

(m) W es O o NR^{15}, en donde R^{15} es H;

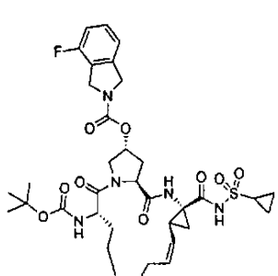
(n) la línea punteada representa un doble enlace opcional;

(o) R^{21} es alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-7};

(p) R^{22} es alquilo C_{1-6}; y

(q) Z es un sistema de anillo arilo o heteroarilo fusionado o anexado;

con la condición de que el compuesto no sea



ÁCIDOS CARBOXÍLICOS MACROCÍCLICOS Y ACILSULFONAMIDAS COMO INHIBIDORES DE REPLICACIÓN DEL HCV

RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

La presente invención proporciona compuestos de las fórmulas generales I-IX, así como composiciones, que incluyen composiciones farmacéuticas, que comprenden un compuesto objetivo. La presente invención proporciona además métodos de tratamiento, incluyendo métodos para tratar una infección por virus de hepatitis C y métodos para tratar fibrósis hepática, involucrando generalmente los métodos la administración a un individuo con necesidad del mismo de una cantidad efectiva de un compuesto o composición objetivo.

ÁCIDOS CARBOXÍLICOS MACROCÍCLICOS Y ACILSULFONAMIDAS COMO INHIBIDORES DE REPLICACIÓN DEL HCV

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a compuestos, procesos para su síntesis, composiciones y métodos para el tratamiento de la infección por virus de hepatitis C (HCV). En particular, la presente invención proporciona nuevos análogos péptidos, composiciones farmacéuticas que contienen tales análogos y métodos para utilizar estos análogos en el tratamiento de la infección por HCV.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La infección por virus de hepatitis C (HCV) es la infección crónica portada en la sangre más común en los Estados Unidos. Aunque los números de nuevas infecciones han declinado, la carga de infección crónica es substancial, con estimados en los Centers for Disease Control de 3.9 millones (1.8%) de personas infectadas en los Estados Unidos. La enfermedad hepática crónica es la décima causa principal de muerte entre adultos en los Estados Unidos, y da cuenta de aproximadamente 25,000 muertes anualmente, o aproximadamente 1% de todas las muertes. Los estudios indican que el 40% de las enfermedades hepáticas crónicas se relacionan con el HCV, dando como resultado un estimado de 8,000-10,000 muertes cada año. La enfermedad hepática asociada al HCV en etapa

terminal es la indicación más frecuente para transplante de hígado entre adultos.

La terapia antiviral de la hepatitis C crónica ha evolucionado rápidamente durante la última década, con mejoras significativas observadas en la eficacia del tratamiento. No obstante, incluso con terapia de combinación utilizando ribavirina pegilada IFN-α plus, 40% a 50% de los pacientes fallan a la terapia, i.e., sin respuesta o reincidentes. Estos pacientes actualmente no tienen alternativa terapéutica efectiva. En particular, los pacientes que tienen fibrosis o cirrosis avanzada en la biopsia hepática se encuentran en riesgo significativo de desarrollar complicaciones de enfermedad hepática avanzada, incluyendo ascitos, jaundice, sangrado variceal, encefalopatía y falla hepática progresiva, así como un riesgo marcadamente incrementado de carcinoma hepatocelular.

La alta prevalencia de infección crónica por HCV tiene importantes implicaciones de salud pública para la carga futura de enfermedad hepática crónica en los Estados Unidos. Los datos derivados del National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) indicaron que se presentó un gran incremento en la tasa de nuevas infecciones por HCV de finales de los 60 a principios de los 80, particularmente entre personas entre 20 a 40 años de edad. Se estima que el número de personas con infección por HCV

durante mucho tiempo de 20 años o más, podrían más que cuadruplicarse de 1990 a 2015, de 75,000 hasta 3 millones. El incremento proporcional en personas infectadas por 30 o 40 años sería incluso mayor, Dado que el riesgo de enfermedad hepática crónica relacionada con HCV se relaciona con la duración de la infección, incrementándose progresivamente el riesgo de cirrosis en personas infectadas por más de 20 años, esto dará como resultado un incremento sustancial en la morbidez y mortalidad relacionada con la cirrosis entre pacientes infectados entre los años de 1965-1985.

El HCV es un virus de ARN envuelto de cuerda positiva en la familia Flaviviridae. El genoma de ARN HCV monocatenario es de aproximadamente 9500 nucleótidos de longitud y tiene una sola estructura de lectura abierta (ORF) que codifica una sola poliproteína grande de aproximadamente 3000 aminoácidos. En células infectadas, esta poliproteína se divide en múltiples sitios mediante proteasas celulares y virales para producir las proteínas estructurales y no estructurales (NS) del virus. En el caso del HCV. La generación de proteínas maduras no estructurales (NS2, NS3, NS4, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) se efectúa por medio de dos proteasas virales. La primera proteasa viral se divide en la unión NS2-NS3 de la poliproteína. La segunda proteasa viral es serina proteasa contenida dentro de la región de terminación N de NS3 (referida en la presente como "MS3

proteasa"). La NS3 proteasa media todos los eventos de división subsecuentes en los sitios corriente abajo relativos a la posición de NS3 en la poliproteína (i.e., los sitios localizados entre la terminación C de NS3 y la terminación C de la poliproteína). La NS3 proteasa exhibe actividad tanto en cis, en el sitio de división de NS3-NS4, como en trans, para los sitios restantes NS4A-NS4B, NS4B-NS5A y NS5A-NS5B. Se cree que la proteína NS4A sirve para múltiples funciones, actuando como un cofactor para la NS3 proteasa y posiblemente auxiliando en la localización de membrana de NS3 y otros componentes virales replicasa. Aparentemente, la formación del complejo entre NS3 y ND4A es necesaria para los eventos de procesamiento mediados por NS3 y aumenta la eficiencia proteolítica en todos los sitios reconocidos por NS3. Esta NS3 proteasa exhibe también nucleósido trifosfatasa y actividades de ARN helicasa. ND5B es una ARN polimerasa dependiente de ARN implicada en la replicación de ARN HCV.

Literatura

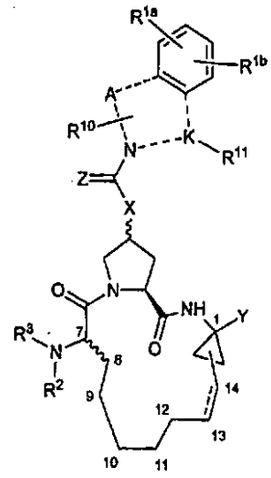
METAVIR (1994) Hepatology 20:15-20; Brunt (2000) Hepatol, 31:241-246; Alpini (1997) J. Hepatol. 27:371-380; Baroni et al., (1996) Hepatol. 23_1189-1199; Czaja et al., (1989) Hepatol. 10:795-800; Grossman et al., (1998) J. Gastroenterol. Hepatol. 13:1058-1060; Rocker y Chung (1994) J. Invest. Med. 42:660-670; Sakaida et al., (1998) J. Hepatol. 28:471-479; Shi et al., (1997) Proc. Natl. Acad.

Sci., EUA 94:10663-10668; Baroni et al., (1999)Liver 19:212-219; Lortat-Jacob et al., (1997) J. Hepatol. 26:894-903; Llorent et al., (1996) J. Hepatol. 24:555-563; Patente de E.U. No. 5,082,659; Solicitud de Patente Europea EP 294,160; Patente de E.U. No. 4,806,347; Balish et al., (1992) J. Infect. Diseases 166:1401-1403; Katayama et al., (2001) J. Viral Hepatitis 8:180-185; Patente de E.U. No. 5,082,659; Patente de E.U. No. 5,190,751; Patente de E.U. No. 4,806,347; Wandl et al., (1992) Br. J. Haematol. 81:516-519; Solicitud de Patente Europea No. 294,160; Patente Canadiense No. 1,321,348; Solicitud de Patente Europea No. 276.120; Wandl et al., (1992) Sem. Oncol. 19:88-94; Balish et al., (1992) J. Infectious Diseases 166:1401-1403; Van Dijk et al., (1994) Int. J. Cancer 56:262-268; Sundmacher et al., (1987)Current Eye Res. 6:273-276; Patentes de E.U. Nos. 6,172,046; 6,245,740; 5,824,784; 5,372,808; 5,980,884; solicitudes internacionales de patente publicadas WO 96/21468; WO 96/11953; WO 00/59929; WO 00/66623; WO 2003/064416; WO 2003/064455; WO 2003/064456; WO 97/06804; WO 98/17679; WO 98/22496; WO 97/43310; WO 98/46597; WO 98/46630; WO 99/07733; WO 99/07734; WO 00/09543; WO 00/09558; WO 99/38888; WO 99/64442; WO 99/50230; WO 95/33764; Torre et al., (2001) J. Med, Virol. 64:455-459; Bekkering et al., (2001) J. Hepatol. 34:435-440; Zeuzem et al., (2001) Gastroenterol. 120:1438-1447; Zeuzem (1999) J. Hepatol. 31:61-64; Keeffe y Hollinger

(1997) Hepatol. 26:101S-107S; Wills (1990) Clin. Pharmacokinetic 19:390-399; Heathcote et al., (2000) New Engl. J. Med. 343_1673-1680; Husa y Husova (2001) Bratisl. Lek. Listy 102:248-252; Glue et al., (2000) Clin. Pharmacol. 68:556-567; Bailon et al., (2001) Bioconj. Chem. 12:195-202; y Neumann et al., (2001) Science 282:103; Zalipsky (1995) Adv. Drug Delivery Reviews S. 16, 157-182; Mann et al., (2001) Lancet 358_958-965; Zeuzem et al., (2000) New Engl. J. Med. 343:1666-1672; Patentes de E.U. Nos. 5,633,388; 5,866,684; 6,018,020; 5,869,253; 6,608,027; 5,985,265; 5,908,121; 6,177,074; 5,985,263; 5,711,944; 5,382,657; y 5,908,121; Osborn et al., (2002) J. Pharmacol. Exp. Therap. 303:540-548; Sheppard et al., (2003) Nat Immunol. 4:63-68; Chang et al., (1999) Nat. Biotechnol. 17:793-797; Adolf (1995) Multiple Sclerosis 1 Suppl. 1:S44-S47; Chu et al., Tet. Lett. (1996), 7229-7232; Ninth Conference on Antiviral Research, Urabandai, Fukyshima, Japón (1996) (Antiviral Research, (1996), 30:1, A23 (extracto 19)); Steinkuhler et al., Biochem, 37:8899-8905; Ingallinella et al., Biochem, 37:8906-8914.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

Incluidos en el alcance de la invención se encuentran los compuestos de la fórmula I:



(I)

en donde

(a) R^1 es cada uno independientemente H, halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, arilo $C_{6\ o\ 10}$, piridal, pirimidal, tienil, fluranil, tiazolil, oxazolil, fenoxi, tiofenoxi, $SO_2NR^5R^6$, $NHC(O)R^5$, $NHC(O)NR^5R^6$, $NHC(S)NR^5R^6$, NR^5R^6, $C(O)R^5$, $C(O)OR^5$, $C(O)NR^5R^6$, SO_mR^5; dichos tienil, pirimidal, furanil, tiazolil, y oxazolil en la definición de R^{1a} y R^{1b} se encuentran opcionalmente sustituidos por hasta dos halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6}

opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; dichos arilo C_{6-10}, piridal, fenoxi, tiofenoxi en la definición de R^1 se encuentran opcionalmente sustituidos por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro;

(b) R^2 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, o fenilo, dicho fenilo opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro;

(c) R^3 es H, alquilo C_{1-6}, $C(O)R^5$, $C(O)OR^5$, $C(O)NR^5R^6$, $C(S)NR^5R^6$, $S(O)_2R^5$;

(d) R^5 y R^6 son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, o fenilo, dicho fenilo opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro;

(e) Y es una sulfonamida de la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^4$,

en donde R^4 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo, ciano, nitro, alcoxi C_{1-6}, amido o fenilo, o R^4 es arilo $C_{6 \text{ o } 10}$ que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; o Y es un ácido carboxílico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo;

(f) m = 0, 1, o 2;

(g) X = O, NH o NR; y

(h) Z = O o S

Incluida dentro del alcance de la invención se encuentra una composición farmacéutica que contiene un inhibidor NS3 que es un compuesto de la fórmula I (e.g., fórmulas I-VII), o una sal o éster terapéuticamente aceptable del mismo, en mezcla con un vehículo farmacéuticamente aceptable. También se encuentra incluida un derivado de prodroga farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la fórmula I (e.g., fórmulas I-VII), en donde la prodroga es capaz de proporcionar absorción gastrointestinal o hepática aumentada.

También se proporciona un método para tratar a un

paciente que tiene infección viral de hepatitis C, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I, o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica como se describió anteriormente.

Se proporciona además un método para tratar a un paciente que tiene una infección viral de hepatitis C, que comprende administrar al paciente una cantidad de un compuesto de la fórmula I, o una sal o éster terapéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la fórmula I, en combinación con una cantidad de uno o más agentes antivirales adicionales, efectiva para lograr una respuesta viral sostenida en el paciente.

DEFINICIONES

Como se utiliza en la presente, el término "fibrosis hepática", utilizado de manera intercambiable con "fibrosis de hígado", se refiere al crecimiento de tejido ulcerado en el tejido que puede presentarse en el contexto de una infección de hepatitis crónica.

Los términos "individuo", "huésped", "sujeto" y "paciente" se utilizan de manera intercambiable en la presente, y se refieren a un mamífero, incluyendo, pero sin limitarse a, primates, incluyendo simios y humanos.

Como se utiliza en la presente, el término función

hepática", se refiere a una función normal del hígado, incluyendo, pero sin limitarse a, una función sintética, incluyendo, pero sin limitarse a, síntesis de proteínas tales como proteínas en suero (e.g., albúmina, factores de revestimiento, alcalina fosfatasa, aminotransferasas (e.g., alanina transaminasa, aspartato transaminasa), 5'-nucleoosidasa, y-glutaminiltranspeptidasa, etc.), síntesis de bilirrubina, síntesis de colesterol, y síntesis de ácidos biliares; una función metabólica del hígado, incluyendo, pero sin limitarse a, metabolismo de carbohidratos, metabolismo de aminoácidos y amonio, metabolismo hormonal, y metabolismo de lípidos; destoxificación de drogas exógenas; una función hemodinámica, incluyendo, hemodinámica splanchnic y portal; y lo similar.

El término "respuesta viral sostenida" (SVR; también referida como una "respuesta sostenida" o una "respuesta durable"), como se utiliza en la presente, se refiere a la respuesta de un individuo a un régimen de tratamiento para infección por HCV, en términos de titulación de HCV en suero. Generalmente, una "respuesta viral sostenida" se refiere a ARN HCV no detectable (e.g., menos que aproximadamente 500, menos que aproximadamente 200 o menos que aproximadamente 100 copias genómicas por mililitro en suero) encontrado en el suero del paciente durante un período de al menos aproximadamente un mes, al menos

aproximadamente dos meses, al menos aproximadamente tres meses, al menos aproximadamente cuatro meses, al menos aproximadamente cinco meses, o al menos aproximadamente seis meses, después de cesar el tratamiento.

"Pacientes que fallan el tratamiento" como se utiliza en la presente, se refiere generalmente a pacientes infectados por HCV que fallaron en la respuesta a terapia previa para HCV (referidos como "sin respuesta") o que inicialmente respondieron a la terapia previa, pero en quienes no se mantuvo la respuesta terapéutica (referidos como "reincidentes"). La terapia previa generalmente puede incluir tratamiento con monoterapia con IFN-α o terapia de combinación con IFN-α, en donde la terapia de combinación puede incluir la administración de un IFN-α y un agente antiviral tal como ribavirina.

Como se utilizan en la presente, los términos "tratamiento", "tratar" y lo similar, se refiere a obtener un efecto farmacológico y/o fisiológico deseado. El efecto puede ser profiláctico en términos de prevención completa o parcialmente una enfermedad o síntoma de la misma y/o puede ser terapéutico en términos de cura parcial o completa para una enfermedad y/o un efecto adverso atribuible a la enfermedad. "Tratamiento" como se utiliza en la presente, cubre cualquier tratamiento de una enfermedad en un mamífero, particularmente en un humano, e incluye: (a) prevenir que se

presente la enfermedad en un sujeto que puede estar predispuesto a la enfermedad pero aún no se ha diagnosticado que la tenga; (b) inhibir la enfermedad, i.e., detener su desarrollo; y (c) aliviar la enfermedad, i.e., ocasionar la regresión de la enfermedad.

Los términos "individuo", "huésped", "sujeto" y "paciente" se utilizan de manera intercambiable en la presente, y se refieren a un mamífero, incluyendo, pero sin limitarse a, murinos, simios, humanos, animales mamíferos de granja, animales mamíferos para deportes, y mamíferos mascota.

Un "análogo pirfenidona específico" y todas las variantes gramaticales del mismo, se refiere a, y se limita a, todos y cada uno de los análogos de pirfenidona mostrados en la Tabla 1.

Como se utiliza en la presente, el término "un agonista receptor de interferón Tipo I" se refiere a cualquier ligante de origen natural o de origen no natural del receptor humano de interferón Tipo I, que se enlaza y ocasiona transducción de señal a través del receptor. Los agonistas receptores de interferón Tipo I incluyen interferones, incluyendo interferones de origen natural, interferones modificados, interferones sintéticos, interferones pegilados, proteínas de fusión que contienen un interferón y una proteína heteróloga, interferones evasivos;

anticuerpo específico para un receptor de interferón; agonistas químicos no péptidos; y lo similar.

Como se utiliza en la presente, el término "agonista receptor de interferón Tipo II" se refiere a cualquier ligante de origen natural o de origen no natural del receptor humano de interferón Tipo II que se enlaza a, y ocasiona transducción de señal a través del receptor. Los agonistas receptor de interferón Tipo II incluyen interferón-γ humano natural, especies recombinantes de IFN-γ, especies glicosiladas de IFN-γ, especies pegiladas de IFN-γ, especies modificadas o variantes de IFN-γ, proteínas de fusión de IFN-γ, agonistas de anticuerpo específicos para el receptor, agonistas no péptido, y lo similar.

Como se utiliza en la presente, el término "agonista del receptor de interferón Tipo III" se refiere a cualquier ligante de origen natural o de origen no natural del receptor α humano IL-28 ("IL-28R"), cuya secuencia de aminoácidos se describe por Sheppard et al., infra, que se enlaza a, y ocasiona transducción de señal a través del receptor.

Como se utiliza en la presente, el término "agonista del receptor de interferón" se refiere a cualquier agonista del receptor de interferón Tipo I, agonista del receptor de interferón Tipo II o agonista del receptor de interferón Tipo III.

El término "evento de dosis" como se utiliza en la presente se refiere a la administración de un agente antiviral a un paciente que lo necesita, cuyo evento puede abarcar una o más liberaciones de un agente antiviral de un dispositivo de suministro de droga. Por tanto, el término "evento de dosis", como se utiliza en la presente, incluye, pero no se limita a, la instalación de un dispositivo de liberación continua (e.g., una bomba u otro sistema inyectable de liberación controlada); y una sola inyección subcutánea seguida por la instalación de un sistema de suministro continuo.

"Suministro continuo" como se utiliza en la presente (e.g., en el contexto del "suministro continuo de una sustancia a un tejido") se refiere al movimiento de drogas a un sitio de suministro, e.g., en un tejido, de una manera que proporciona el suministro de una cantidad deseada de sustancia en el tejido durante un período seleccionado de tiempo, de manera que se recibe la misma cantidad de droga por el paciente a cada minuto durante el período de tiempo seleccionado.

"Liberación controlada" como se utiliza en la presente (e.g., en el contexto de "liberación controlada de drogas") pretende abarcar la liberación de sustancia (e.g., agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III, e.g., un IFN-α) a una proporción, intervalo y/o cantidad

seleccionada o de otra manera controlable, que no se encuentra sustancialmente influenciada por el entorno de uso. "Liberación controlada" abarca por tanto, pero no necesariamente se limita a, suministro sustancialmente continuo, y suministro por patrón (e.g., suministro intermitente durante un período de tiempo interrumpido por intervalos de tiempo regulares o irregulares).

"Por patrón" o "temporal" como se utiliza en el contexto de suministro de drogas significa el suministro de una droga en un patrón, generalmente un patrón sustancialmente regular, durante un período de tiempo preseleccionado (e.g., diferente del período de tiempo asociado con, por ejemplo una inyección rápida). Suministro de drogas "por patrón" o "temporal" abarca el suministro de drogas en proporción o rango de proporciones incrementado, disminuido, sustancialmente constante o pulsátil (e.g., cantidad de drogas por unidad de tiempo, o volumen de formulación de droga para una unidad de tiempo), y abarca además el suministro continuo o sustancialmente continuo o crónico.

El término "dispositivo de suministro de drogas controlado" pretende abarcar cualquier dispositivo en donde la liberación (e.g., proporción, tiempo de liberación) de una droga u otra sustancia contenida en el mismo, se controla o se determina por el dispositivo en sí y no se influye

sustancialmente por el entorno de uso, o se libera a una proporción reproducible dentro del entorno de uso.

"Sustancialmente continuo(a)" como se utiliza, por ejemplo, en el contexto de "infusión sustancialmente continua" o "suministro sustancialmente continuo" pretende referirse al suministro de drogas de una manera sustancialmente no interrumpida para un período preseleccionado de suministro de drogas, en donde la cantidad de droga recibida por el paciente durante cualquier intervalo de 8 horas en el período preseleccionado nunca cae a ceero. Además, suministro de drogas "sustancialmente continuo" también puede abarcar el suministro de drogas a una proporción o rango de proporciones preseleccionado sustancialmente constante (e.g., cantidad de droga por unidad de tiempo, o volumen de formulación de droga para una unidad de tiempo) que es sustancialmente ininterrumpido por un período preseleccionado de suministro de droga.

Por "estado sustancialmente estable" como se utiliza en el contexto de un parámetro biológico que puede variar como una función de tiempo, se entiende que el parámetro biológico exhibe un valor sustancialmente constante durante un curso de tiempo, de manera que el área bajo la curva definida por el valor del parámetro biológico como una función de tiempo por un período de 8 horas durante el curso de tiempo (AUC8hr) se encuentra a no más de aproximadamente

20% arriba o aproximadamente 20% abajo, y preferentemente no más de aproximadamente 15% arriba o aproximadamente 15% abajo, y más preferentemente no más de aproximadamente 10% arriba o aproximadamente 10% abajo, del área promedio bajo la curva del parámetro biológico durante un período de 8 horas durante el curso de tiempo (promedio AUC8hr). El promedio AUC8hr se define como el cociente (q) del área bajo la curva del parámetro biológico sobre la totalidad del curso de tiempo (AUCtotal) dividido por el número de intervalos de 8 horas en el curso de tiempo (ttolal1/3días), i.e., q = (AUCtotal)/(ttotal1/3días). Por ejemplo, en el contexto de una concentración en suero de una droga, la concentración en suero de la droga se mantiene en un estado sustancialmente estable durante un curso de tiempo cuando el área bajo la curva de concentración en suero de la droga al paso del tiempo por cualquier período de 8 horas durante el curso de tiempo (AUC8hr) se encuentra a no más de aproximadamente 20% arriba o aproximadamente 20% abajo del área promedio bajo la curva de concentración en suero de la droga durante un período de 8 horas en el curso de tiempo (promedio AUC8hr), i.e., el AUC8hr se encuentra a no más del 20% arriba o 20% abajo del promedio AUC8hr para la concentración en suero de la droga durante el curso de tiempo.

Antes de describir adicionalmente la presente invención, debe entenderse que esta invención no se limita a

las modalidades particulares descritas, dado que tales, por supuesto, varían. También debe entenderse que la terminología utilizada en la presente tiene el propósito de describir solo las modalidades particulares, y no pretende ser limitante, debido a que el alcance de la presente invención se limitará solo por medio de las reivindicaciones anexas.

Cuando se proporciona un rango de valores, se entiende que cada valor que interviene, hasta el décimo de la unidad del límite menor a menos que el contexto lo indique de otra manera, entre el límite superior e inferior de ese rango y cualquier otro valor definido o que interviene en ese rango definido, se encuentra abarcado dentro de la invención. También se encuentran abarcados dentro de la invención los límites superior e inferior de estos rangos más pequeños que pueden incluirse independientemente en los rangos más pequeños, sujetos a cualquier límite específicamente excluido en el rango definido. Cuando el rango definido incluye uno o ambos límites, los rangos que excluyen cualquiera de aquellos límites incluidos también se incluyen en la invención.

A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado comúnmente entendido por el de experiencia ordinaria en la técnica a la cual pertenece esta invención. Aunque también puede utilizarse cualquier método

y material similar o equivalente a los descritos en la presente en la práctica o análisis de la presente invención, se describen ahora los métodos y materiales preferidos. Todas las publicaciones mencionadas en la presente se incorporan en la presente por la referencia para definir y describir los métodos y/o materiales en relación a los cuales se citan las publicaciones.

Debe notarse que como se utilizan en la presente y en las reivindicaciones anexas, las formas en singular "un(a)", "y", y "el(la)" incluyen los referentes en plural a menos que el contexto lo dicte claramente de otra manera. Por tanto, por ejemplo, la referencia a "un método" incluye una pluralidad de tales métodos y la referencia a "una dosis" incluye la referencia a una o más dosis y sus equivalentes conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

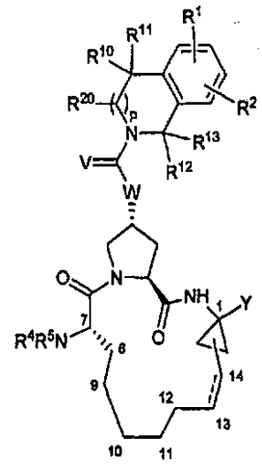
Las publicaciones tratadas en la presente se proporcionan únicamente por su descripción previa a la fecha de presentación de la presente solicitud. Nada en la presente debe interpretarse como admisión de que la presente invención no se encuentra autorizada para ante fechar tal publicación en virtud de la invención previa. Además, las fechas de las publicaciones proporcionadas pueden ser diferentes a las fechas de publicación reales que puede ser necesario confirmar independientemente.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La presente invención proporciona compuestos de la fórmula I, así como composiciones y formulaciones farmacéuticas que contienen cualquier compuesto de la fórmula I. Un compuesto sujeto es útil para tratar la infección por HCV y otros trastornos, como se trata abajo.

COMPOSICIONES

La presente invención proporciona compuestos que tienen la fórmula general I:



en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, arilo $C_{6\ o\ 10}$, piridal, pirimidal, tienil, fluranil,

tiazolil, oxazolil, fenoxi, tiofenoxi, $SO_2NR^5R^6$, $NHC(O)R^5$, $NHC(O)NR^5R^6$, $NHC(S)NR^5R^6$, NR^5R^6, $C(O)R^5$, $C(O)OR^5$, $C(O)NR^5R^6$, SO_mR^5, $NHS(O)_2R^8$, $OCH_nNR^6R^7$, o OCH_nR^{16}, en donde R^{16} es imidazolil o pirazolil; dichos tienil, pirimidal, furanil, tiazolil, y oxazolil en la definición de R^1 y R^1 se encuentran opcionalmente sustituidos por hasta dos halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; dichos arilo $C_{6\text{ o }10}$, piridal, fenoxi, y tiofenoxi en la definición de R^1 se encuentran opcionalmente sustituidos por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro;

(b) m = 0, 1, o 2;

(c) R^4 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, fenilo o bencilo, dicho fenilo o bencilo opcionalmente sustituidos por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro;

(d) R^5 es, alquilo C_{1-6}, $C(O)NR^6R^7$, $C(S)NR^6R^7$, $C(O)OR^8$, $C(O)OR^8$, $S(O)_2R^8$ o $(CO)CHR^{21}NH(CO)R^{22}$;

(e) R^6 y R^7 son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, o fenilo, dicho fenilo opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, o R^6 y R^7 se toman conjuntamente con el nitrógeno al cual se encuentran unidos para formar indolinil, pirrolidinil, peperidinil, peperazinil, o morfolinil;

(f) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo, ciano, nitro, hidroxi, alcoxi C_{1-6} o fenilo; o R^8 es arilo $C_{6\ o\ 10}$ que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; o R^8 es alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 grupos fluoro; o R^8 un anillo tetrahidrofurano enlazado a lo largo de la posición C_3 o C_4 del anillo tetrahidrofurano; o R^8 es un anillo tetrapiranilo enlazado a través de la posición C_4 del anillo tetrapiranilo;

(g) Y es una sulfonamida de la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$, en donde R^9 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo, ciano, nitro, hidroxi, alcoxi C_{1-6}, o fenilo, o R^9 es arilo $C_{6\ o\ 10}$ que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; o R^9 es un alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 grupos fluoro, NR^6R^7, o $(CO)OH$, o R^9 es un anillo heteroaromático opcionalmente sustituido hasta dos veces con halo ciano, nitro, hidroxi, o alcoxi C_{1-6}; o Y es un ácido carboxílico o una sal, solvato o prodroga farmacéuticamente aceptable del mismo;

(h) R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, arilo $C_{6\ o\ 10}$, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, $(CH_2)_nNR^6R^7$, $(CH_2)_nC(O)OR^{14}$, en donde R^{14} es H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo, ciano, nitro, hidroxi, alcoxi C_{1-6}, o fenilo, o R^9 es arilo $C_{6\ o\ 10}$ que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6},

cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; dicho arilo $C_{6\ o\ 10}$, en la definición de R^{10} y R^{11} se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; y R^{10} y R^{11} se toman conjuntamente con el carbono al cual se encuentran unidos para formar ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo; o R^{10} y R^{11} se combinan como O;

(i) p = 0 o 1;

(j) R^{12} y R^{13} son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, arilo $C_{6\ o\ 10}$, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, $(CH_2)_nNR^6R^7$, $(CH_2)_nC(O)OR^{14}$, en donde R^{14} es H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo, ciano, nitro, hidroxi, alcoxi C_{1-6}, o fenilo; o R^{14} es arilo $C_{6\ o\ 10}$ que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente

sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; dicho arilo $C_{6\ o\ 10}$, en la definición de R^{12} y R^{13} se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; y R^{12} y R^{13} se toman conjuntamente con el carbono al cual se encuentran unidos para formar ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo; o R^{12} y R^{13} son cada uno independientemente alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con $(CH_2)_nOR^8$;

(k) R^{20} es H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, arilo $C_{6\ o\ 10}$, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, $(CH_2)_nNR^6R^7$, $(CH_2)_nC(O)OR^{14}$, en donde R^{14} es H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo, ciano, nitro, hidroxi, alcoxi C_{1-6}, o fenilo; o R^{14} es arilo $C_{6\ o\ 10}$ que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; dicho arilo $C_{6\ o\ 10}$, en la definición de R^{12} y R^{13} se

encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro;

(l) n = 0-4;

(m) V se selecciona de O, S, o NH;

(n) cuando V es O o S, W se selecciona de O, NR^{15} o CR^{15}; cuando V es NH, W se selecciona de , NR^{15} o CR^{15}; en donde R^{15} es H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, o alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro;

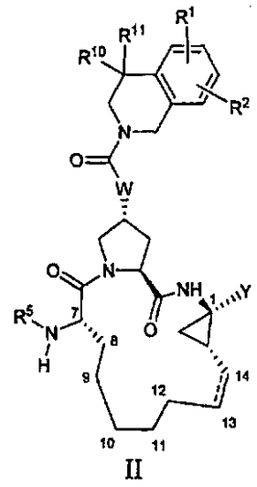
(o) la línea punteada representa un doble enlace opcional;

(p) R^{21} es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo, ciano, nitro, hidroxi, alcoxi C_{1-6}, o fenilo; o R^{21} es arilo $C_{6 \text{ o } 10}$ que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; o R^{21} es piridal, pirimidal, tienil, fluranil,

tiazolil, oxazolil, fenoxi, tiofenoxi; y

(q) R^{22} es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro o fenilo.

La presente invención proporciona compuestos que tienen la fórmula general II:



II

en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(b) R^5 es $C(O)NR^6R^7$, $C(O)R^8$, $C(O)OR^8$;

(c) R^6 y R^7 son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} o fenilo;

(d) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} o 3-tetrahidrofurilo.

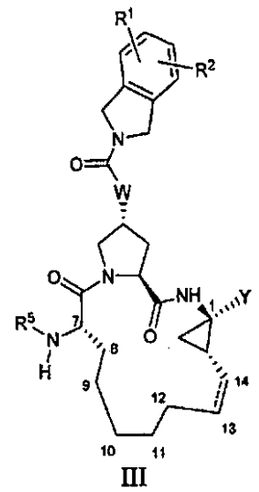
(e) Y es una sulfonamida de la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$, en donde R^9 es alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-7}, o fenilo que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta dos halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-7}, alcoxi C_{1-3} o Y es un ácido carboxílico o una sal, solvato o prodroga farmacéuticamente aceptable de los mismos;

(f) R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, alquilo alquilo C_{1-3}, o R^{10} y R^{11} se toman conjuntamente con el carbono al cual se encuentran unidos para formar ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo;

(g) W se selecciona de O o NH; y

(h) la línea punteada representa un enlace doble opcional.

La presente invención proporciona compuestos que tienen la fórmula general III:



III

en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(b) R^4 es H

(c) R^5 es $C(O)NR^6R^7$, $C(O)R^8$, $C(O)OR^8$;

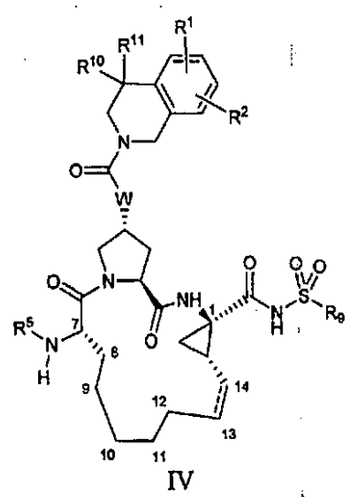
(d) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} o tetrahidrofurilo;

(e) Y es una sulfonamida de la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$, en donde R^9 es alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-7}, o fenilo que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta dos halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-7}, alcoxi C_{1-3} o Y es un ácido carboxílico o una sal, solvato o prodroga farmacéuticamente aceptable de los mismos;

(f) W se selecciona de O o NH;

(g) la línea punteada representa un enlace doble opcional.

La presente invención proporciona compuestos que tienen la fórmula general IV:



IV

en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(b) R^5 es $C(O)OR^8$, o $C(O)NHR^8$;

(c) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{5-6}, o tetrahidrofurilo;

(d) R^9 es alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-4}, o fenilo que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta dos halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

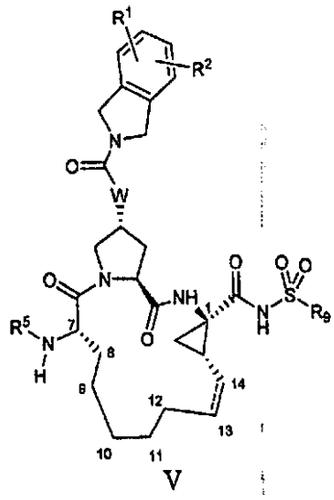
(e) R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-3}, o R^{10} y R^{11} se toman conjuntamente con el átomo de carbono al cual se encuentran unidos para formar ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo;

(f) W se selecciona de O o NH; y

(g) la línea punteada representa un enlace doble opcional.

92

La presente invención proporciona compuestos que tienen la fórmula general V:



V

en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(b) R^5 es $C(O)OR^8$, o $C(O)NHR^8$;

(c) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{5-6}, o tetrahidrofurilo;

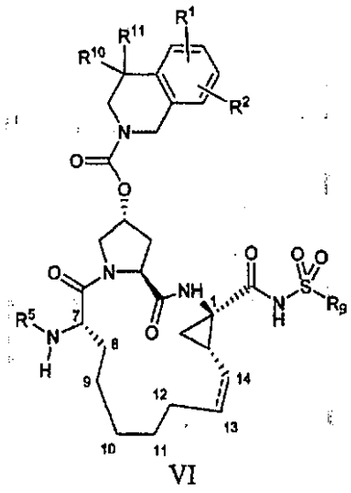
(d) R^9 es alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-4}, o fenilo que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta dos halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(e) R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-3}, o cicloalquilo C_{4-5}.

(f) W se selecciona de O o NH

(g) la línea punteada representa un enlace doble opcional.

La presente invención proporciona compuestos que tienen la fórmula general VI:



VI

en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, cloro, fluoro, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(b) R^5 es $C(O)OR^8$, o $C(O)NHR^8$;

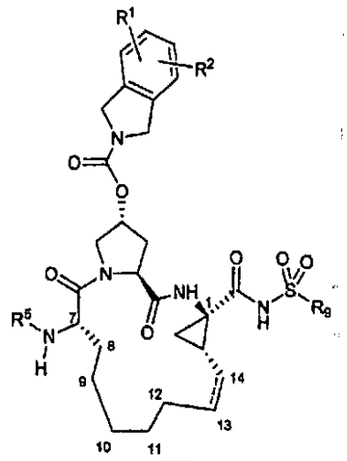
(c) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{5-6};

(d) R^9 es alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-4}, o fenilo que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta dos halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(e) R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-3}, o R^{10} y R^{11} se toman conjuntamente con el átomo de carbono al cual se encuentran unidos para formar ciclopropilo, ciclobutilo.

(f) la línea punteada representa un enlace doble opcional.

La presente invención proporciona compuestos que tienen la fórmula general VII:



VII

en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, cloro, fluoro, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

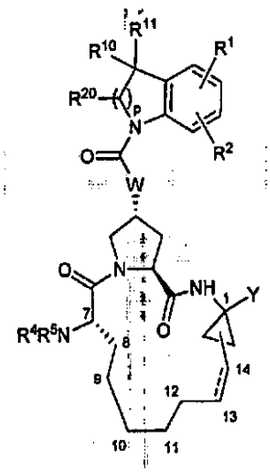
(b) R^5 es $C(O)OR^8$, o $C(O)NHR^8$;

(c) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{5-6};

(d) R^9 es alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-4}, o fenilo que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta dos halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(e) la línea punteada representa un enlace doble opcional.

La presente invención proporciona compuestos que tienen la fórmula general VIII:



en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(b) R^4 es H;

(c) R^5 es $C(O)NR^6R^7$, $C(O)R^8$, $C(O)OR^8$;

(d) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} o 3-tetrahidrofurilo;

(e) Y es una sulfonamida de la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$, en donde R^9 es alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-7}, o fenilo, que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta dos halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-7}, alcoxi C_{1-3}, o Y es un ácido carboxílico o una sal, solvato o prodroga farmacéuticamente aceptable del mismo;

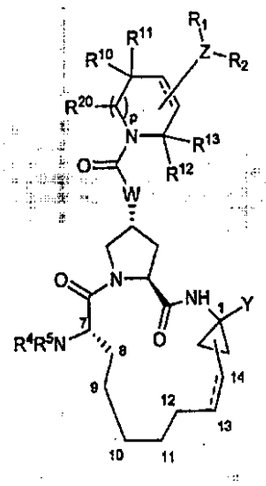
(f) R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-3}, o R^{10} y R^{11} se toman conjuntamente con el átomo de carbono al cual se encuentran unidos para formar ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo;

(g) R^{20} es H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, arilo $C_{6\ o\ 10}$, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, $(CH_2)_nNR^6R^7$, $(CH_2)_nC(O)OR^{14}$, en donde R^{14} es H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo, ciano, nitro, hidroxi, alcoxi C_{1-6}, o fenilo, o R^{14} es arilo $C_{6\ o\ 10}$ que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; dicho arilo $C_{6\ o\ 10}$, en la definición de R^{12} y R^{13} se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro;

(h) W se selecciona de O o NH;

(i) la línea punteada representa un enlace doble opcional.

La presente invención proporciona compuestos que tienen la fórmula general IX:



en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(b) R^4 es H;

(c) R^5 es $C(O)NR^6R^7$, $C(O)R^8$, $C(O)OR^8$;

(d) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} o 3-tetrahidrofurilo;

(e) Y es una sulfonamida de la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$, en donde R^9 es alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-7}, o fenilo, que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta dos halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-7}, alcoxi C_{1-3}, o Y es un ácido carboxílico o una sal, solvato o prodroga farmacéuticamente aceptable del mismo;

(f) R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-3}, o R^{10} y R^{11} se toman conjuntamente con el átomo de carbono al cual se encuentran unidos para formar

ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo;

(g) R^{20} es H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, arilo $C_{6 \text{ o } 10}$, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, $(CH_2)_nNR^6R^7$, $(CH_2)_nC(O)OR^{14}$, en donde R^{14} es H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo, ciano, nitro, hidroxi, alcoxi C_{1-6}, o fenilo, o R^{14} es arilo $C_{6 \text{ o } 10}$ que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; dicho arilo $C_{6 \text{ o } 10}$, en la definición de R^{12} y R^{13} se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres halo, ciano, nitro, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro;

(h) W se selecciona de O o NH;

(i) la línea punteada representa un enlace doble; y

(j) en donde Z es un sistema de anillo arilo heteroarilo fusionado o anexado.

La presente invención proporciona además

composiciones, incluyendo composiciones farmacéuticas, que contienen compuestos de las fórmulas generales I-VIII, y sales, ésteres u otros derivados de los mismos. La composición farmacéutica sujeto contiene un compuesto sujeto; y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Se conoce en la técnica una amplia variedad de excipientes farmacéuticamente aceptables y no necesitan tratarse en detalle en la presente. Los excipientes farmacéuticamente aceptables se han descrito ampliamente en una diversidad de publicaciones, incluyendo, por ejemplo, A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20ª edición, Lippincott, Williams & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H.C. Ansel et al., eds. 7ª ed., Lippincott, Williams & Wilkins; y Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe et al., Eds., 3ª ed. Amer. Pharmaceutical Assoc.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como vehículos, adyuvantes, portadores o diluyentes, se encuentran fácilmente disponibles al público. Además, las sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables tales como agentes de ajuste de pH y amortiguadores, agentes de ajuste de tonicidad, estabilizadores, agentes humectantes y lo similar, se encuentran fácilmente disponibles al público.

En muchas modalidades, el compuesto sujeto inhibe la actividad enzimática de una proteasa NS3 del virus de

hepatitis C (HCV). Puede determinarse fácilmente si un compuesto sujeto inhibe la NS3 de HCV utilizando cualquier método conocido. Los métodos típicos implican la determinación de si una poliproteína de HCV u otro polipéptido que comprende un sitio de reconocimiento de NS3 se divide por medio de NS3 en presencia del agente. En muchas modalidades, el compuesto sujeto inhibe la actividad enzimática de NS3 por al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 15%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 25%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 90%, o más en comparación con la actividad enzimática de NS3 en ausencia del compuesto.

En muchas modalidades el compuesto sujeto inhibe la actividad enzimática de proteasa NS3 de HCV con un IC_{50} de menos que aproximadamente 50 µm, e.g., un compuesto sujeto inhibe la proteasa NS3 de HCV con un IC_{50} de menos que aproximadamente 40 µm, menos que aproximadamente 25 µm, menos que aproximadamente 10 µm, menos que aproximadamente 1 µm, menos que aproximadamente 100 nM, menos que aproximadamente 80 nM, menos que aproximadamente 60 nM, menos que aproximadamente 50 nM, menos que aproximadamente 25 nM, menos que aproximadamente 10 nM, o menos que aproximadamente 1 nM,

o menos.

En muchas modalidades, el compuesto sujeto inhibe la replicación viral de HCV. Por ejemplo, el compuesto sujeto inhibe la replicación viral de HCV por al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 15%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 25%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 80%, o al menos aproximadamente 99%, o más en comparación con la replicación viral de HCV en ausencia del compuesto. Puede determinarse si un compuesto sujeto inhibe la replicación viral de HCV utilizando métodos conocidos en la técnica, incluyendo un análisis de replicación viral in vitro.

TRATAMIENTO DE UNA INFECCIÓN POR VIRUS DE HEPATITIS

Los métodos y composiciones descritos en la presente son generalmente útiles en el tratamiento de una infección por HCV.

Puede determinarse si un método sujeto es efectivo para tratar una infección por HCV mediante una reducción en la carga viral, una reducción en el tiempo para seroconversión (virus no detectable en el suero de un paciente), un incremento en la proporción de respuesta viral sostenida a la terapia, una reducción de la morbidez y mortalidad en resultados clínicos, u otro indicador de

respuesta a la enfermedad.

En general, una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad que es efectiva para reducir la carga viral o lograr una respuesta viral sostenida a la terapia.

Puede determinarse si un método sujeto es efectivo para tratar una infección por HCV midiendo la carga viral, o midiendo un parámetro asociado con la infección por HCV, incluyendo, pero sin limitarse a, fibrosis hepática, elevaciones en los niveles de transaminasa en suero, y la actividad necroinflamatoria en el hígado. Se tratan abajo en detalle indicadores de fibrosis hepática.

El método implica la administración de una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I, opcionalmente en combinación con una cantidad efectiva de uno o más agentes antivirales adicionales. En algunas modalidades, una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad que es efectiva para reducir las titulaciones virales a niveles no detectables, e.g., a aproximadamente 1000 hasta aproximadamente 5000, a aproximadamente 500 hasta aproximadamente 1000, o a aproximadamente 100 hasta aproximadamente 500 copias genómicas/ml en suero. En algunas modalidades, una cantidad efectiva de un compuesto de la

fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad que es efectiva para reducir la carga viral a menos que 100 copias genómicas/ml en suero.

En algunas modalidades, una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad que es efectiva para lograr una reducción de 1.5-log, 2-log, 2.5-log, 3-log, 3.5-log, 4-log, 4.5-log, o 5-log, en la titulación viral en el suero del individuo.

En algunas modalidades, una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad que es efectiva para lograr una respuesta viral sostenida, e.g., ARN HCV no detectable (e.g., menos que aproximadamente 500, menos que aproximadamente 400, menos que aproximadamente 200, o menos que aproximadamente 100 copias genómicas por mililitro en suero) encontrada en el suero del paciente durante un período de al menos aproximadamente un mes, al menos aproximadamente dos meses, al menos aproximadamente tres meses, al menos aproximadamente cuatro meses, al menos aproximadamente cinco meses, o al menos aproximadamente seis meses siguientes al cese de la terapia.

Como se anotó anteriormente, puede determinarse si un método sujeto es efectivo para tratar una infección por HCV midiendo un parámetro asociado con la infección por HCV,

tal como fibrosis hepática. Se tratan abajo en detalle métodos para determinar la extensión de fibrosis hepática. En algunas modalidades, el nivel de un marcador en suero de fibrosis hepática indica en grado de fibrosis hepática.

Como un ejemplo no limitante, se miden los niveles de alanina aminotransferasa en suero (ALT) utilizando análisis estándar. En general, un nivel de ALT de menos que aproximadamente 45 unidades internacionales se considera normal. En algunas modalidades, una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad efectiva para reducir los niveles de ALT a menos que aproximadamente 45 IU/ml en suero.

Una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad efectiva para reducir el nivel en suero de un marcador de fibrosis hepática por al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 25%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 35%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 45%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 55%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 65%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 70%, o al menos aproximadamente 80% o más, en comparación con el nivel del marcador en un individuo no tratado, o en un

individuo tratado con placebo. Los métodos para medir los marcadores en suero incluyen métodos en base inmunológica, e.g., análisis inmunoabsorbentes enlazados a enzima (ELISA), radioinmunoanálisis, y lo similar, utilizando un anticuerpo específico para un marcador en suero dado.

En muchas modalidades, una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I, y un agente antiviral adicional, es una cantidad sinergística. Como se utiliza en la presente, una "combinación sinergística" o una "cantidad sinergística" de un compuesto de la fórmula I y un agente antiviral adicional es una dosis combinada que es más efectiva en el tratamiento terapéutico o profiláctico de una infección por HCV que la mejora del incremento en el resultado del tratamiento que pudiera predecirse o esperarse de una combinación meramente aditiva de (i) el beneficio terapéutico o profiláctico del compuesto de la fórmula I al administrarse en esa misma dosis que la monoterapia y (ii) el beneficio terapéutico o profiláctico del agente antiviral adicional al administrarse en la misma dosis que la monoterapia.

En algunas modalidades de la invención, una cantidad seleccionada de un compuesto de la fórmula I y una cantidad seleccionada de un agente antiviral adicional, son efectivas al utilizarse en terapia de combinación para una enfermedad, pero la cantidad seleccionada del compuesto de la

JB

fórmula I y/o la cantidad seleccionada del agente antiviral adicional es ineficaz al utilizarse en monoterapia para la enfermedad. De esta manera, la invención abarca (1) regímenes en los cuales una cantidad seleccionada del agente antiviral adicional mejora el beneficio terapéutico de una cantidad seleccionada del compuesto de la fórmula I al utilizarse en terapia de combinación para una enfermedad, en donde la cantidad seleccionada del agente antiviral adicional no proporciona ningún beneficio terapéutico al utilizarse en monoterapia para la enfermedad (2) regímenes en los cuales la cantidad seleccionada del compuesto de la fórmula I mejora el beneficio terapéutico de una cantidad seleccionada del compuesto de la fórmula I al utilizarse en terapia de combinación para una enfermedad, en donde la cantidad seleccionada del compuesto de la fórmula I no proporciona ningún beneficio terapéutico al utilizarse en monoterapia para la enfermedad y (3) regímenes en los cuales la cantidad seleccionada del compuesto de la fórmula I y la cantidad seleccionada del agente antiviral adicional proporcionan un beneficio terapéutico al utilizarse en terapia de combinación para una enfermedad, en donde cada una de las cantidades seleccionadas del compuesto de la fórmula I y del agente antiviral adicional, respectivamente, no proporcionan ningún beneficio terapéutico al utilizarse en monoterapia para la enfermedad. Como se utiliza en la presente, debe entenderse

que una "cantidad sinergísticamente efectiva" de un compuesto de la fórmula I y un agente antiviral adicional, y sus equivalentes gramaticales, incluye cualquier régimen abarcado por cualquiera de (1)-(3) anteriores.

Fibrosis

La presente invención proporciona métodos para tratar fibrosis hepática (incluyendo formas de fibrosis hepática resultantes de, o asociadas con la infección por HCV), implicando generalmente la administración de una cantidad terapéutica de un compuesto de la fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales. Las cantidades efectivas de los compuestos de la fórmula I, con y sin uno o más agentes antivirales adicionales, así como los regímenes de dosis, son como se trata abajo.

Se determina si el tratamiento con un compuesto de la fórmula I y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es efectivo para reducir la fibrosis hepática mediante cualquiera de un número de técnicas muy establecidas para la medición de fibrosis hepática y la función hepática. La reducción de la fibrosis hepática se determina analizando una muestra de biopsia del hígado. Un análisis de una biopsia de hígado comprende evaluaciones de dos componentes principales: necroinflamación evaluada por "grado" como una medida de la severidad y actividad progresiva de la enfermedad, y las lesiones de fibrosis y la remodelación

parenquimal o vascular evaluada por "etapa" reflejando el progreso de la enfermedad a largo plazo. Ver, e.g., Brunt (2000) Hepatol. 31:241:246; y METAVIR (1994) Hepatology 20:15-20. En base a análisis de la biopsia de hígado, se asigna una marca. Existe un número de sistemas de marcación estandarizados que proporcionan una evaluación cuantitativa del grado y la severidad de la fibrosis. Estos incluyen los sistemas de marcación METAVIR, Knodell, Scheuer, Ludwig, y Isahak.

El sistema de marcación METAVIR se basa en el análisis de diversas características de una biopsia de hígado, incluyendo fibrosis (fibrosis portal, fibrosis centrilobular, y cirrosis); necrosis (necrosis piecemeal y lobular, retracción lobular, retracción acidofílica, y degeneración de globo); inflamación (inflamación del tracto portal, agregados de linfoide portal, y distribución de la inflamación portal); cambios en el conducto biliar; y el índice Knodell (marcaciones de necrosis periportal, necrosis lobular, inflamación portal, fibrosis y actividad total de la enfermedad). Las definiciones de cada etapa en el sistema METAVIR son como sigue: marcación: 0, sin fibrosis; marcación: 1, agrandamiento estrellado del tracto portal pero sin formación de septa; marcación: 2, agrandamiento del tracto portal con formación rara de septa; marcación: 3 numerosas septa sin cirrosis; y marcación: 4 cirrosis.

El sistema de marcación de Knodell, también llamado el Índice de Actividad de Hepatitis, clasifica especímenes en base a marcaciones en cuatro categorías de características histológicas: I. necrosis periportal y/o de puente; II. Degradación intralobular y necrosis focal; III. Inflamación portal; y IV. Fibrosis. En el sistema de etapas de Knodell, las marcaciones son como sigue: marcación: 0, sin fibrosis; marcación: 1, fibrosis suave (expansión del portal fibroso); marcación: 2, fibrosis moderada; marcación: 3, fibrosis severa (fibrosis de puente); y marcación: 4, cirrosis. Entre más alta es la marcación, más severo es el daño al tejido del hígado. Knodell (1981) Hepatol. 1:431.

En el sistema de marcación Scheuer las marcaciones son como sigue: marcación: 0, sin fibrosis; marcación: 1 tractos portales fibróticos agrandados; marcación: 2, septa periportal o portal-portal, pero arquitectura intacta; marcación: 3, fibrosis con distorsión arquitectónica, pero sin cirrosis obvia; marcación: 4, cirrosis probable o definitiva. Scheuer (1991) J. Hepatol. 13:372.

El sistema de marcación Ishak se describe en Ishak (1995) J. Hepatol. 22:696-699. Etapa 9, sin fibrosis; Etapa 1, expansión fibrosa de algunas áreas portales, con o sin septa fibrosa corta; etapa 2, expansión fibrosa de la mayoría de las áreas portales, con o sin septa fibrosa corta; etapa 3, expansión fibrosa de la mayoría de las áreas portales con

puenteo ocasional de portal a portal (P-P); etapa 4, expansión fibrosa de las áreas portales con marcado puenteo (P-P) así como portal-central (P-C); etapa 5, marcado puenteo (P-P y/o P-C) con nódulos ocasionales (cirrosis incompleta); etapa 6, cirrosis probable o definitiva.

El beneficio de la terapia anti-fibrótica también puede medirse y evaluarse utilizando el sistema de marcación Child-Pugh que comprende un sistema de punto multicomponente en base a anormalidades en el nivel de bilirrubina en suero, el nivel de albúmina en suero, el tiempo de protrombina, la presencia y severidad de ascitos, y la presencia y severidad de encefalopatía. En base a la presencia y severidad de anormalidad de estos parámetros, los pacientes pueden ubicarse en una de tres categorías de severidad aumentada de la enfermedad clínica: A, B, o C.

En algunas modalidades, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad que efectúa un cambio de una unidad o más en la etapa de fibrosis en base a biopsias del hígado pre y post-terapia. En modalidades particulares, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales reduce la fibrosis hepática por al menos una unidad en el sistema de marcación METAVIR, Knodell, Scheuer, Ludwig o

Ishak.

De manera secundaria o indirectamente, los índices de función hepática también pueden utilizarse para evaluar la eficacia del tratamiento con un compuesto de la fórmula I. También puede medirse la evaluación morfométrica computarizada semi-automática del grado cuantitativo de fibrosis hepática en base a la coloración específica de colágeno y/o marcadores en suero de fibrosis hepática como una indicación de la eficacia de un método sujeto de tratamiento. Los índices secundarios de la función hepática incluyen pero no se limitan a, niveles de transaminasa en suero, tiempo de la protrombina, bilirrubina, conteo de plaquetas, presión portal, nivel de albúmina y evaluación de la marcación Child-Pugh.

Una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad efectiva para aumentar el índice de la función hepática por al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 25%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 35%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 45%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 55%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 65%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 70%, o al menos aproximadamente 80% o más, en comparación con el índice de la

función hepática en un individuo no tratado, o en un individuo tratado con placebo. Los expertos en la técnica pueden medir fácilmente tales índices de la función hepática, utilizando métodos de análisis estándar, muchos de los cuales se encuentran comercialmente disponibles, y se utilizan rutinariamente en aplicaciones clínicas.

Los marcadores en suero de la fibrosis hepática también pueden medirse como una indicación de la eficacia de un método sujeto de tratamiento. Los marcadores en suero de fibrosis hepática incluyen pero no se limitan a, hialuronato, péptido procolágeno II de terminación N, dominio 7S de colágeno Tipo IV, péptido de procolágeno I de terminación C, y laminina. Los marcadores bioquímicos adicionales de fibrosis hepática incluyen α-2-macroglobulina, haptoglobulina, gama globulina, apolipoproteína A y gama glutamil transpeptidasa.

Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad efectiva para reducir el nivel en suero de un marcador de fibrosis hepática por al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 25%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 35%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 45%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 55%, al menos aproximadamente

60%, al menos aproximadamente 65%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 70%, o al menos aproximadamente 80% o más, en comparación con el nivel del marcador en un individuo no tratado, o en un individuo tratado con placebo. Los expertos en la técnica pueden medir fácilmente tales marcadores en suero de la fibrosis hepática, utilizando métodos de análisis estándar, muchos de los cuales se encuentran comercialmente disponibles, y se utilizan rutinariamente en aplicaciones clínicas. Los métodos para medir los marcadores en suero incluyen métodos en base inmunológica, e.g., análisis inmunoabsorbentes enlazados a enzima (ELISA), radioinmunoanálisis, y lo similar, utilizando un anticuerpo específico para un marcador en suero dado.

También pueden utilizarse análisis cuantitativos de la reserva funcional del hígado para evaluar la eficacia del tratamiento con un agonista receptor de interferón y pirfenidona (o un análogo de pirfenidona). Estos incluyen: despeje con indocianina verde (ICG), capacidad de eliminación de galactosa (GEC), prueba de aliento de aminopirina (ABT), despeje con antipirina, despeje con monoetilglicina-xilidida (MEG-X) y despeje con cafeína.

Como se utiliza en la presente, una "complicación asociada con la cirrosis del hígado" se refiere a un trastorno que es una secuela de una enfermedad hepática descompensada, i.e., o que se presenta subsecuentemente a, y

64

como resultado del desarrollo de la fibrosis hepática, e incluye pero no se limita a, el desarrollo de ascitos, sangrado variceal, hipertensión portal, jaundice, insuficiencia hepática progresiva, encefalopatía, carcinoma hepatocelular, falla hepática que requiere transplante de hígado, y mortalidad relacionada con el hígado.

Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad efectiva para reducir la incidencia de (e.g., la probabilidad de que un individuo desarrolle) un trastorno asociado con cirrosis del hígado por al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 25%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 35%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 45%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 55%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 65%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, o al menos aproximadamente 80% o más, en comparación con un individuo no tratado, o un individuo tratado con placebo.

Los expertos en la técnica pueden fácilmente determinar si el tratamiento con un compuesto de la fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es efectivo para reducir la incidencia de un trastorno asociado con cirrosis del hígado.

La reducción en la fibrosis hepática aumenta la función hepática. Por tanto, la invención proporciona métodos para incrementar la función hepática, que implican generalmente la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales. Las funciones hepáticas incluyen, pero no se limitan a, síntesis de proteínas tales como proteínas en suero (e.g., albúmina, factores de revestimiento, alcalina fosfatasa, aminotransferasas (e.g., alanina transaminasa, aspartato transaminasa), 5'-nucleoosidasa, y-glutaminiltranspeptidasa, etc.), síntesis de bilirrubina, síntesis de colesterol, y síntesis de ácidos biliares; una función metabólica del hígado, incluyendo, pero sin limitarse a, metabolismo de carbohidratos, metabolismo de aminoácidos y amonio, metabolismo hormonal, y metabolismo de lípidos; destoxificación de drogas exógenas; una función hemodinámica, incluyendo, hemodinámica splanchnic y portal; y lo similar.

Los expertos en la técnica pueden fácilmente establecer si aumenta la función hepática utilizando análisis muy establecidos de la función hepática. Por tanto, la síntesis de marcadores de la función hepática tales como albúmina, alcalina fosfatasa, alanina transaminasa, aspartato transaminasa, bilirrubina, y lo similar, puede evaluarse midiendo el nivel de estos marcadores en el suero, utilizando

análisis inmunológicos y enzimáticos estándar. La circulación splanchnic y la hemodinámica portal pueden medirse mediante presión de cuña portal y/o resistencia utilizando métodos estándar. Las funciones metabólicas pueden medirse midiendo el nivel de amonio en suero.

Puede determinarse si las proteínas en suero secretadas por el hígado se encuentran en un rango normal midiendo los niveles de tales proteínas utilizando análisis inmunológicos y enzimáticos estándar. Los expertos en la técnica conocen los rangos normales para tales proteínas en suero. Los siguientes son ejemplos no limitantes. El nivel normal de alanina transaminasa es de aproximadamente 45 IU por milímetro de suero. El rango normal de aspartato transaminasa es de aproximadamente 5 a aproximadamente 40 unidades por litro de suero. La bilirrubina se mide utilizando análisis estándar. Los niveles normales de bilirrubina son comúnmente menores que aproximadamente 1.2 mg/dl. Los niveles de albúmina en suero se miden utilizando análisis estándar. Los niveles normales de albúmina en suero se encuentran en el rango de desde aproximadamente 35 hasta aproximadamente 55 g/l. La prolongación del tiempo de la protrombina se mide utilizando análisis estándar. El tiempo normal de protrombina es menor que aproximadamente 4 segundos más que el control.

Una cantidad terapéuticamente efectiva de un

compuesto de la fórmula I y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una que es efectiva para incrementar la función hepática por al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 40, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, o al menos aproximadamente 80% o más. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad efectiva para reducir un nivel elevado de un marcador en suero de la función hepática por al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 40, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, o al menos aproximadamente 80% o más, o para reducir el nivel de marcador en suero de la función hepática a un rango normal. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula I y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es también una cantidad efectiva para incrementar un nivel reducido de un marcador en suero de la función hepática por al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 40, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, o al menos aproximadamente 80% o

más, o para incrementar el nivel de marcador en suero de la función hepática a un rango normal.

Agonistas del receptor de interferón Tipo I

En cualquiera de los métodos antes descritos, en algunas modalidades, se administra un agonista del receptor de interferón Tipo I. Los agonistas del receptor de interferón Tipo I incluyen un IFN-α; un IFN-β; un IFN-tau; un IFN-ω; agonistas de anticuerpo específicos para un receptor de interferón Tipo I; y cualquier otro agonista de receptor de interferón Tipo I, incluyendo agonistas no polipéptido.

Interferón-Alfa

Puede utilizarse cualquier IFN-α conocido en la presente invención. El término "interferón-alfa" como se utiliza en la presente se refiere a una familia de polipéptidos relacionados que inhiben la replicación viral y la proliferación celular y modulan la respuesta inmune. El término "IFN-α" incluye IFN-α de origen natural, IFN-α sintético; IFN-α derivatizado (e.g., IFN-α pegilado, IFN-α glicosilado y lo similar); y análogos de IFN-α de origen natural o sintético; esencialmente cualquier IFN-α que tiene propiedades antivirales, como se describió para el IFN-α de origen natural.

Los alfa interferones adecuados incluyen, pero no se limitan a, IFN-α de origen natural (incluyendo pero sin limitarse a, IFN-α2a de origen natural, IFN-α2b); interferón

recombinante alfa-2b tal como interferón Intron-A disponible de Schering Corporation, Kenilworth, NJ.; interferón recombinante alfa-2a tal como interferón Roferon disponible de Hoffmann-La Roche, Nutley, NJ.; interferón recombinante alfa-2C tal como Berofor alfa 2 interferón disponible de Boehringer Ingelheim Pharmaceutical, Inc., Ridgefield, Conn,; interferón alfa-n1, una mezcla purificada de alfa interferones naturales tales como Sumiferon disponible de Sumitomo, Japón o como Wellferon interferon alfa-n1 (INS) disponible de Glaxo-Wellcome Ltd., Londres, Gran Bretaña; e interferón alfa-n3 una mezcla de alfa interferones naturales elaborada por Interferon Sciences y disponible de Purdue Frederick Co., Norwalk, Conn., bajo el nombre comercial de Alferon.

El término "IFN-α" abarca también IFN-α de consenso. El IFN-α de consenso (referido también como "CIFN" e "IFN-con" e "interferón de consenso" abarca, pero sin limitarse a las secuencias de aminoácidos designadas IFN-con1, IFN-con2 e IFN-con3 que se describen en las Patentes de E.U. Nos. 4,695,623 y 4,o897,471; y el interferón de consenso como se define por la determinación de una secuencia de consenso de alfa interferones de origen natural (e.g., Ingergen®, InterMine, Inc., Brisbane, Calif.). IFN-con1 es el agente interferón de consenso en el producto Infergen® alfacon-1. El producto de interferón de consenso Infergen®

se refiere en la presente por su nombre comercial (Infergen®) o por su nombre genérico (interferón alfacon-1). Las secuencias de ADN que codifican para IFN-con pueden sintetizarse como se describió en las patentes antes mencionadas u otros métodos estándar. El uso de CIFN es de particular interés.

También son adecuados para su uso en la presente invención los polipéptidos de fusión que comprenden un IFN-α y un polipéptido heterólogo. Los polipéptidos IFN-α de fusión adecuados incluyen, pero no se limitan a, Albuferon-alpha™ (un producto de fusión de albúmina humana e IFN-α; Human Genome Sciences; ver, e.g., Osborn et al., (2002) J. Pharmacol. Exp. Therap. 303:540-548). También son adecuadas para su uso en la presente invención las formas de evasión de gen de IFN-α. Ver, e,g., Masci et al., (2003) Curr. Oncol. Rep. 5:108-113.

Interferón-Alfa pegilado

El término "IFN-α" también abarca derivados de IFN-α que se encuentran derivatizados (e.g., se encuentran químicamente modificados) para alterar ciertas propiedades tales como la vida media en suero. Como tal, el término "IFN-α" incluye IFN-α glicosilado; IFN-α derivatizado con polietilen glicol ("IFN-α PEGilado") y lo similar. El IFN-α PEGilado y los métodos para prepararlo se tratan, e.g., en las Patentes de E.U. Nos. 5,382,657; 5,981,709; y 5,951,974.

El IFN-α PEGilado abarca conjugados de PEG y cualquiera de las moléculas de IFN-α antes descritas incluyendo, pero sin limitarse a, PEG conjugado a interferón alfa-2a (Roferon, Hoffman La Roche, Nutley, NJ.), interferón alfa 2b (Intron, Schering-Plough, Madison, NJ.), interferón alfa-2c (Berofor Alpha, Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Alemania); y el interferón de consenso definido por determinación de una secuencia de consenso de alfa interferones de origen natural (Infergen®, InterMune, Inc., Brisbane, Calif.).

Cualquiera de los polipéptidos IFN-α antes mencionados puede modificarse con uno o más residuos de polietilen glicol, i.e., PEGilados. La molécula PEG de un polipéptido IFN-α PEGilado se conjuga a una o más cadenas de aminoácidos del polipéptido IFN-α. En algunas modalidades, el IFN-α PEGilado contiene un residuo PEG solo en un aminoácido. En otras modalidades, el IFN-α PEGilado contiene un residuo PEG en dos o más aminoácidos, e.g., el IFN-α contiene un residuo PEG unido a dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez diferentes residuos de aminoácido.

El IFN-α puede acoplarse directamente a PEG (i.e., sin un grupo de enlace) a través de un grupo aminoácido, un grupo sulfhidrilo, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo.

En algunas modalidades, el IFN-α PEGilado se encuentra pegilado en o cerca de la terminación amino

(terminación N) del polipéptido IFN-α, e.g., el residuo PEG se encuentra conjugado al polipéptido IFN-α en uno o más de los residuos de aminoácido desde el aminoácido 1 hasta el aminoácido 4, o del aminoácido 5 a aproximadamente el 10.

En otras modalidades, el IFN-α PEGilado se encuentra pegilado en uno o más residuos de aminoácido de aproximadamente 10 a aproximadamente 28.

En otras modalidades, el IFN-α PEGilado se encuentra pegilado en o cerca de la terminación carboxilo (terminación C) del polipéptido IFN-α, e.g., en uno o más residuos de los aminoácidos 156-166 o de los aminoácidos 150 a 155.

En otras modalidades, el IFN-α PEGilado se encuentra pegilado en uno o más residuos de aminoácido en uno o más residuos de los aminoácidos 100-114.

La derivatización de polietilen glicol de los residuos de aminoácido en o cerca de los dominios de sitio de enlace de receptor y/o activos de la proteína IFN-α puede romper el funcionamiento de estos dominios. En ciertas modalidades de la invención, los aminoácidos en los cuales va a evitarse la PEGilación incluyen residuos de aminoácido del aminoácido 30 al aminoácido 40; y residuos de aminoácido del aminoácido 113 al aminoácido 149.

En algunas modalidades, PEG se encuentra unido a IFN-α a través de un grupo de enlace. El grupo de enlace es

cualquier grupo de enlace biocompatible, en donde "biocompatible" indica que el compuesto o grupo es no tóxico y puede utilizarse in vitro o in vivo sin ocasionar daño, malestar, enfermedad, o muerte. PEG puede encontrarse unido al grupo de enlace, por ejemplo, a través de un enlace éter, un enlace éster, un enlace tiol, o un enlace amida. Los grupos de enlace biocompatibles adecuados incluyen, pero no se limitan a, un grupo éster, un grupo amida, un grupo imida, un grupo carbamato, un grupo carboxilo, un grupo hidroxilo, un carbohidrato, un grupo succinimida (incluyendo, por ejemplo, succinimidil succinato (SS), succinimidil propionato (SPA), succinimidil butanoato (SBA), succinimidil carboximetilato (SCM), succinimidil succinamida (SSA), o N-hidroxi succinimida (NHS), un grupo epóxido, un grupo oxicarbonilimidazolo (incluyendo, por ejemplo, carbonildimidazolo (CDI), un grupo nitro fenilo (incluyendo, por ejemplo, nitrofenil carbonato (NPC), o triclorofenil carbonato (TPC), un grupo trisilato, un grupo aldehído, un grupo isocianato, un grupo vinilsulfona, un grupo tirosina, un grupo cisteína, un grupo histidina o una amina primaria.

Los métodos para elaborar PEGs activados por éster, succinimidil propionato (SPA) y succinimidil butanoato (SBA) se describen en la Pat. de E.U. No. 5,672,662 (Harris et al.,) y WO 97/03106.

Se conocen en la técnica métodos para unir un PEG a

un polipéptido IFN-α, y puede utilizarse cualquier método conocido. Ver, por ejemplo, Park et al., Anticancer Res. 1:373-376 (1981); Zaplilsky y Lee, Polyethylene Glycol Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications, J. M. Harris, ed., Plenum Press, NY, Capítulo 21 (1992); Patente de E.U. No. 5,985,265; Pat. de E.U. No. 5,672,662 (Harris et al.) y WO 97/03106.

El IFN-α pegilado, y los métodos para su elaboración, se tratan e.g., en las Patentes de E.U. Nos. 5m382,657; 5,981,709; 5,985,265; y 5,951,974. El IFN-α pegilado abarca conjugados de PEG y cualquiera de las moléculas de IFN-α anteriormente descritas, incluyendo, pero sin limitarse a, PEG conjugado a interferón alfa-2a (Roferon, Hoffman LaRoche, Nutley, N.J.), en donde Roferon PEGilado se conoce como Pegasys (Hoffman LaRoche); interferón alfa-2b (Intron, Schering-Plough, Madison N.J.), en donde Intron PEGilado se conoce como PEG-Intron (Schering-Plough); interferón alfa-2c (Berofor Alpha, Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Alemania); e interferón de consenso (CIFN) como se define por determinación de una secuencia de consenso de alfa interferones de origen natural (Infergen®, InterMune, Inc., Brisbane, Calif.), en donde Infergen PEGilado se refiere como PEG-Infergen.

En muchas modalidades, el PEG es una molécula PEG monometoxi que se reactiva con grupos amina primaria en el

polipéptido IFN-α. Se conocen en la técnica métodos para modificar polipéptidos con PEG monometoxi a través de una alquilación reductiva. Ver, e.g., Chamow et al., (1994) Bioconj. Chem. 5:133-140.

En un ejemplo no limitante, PEG se enlaza a IFN-α a través de un grupo de enlace SPA. Los ésteres SPA de PEG, y métodos para elaborarlos se describen en la Patente de E.U: No. 5,672,662. Los enlaces SPA proporcionan un enlace a grupos amina libre del polipéptido IFN-α.

Por ejemplo, una molécula PEG se une de manera covalente a través de un enlace que comprende un enlace amida entre un grupo propionil del residuo PEG y el grupo amino epsilon de un residuo lisina de superficie expuesta en el polipéptido IFN-α. Tal enlace puede formarse, e.g., mediante condensación de un éster activado de ácido α-metoxi omega propanoico de PEG (mPEGspa).

Como un ejemplo no limitante, un conjugado CIFN monopegilado preferido para su uso en la presente tiene un residuo PEG lineal de aproximadamente 30 kD unido a través de un enlace covalente al polipéptido CIFN, en donde el enlace covalente es un enlace amida entre un grupo propionil del residuo PEG y el grupo amino epsilon de un residuo lisina de superficie expuesta en el polipéptido CIFN, en donde el resido lisina de superficie expuesta se selecciona de lys^{31}, lys^{50}, lys^{71}, lys^{84}, lys^{121}, lys^{122}, lys^{134}, lys^{135} y lys^{165}, y el

enlace amida se forma por condensación de un éster activado de ácido α-metoxi omega propanoico de PEG.

Polietilen Glicol

El polietilen glicol adecuado para conjugación a un polipéptido IFN-α es soluble en agua a temperatura ambiente, y tiene la fórmula general $R(O-CH_2-CH_2)_nO-R$, en donde R es hidrógeno o un grupo protector tal como un grupo alquilo o alcanol, y en donde n es un entero de 1 a 1000. Cuando R es un grupo protector, tiene generalmente de 1 a 8 carbonos.

En muchas modalidades, PEG tiene al menos un grupo hidroxilo, e.g., un grupo de terminación hidroxilo, cuyo grupo hidroxilo se modifica para generar un grupo funcional que es reactivo con un grupo amino, e.g., un grupo amino epsilon de un residuo lisina, un grupo amino libre en la terminación N de un polipéptido, o cualquier otro grupo amino tal como un grupo amino de asparagina, glutamina, arginina o histidina.

En otras modalidades, PEG se derivatiza de manera que sea reactivo con grupos carboxilo libre en el polipéptido IFN-α, e.g., el grupo carboxilo libre en la terminación carboxilo del polipéptido IFN-α. Los derivados de PEG adecuados que son reactivos con el grupo carboxilo libre en la terminación carboxilo de IFN-α incluyen, pero no se limitan a PEG-amina, y derivados hidrazina de PEG (e.g., PEG-$NH-NH_2$).

En otras modalidades, PEG se derivatiza de tal manera que comprende un grupo ácido tiocarboxílico terminal, -COSH, que reacciona selectivamente con grupos amino para generar derivados amida. Debido a la naturaleza reactiva del ácido tio, se logra la selectividad de ciertos grupos amino sobre otros. Por ejemplo, -SH exhibe suficiente capacidad de grupo de abandono en la reacción con el grupo amino de terminación N en condiciones de pH apropiadas de manera que los grupos ε-amino en los residuos lisina se protonan y permanecen no nucleofílicos. Por otra parte, las reacciones bajo condiciones adecuadas de pH pueden hacer que algunos de los residuos lisina accesibles reaccionen con selectividad.

En otras modalidades, el PEG comprende un éster reactivo tal como un N-hidroxi succinimidato al final de la cadena PEG. Tal molécula PEG que contiene N-hidroxi succinimidato reacciona con grupos amino selectos en condiciones particulares de pH tales como neutro 6.5-7.5. por ejemplo, los grupos amino de terminación N pueden modificarse selectivamente bajo condiciones de pH neutro. Sin embargo, si la reactividad del reactivo fuera extrema, también pueden reaccionar los grupos NH_2 accesibles de lisina.

El PEG puede conjugarse directamente al polipéptido IFN-α, o a través de un enlazador. En algunas modalidades, se agrega un enlazador al polipéptido IFN-α, formando un

polipéptido IFN-α modificado por el enlazador. Tales enlazadores proporcionan diversas funcionalidades, e.g., que los grupos reactivos tales como los grupos sulfhidrilo, amino o carboxilo acoplen el reactivo PEG al polipéptido IFN-α modificado por el enlazador.

En algunas modalidades, el PEG conjugado al polipéptido IFN-α es lineal. En otras modalidades, el PEG conjugado al polipéptido IFN-α es ramificado. Los derivados de PEG ramificados tales como los descritos en la Pat. de E.U. No. 5,643,575, "star-PEGs" y los PEGs de brazos múltiples tales como los descritos en Shearwater Polymers, Inc., catálogo, "Polyethylene Glicol Derivatives 1997-1998", star PEGs se describen en la técnica incluyendo, e.g., en la Patente de E.U: No. 6,046,305.

Se utiliza generalmente PEG que tiene un peso molecular en un rango de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 100 kDa, en donde el término "aproximadamente", en el contexto de PEG, indica que en preparaciones de polietilen glicol, algunas moléculas pesan más, algunas menos, que el peso molecular definido. Por ejemplo, el PEG adecuado para su conjugación a IFN-α tiene un peso molecular de desde aproximadamente 2 kDa hasta aproximadamente 5 kDa, desde aproximadamente 5 kDa hasta aproximadamente 10 kDa, desde aproximadamente 10 kDa hasta aproximadamente 15 kDa, desde aproximadamente 15 kDa hasta

aproximadamente 20 kDa, desde aproximadamente 20 kDa hasta aproximadamente 25 kDa, desde aproximadamente 25 kDa hasta aproximadamente 30 kDa, desde aproximadamente 30 kDa hasta aproximadamente 40 kDa, desde aproximadamente 40 kDa hasta aproximadamente 50 kDa, desde aproximadamente 50 kDa hasta aproximadamente 60 kDa, desde aproximadamente 60 kDa hasta aproximadamente 70 kDa, desde aproximadamente 70 kDa hasta aproximadamente 80 kDa, desde aproximadamente 80 kDa hasta aproximadamente 90 kDa, o desde aproximadamente 90 kDa hasta aproximadamente 100 kDa.

Preparación de conjugados PEG-IFN-α

Como se trató anteriormente, el residuo PEG puede unirse, directamente o a través de un enlazador, a un residuo aminoácido en o cerca de la terminación N, internamente, o en o cerca de la terminación C del polipéptido IFN-α. La conjugación puede llevarse a cabo en solución o en la fase sólida.

Enlace en terminación N

Se conocen en la técnica métodos para unir un residuo PEG a un residuo aminoácido en o cerca de la terminación N de un polipéptido IFN-α. Ver e.g., Patente de E.U. No. 5,985,265.

En algunas modalidades, se utilizan métodos conocidos para obtener selectivamente un IFN-α químicamente modificado de terminación N. Por ejemplo, puede utilizarse

un método de modificación de proteína por alquilación reductiva que explota la reactividad diferencial de diferentes tipos de grupos amino primarios (lisina contra terminación N) disponible para derivatización en una proteína particular. Bajo condiciones de reacción apropiadas, se logra una derivatización sustancialmente selectiva de la proteína en la terminación N con un grupo carbonilo que contiene polímero. La reacción se lleva a cabo a un pH que permite tomar ventaja de las diferencias pK_a entre los grupos ε-amino de los residuos lisina y las del grupo α-amino del residuo de terminación N de la proteína. Mediante tal unión por derivatización selectiva de un residuo PEG al IFN-α se controla: la conjugación con el polímero que tiene lugar predominantemente en la terminación N del IFN-α y sin una modificación significativa de otros grupos reactivos, tales como los grupos amino de cadena lateral lisina.

Enlace en terminación C

Los procedimientos de acoplamiento específico a la terminación N tales como los descritos en la Patente de E.U. No. 5,985,265 proporcionan predominantemente productos monoPEGilados. Sin embargo, los procedimientos de purificación ayudan a retirar el exceso de reactivos y los productos PEGilados menores multiplicados retiran los polipéptidos bloqueados de terminación N. En términos de terapia, tales procesos conducen a incrementos significativos

en los costos de fabricación. Por ejemplo, el examen de la estructura de la muy caracterizada secuencia de aminoácidos de polipéptido CIFN Infergen® Alfacon-1, revela que la unión es de aproximadamente 5% en la terminación carboxilo y por tanto sólo existe una secuencia principal de terminación C. por tanto, en algunas modalidades, no se utiliza el IFN-α pegilado de terminación N; en su lugar, el polipéptido IFN-α se encuentra pegilado en la terminación C.

Un procedimiento sintético así como terapéutico efectivo para obtener un producto Infergen pegilado se contempla en consecuencia como sigue:

Un reactivo PEG selectivo para la terminación C puede prepararse con o sin separadores. Por ejemplo, puede utilizarse como material de inicio polietilen glicol modificado como metil éter en un extremo y que tiene una función amino en el otro extremo.

Puede llevarse a cabo la preparación u obtención de una carbodiimida soluble en agua como agente de condensación. El acoplamiento de IFN-α (e.g., Infergen® Alfacon-1 CIFN o interferón de consenso) con una carbodiimida soluble en agua como reactivo de condensación, se lleva a cabo generalmente en un medio acuoso con un sistema de amortiguador adecuado a un pH óptimo para efectuar el enlace amida. Puede agregarse un PEG de alto peso molecular a la proteína de manera covalente para incrementar el peso molecular.

Los reactivos seleccionados dependerán de estudios de optimización de proceso. Un ejemplo no limitante de un reactivo adecuado es EDAC o 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida. La solubilidad del agua de EDAC permite la adición directa a una reacción sin la necesidad de disolución previa del solvente orgánico. El exceso de reactivo y la isourea formada como producto secundario de la reacción de reticulación son ambos solubles en agua y pueden retirarse fácilmente mediante diálisis o filtración en gel. Se prepara una solución concentrada de EDAC en agua para facilitar la adición de una pequeña cantidad molar a la reacción. La solución de reserva se prepara y se utiliza inmediatamente en vista de la naturaleza lábil al agua del reactivo. La mayoría de los protocolos sintéticos en la literatura sugieren que el medio óptimo de reacción se encuentra en un rango de pH entre 4.7 y 6.0. sin embargo, las reacciones de condensación proceden sin pérdidas significativas en rendimientos de hasta un pH de 7.5. puede utilizarse agua como solvente. En vista del uso contemplado de Infergen, el medio será preferentemente amortiguador de ácido 2-(N-morfolino)etano sulfónico pre-titulado a un pH de entre 4.7 y 6.0. Sin embargo, también puede utilizarse 0.1 M fosfato en el pH de 7-7.5 en vista del hecho de que el producto se encuentra en el mismo amortiguador. Las proporciones de PEG amina a molécula IFN-α se optimizan de

manera que el(los) residuo(s) carboxilo de terminación C se encuentren selectivamente pegilados para producir derivado(s) monopegilado(s).

Aunque el uso de PEG amina se ha mencionado anteriormente por nombre o estructura, tales derivados pretenden ser solo ejemplares, y también pueden utilizarse otros grupos tales como derivados hidrazina como PEG-NH-NH_2 que también se condensarán con el grupo carboxilo de la proteína IFN-α. Además de la fase acuosa, las reacciones también pueden conducirse en fase sólida. Puede seleccionarse el polietilen glicol de una lista de compuestos de un peso molecular que varía de 300-40000. La elección de los diversos polietilen glicoles también se dictará por la eficiencia de acoplamiento y el desempeño biológico del derivado purificado in vitro e in vivo, i.e., tiempos de circulación, actividades anti virales etc.

Adicionalmente, pueden agregarse separadores adecuados a la terminación C de la proteína. Los separadores pueden tener grupos reactivos tales como SH, NH_2 o COOH para acoplarse con el reactivo PEG apropiado para proporcionar los derivados IFN-α de alto peso molecular. Puede diseñarse una metodología combinada de fase sólida/solución para la preparación de interferones pegilados de terminación C. por ejemplo, la terminación C de IFN-α se extiende en una fase sólida utilizando un separador Gly-Gly-Cys-NH_2, y después se

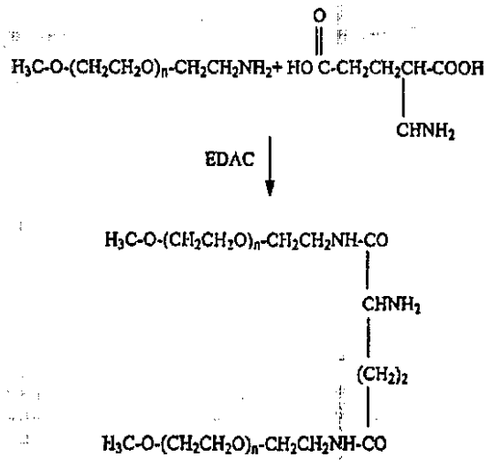
monopegila en solución utilizando un reactivo ditiopiridil-PEG activado de un peso molecular apropiado. Dado que el acoplamiento en la terminación C depende del bloqueo en la terminación N, los procesos y productos contemplados serán benéficos con respecto al costo (un tercio de la proteína no se lava como en los métodos de pegilación en la terminación N) y contribuirán a la economía de la terapia para tratar la infección por virus.

Puede existir un grupo carboxilo más reactivo de residuos de aminoácidos en cualquier otra parte en la molécula para reactivarse con el reactivo PEG y conducir a la monopegilación en ese sitio o conducir a múltiples pegilaciones además de al grupo -COOH en la terminación C del IFN-α. Se contempla que estas reacciones serán mínimas a causa de la libertad estérica en el extremo de terminación C de la molécula y a la obstrucción estérica impuesta por las carbodiimidas y los reactivos PEG tal como en moléculas de cadena ramificada. En consecuencia es el modo preferente de modificación de PEG para Infergen y proteínas similares tales, naturales o expresadas en un sistema huésped, que pueden haber bloqueado las terminaciones N a grados variables para mejorar la eficiencia y mantener una mayor actividad biológica in vivo.

Otro método para lograr la pegilación en la terminación C es como sigue. La selectividad de la

pegilación en la terminación C se logra con un agente estéricamente obstruido que excluye las reacciones en los residuos carboxilo ya sea enterrados en las hélices o internamente en IFN-α. Por ejemplo, un reactivo tal podría ser un PEG de cadena ramificada de ~40 kd de peso molecular y su agente podría sintetizarse como sigue:

$OH_3C-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2NH_2$ + ácido glutámico i.e., $HOCO-CH_2CH_2CH(NH2)-COOH$ se condensa con un agente adecuado e.g., diciclohexil carbodiimida o EDC soluble en agua para proporcionar un agente PEG de cadena ramificada $OH_3C-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2NHCOCH(NH_2)CH_2OCH_3-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2NHCOCH_2$.



Este reactivo puede utilizarse en exceso para acoplar el grupo amino con el libre y flexible grupo carboxilo de IFN-α para formar el enlace péptido.

Si se desea, el IFN-α pegilado se separa del IFN-α no pegilado utilizando cualquier método conocido, incluyendo, pero sin limitarse a cromatografía de intercambio iónico,

cromatografía de exclusión por tamaño, y cualquier combinación de las mismas. Por ejemplo, cuando el conjugado PEG- IFN-α es un IFN-α monopegilado, los productos se separan primero mediante cromatografía de intercambio iónico para obtener material que tiene una carga característica del material monopegilado (pueden encontrarse presentes otros materiales monopegilados que tienen la misma carga aparente), y después los materiales monopegilados se separan utilizando cromatografía de exclusión por tamaño.

IFN-β

El término interferón-beta ("IFN-β") incluye polipéptidos IFN-β de origen natural, polipéptidos IFN-β de origen no natural; y análogos de IFN-β de origen natural o no natural que retienen la actividad antiviral de un IFN-β original de origen natural o no natural.

Puede suministrarse cualquiera de una variedad de beta interferones mediante el método de suministro continuo de la presente invención. Los beta interferones adecuados incluyen, pero no se limitan a, IFN-β de origen natural; IFN-β1a, e.g., Avonex® (Biogen, Inc.) y Rebif® /Serono, SA); IFN-β1b (Betaseron®; Berlex); y lo similar.

La formulación de IFN-β puede comprenden una especie N bloqueada, en donde el aminoácido de terminación N se acila con un grupo acilo, tal como un grupo formilo, un grupo acetilo, un grupo malonilo y lo similar. También es

adecuado para su uso un IFN-β de consenso.

Los polipéptidos IFN-β pueden producirse mediante cualquier método conocido. Las secuencias de ADN que codifican para IFN-β pueden sintetizarse utilizando métodos estándar. En muchas modalidades, los polipéptidos IFN-β son los productos de expresión de secuencias de ADN fabricadas transformadas o transfectadas en los huéspedes bacteriales, e.g., E. coli, o en células huésped eucarióticas (e.g., levadura; células de mamífero; tales como células CHO; y lo similar). En estas modalidades, el IFN-β es (IFN-β recombinante". Cuando la célula huésped es una célula huésped bacterial, el IFN-β se modifica para comprenden una metionina de terminación N.

Debe entenderse que el IFN-β como se describe en la presente puede comprender uno o más residuos aminoácido modificados, e.g., glicosilaciones, modificaciones químicas, y lo similar.

IFN-tau

El término interferón-tau incluye polipéptidos IFN-tau de origen natural, polipéptidos IFN-tau de origen no natural; y análogos de IFN-tau de origen natural o no natural que retienen la actividad antiviral de un IFN-tau original de origen natural o no natural.

Los interferones tau adecuados incluyen, pero no se limitan a IFN-tau de origen natural; Tauferon® (Pepgen

Corp.); y lo similar.

IFN-tau puede comprender una secuencia de aminoácidos como se define en cualquiera de los Nos. de Acceso GenBank P15696; P56828; P56832; P56829; P56831; Q29429; Q28595; Q28594; S08072; Q08071; Q08070; Q08053; P56830; P28169; P28172; y P28171. La secuencia de cualquier polipéptido IFN-tau conocido puede alterarse de diversas maneras conocidas en la técnica para generar cambios objetivo en la secuencia. Un polipéptido variante será comúnmente sustancialmente similar a las secuencias proporcionadas en la presente, i.e., diferirá por al menos un aminoácido, y puede diferir por al menos dos pero no más de aproximadamente diez aminoácidos. Los cambios en la secuencia pueden ser sustituciones, inserciones, o supresiones. Las sustituciones de aminoácido conservadoras incluyen típicamente sustituciones dentro de los siguientes grupos: (glicina, alanina); (valina, isoleucina, leucina); (ácido aspártico, ácido glutámico); (asparagina, glutamina); (serina, treonina); (lisina, arginina), o (fenilalanina, tirosina).

Las modificaciones de interés que pueden o no alterar la secuencia de aminoácidos primaria incluyen derivatización química de polipéptidos, e.g., acetilación o carboxilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que introducen o retiran un sitio de glicosilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que hacen a la proteína susceptible

a pegilación; y lo similar. También se incluyen modificaciones de glicosilación, e.g., aquellas hechas modificando los patrones de glicosilación de un polipéptido durante su síntesis y procesamiento o en etapas de procesamiento adicionales; e.g., exponiendo el polipéptido a enzimas que afectan la glicosilación, tales como enzimas de glicosilación de mamífero o de desglicosilación. También se contemplan secuencias que tienen residuos de aminoácido fosforilados, e.g., fosfotirosina, fosfoserina, o fosfotreonina.

La formulación de IFN-tau puede comprender una especie de bloqueo N, en donde el aminoácido de terminación N se acila con un grupo acilo, tal como un grupo formilo, un grupo acetilo, un grupo malonilo, y lo similar. También es aceptable para su uso un IFN-tau de consenso.

Los polipéptidos IFN-tau pueden producirse mediante cualquier método conocido. Las secuencias de ADN que codifican para IFN-tau pueden sintetizarse utilizando métodos estándar. En muchas modalidades, los polipéptidos IFN-tau son los productos de expresión de secuencias de ADN fabricadas transformadas o transfectadas en huéspedes bacteriales, e.g., E. coli, o en células huésped eucarióticas (e.g., levadura; células de mamífero, tales como células CHO; y lo similar). En estas modalidades, si el IFN-tau es "IFN-tau recombinante". Cuando la célula huésped es una célula

huésped bacterial, el IFN-tau se modifica para comprender una metionina de terminación N.

Debe entenderse que IFN-tau como se describe en la presente puede comprender uno o más residuos modificados, e.g., glicosilaciones, modificaciones químicas, y lo similar.

IFN-ω

El término interferón-omega ("IFN-ω") incluye polipéptido IFN-ω que son de origen natural; polipéptidos IFN-ω de origen no natural; y análogos de IFN-ω de origen natural o de origen no natural que retienen la actividad antiviral de un IFN-ω original de origen natural o de origen no natural.

Cualquier interferón omega conocido puede suministrarse mediante el método de suministro continuo de la presente invención. Los IFN-ω adecuados incluyen pero no se limitan a, IFN-ω de origen natural; IFN-ω recombinante, e.g., Biomed 510 (BioMedicines); y lo similar.

IFN-ω puede comprender una secuencia de aminoácidos como se define en el GenBank No. de Acceso NP_002168; o AAA70091. La secuencia de cualquier polipéptido IFN-ω conocido puede alterarse de diversas maneras conocidas en la técnica para generar cambios objetivo en la secuencia. Un polipéptido variante será sustancialmente similar a las secuencias proporcionadas en la presente, i.e., diferirá al menos en un aminoácido, y puede diferir en al menos dos pero

no más de diez aminoácidos. Los cambios en la secuencia pueden ser sustituciones, inserciones o supresiones. Las sustituciones de aminoácido conservadoras incluyen típicamente sustituciones dentro de los siguientes grupos: (glicina, alanina); (valina, isoleucina, leucina); (ácido aspártico, ácido glutámico); (asparagina, glutamina); (serina, treonina); (lisina, arginina), o (fenilalanina, tirosina).

Las modificaciones de interés que pueden o no alterar la secuencia de aminoácidos primaria incluyen derivatización química de polipéptidos, e.g., acetilación o carboxilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que introducen o retiran un sitio de glicosilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que hacen a la proteína susceptible a pegilación; y lo similar. También se incluyen modificaciones de glicosilación, e.g., aquellas hechas modificando los patrones de glicosilación de un polipéptido durante su síntesis y procesamiento o en etapas de procesamiento adicionales; e.g., exponiendo el polipéptido a enzimas que afectan la glicosilación, tales como enzimas de glicosilación de mamífero o de desglicosilación. También se contemplan secuencias que tienen residuos de aminoácido fosforilados, e.g., fosfotirosina, fosfoserina, o fosfotreonina.

La formulación de IFN-ω puede comprender una

especie de bloqueo N, en donde el aminoácido de terminación N se acila con un grupo acilo, tal como un grupo formilo, un grupo acetilo, un grupo malonilo, y lo similar. También es aceptable para su uso un IFN-ω de consenso.

Los polipéptidos IFN-ω pueden producirse mediante cualquier método conocido. Las secuencias de ADN que codifican para IFN-ω pueden sintetizarse utilizando métodos estándar. En muchas modalidades, los polipéptidos IFN-ω son los productos de expresión de secuencias de ADN fabricadas transformadas o transfectadas en huéspedes bacteriales, e.g., E. coli, o en células huésped eucarióticas (e.g., levadura; células de mamífero, tales como células CHO; y lo similar). En estas modalidades, si el IFN-ω es "IFN-ω recombinante". Cuando la célula huésped es una célula huésped bacterial, el IFN-ω se modifica para comprender una metionina de terminación N.

Debe entenderse que IFN-ω como se describe en la presente puede comprender uno o más residuos modificados, e.g., glicosilaciones, modificaciones químicas, y lo similar.

Agonistas del receptor de interferón Tipo III

En cualquiera de los métodos antes descritos, el agonista del receptor de interferón es en algunas modalidades, un agonista de un receptor de interferón Tipo III (e.g., "un agonista interferón Tipo III"). Los agonistas interferón Tipo III incluyen un polipéptido IL-28b; y un

polipéptido IL-28a; y un polipéptido IL-29; anticuerpo específico para un receptor de interferón Tipo III; y cualquier otro agonista de receptor de interferón Tipo III, incluyendo agonistas no polipéptido.

IL-28A, IL-28B e IL-29 (referidos colectivamente en la presente como "interferones Tipo III" o IFNs Tipo III) se describen en Sheppard et al., (2003) Nature 4:63-68. Cada polipéptido se enlaza a un receptor heterodimérico que consiste de cadena β del receptor IL-10 y α del receptor IL-28. Sheppard et al., (2003) supra. Las secuencias de aminoácidos de IL-28A, IL-28B e IL-29 se encuentran bajo los números de acceso GenBank NP_742150, NP_742151, y NP_742152, respectivamente.

La secuencia de aminoácidos de un polipéptido IFN Tipo III puede alterarse de diversas maneras conocidas en la técnica para generar cambios objetivo en la secuencia. Un polipéptido variante será comúnmente sustancialmente similar a las secuencias proporcionadas en la presente, i.e., diferirá por al menos un aminoácido, y puede diferir por al menos dos pero no más de aproximadamente diez aminoácidos. Los cambios en la secuencia pueden ser sustituciones, inserciones, o supresiones. Pueden utilizarse mutaciones de exploración que introducen sistemáticamente alanina, u otros residuos, para determinar aminoácidos clave. Las sustituciones de aminoácido específicas de interés incluyen

cambios conservadores y no conservadores. Las sustituciones de aminoácidos conservadoras incluyen típicamente sustituciones dentro de los siguientes grupos: (glicina, alanina); (valina, isoleucina, leucina); (ácido aspártico, ácido glutámico); (asparagina, glutamina); (serina, treonina); (lisina, arginina), o (fenilalanina, tirosina).

Las modificaciones de interés que pueden o no alterar la secuencia de aminoácidos primaria incluyen derivatización química de polipéptidos, e.g., acetilación o carboxilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que introducen o retiran un sitio de glicosilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que hacen a la proteína susceptible a pegilación; y lo similar. También se incluyen modificaciones de glicosilación, e.g., aquellas hechas modificando los patrones de glicosilación de un polipéptido durante su síntesis y procesamiento o en etapas de procesamiento adicionales; e.g., exponiendo el polipéptido a enzimas que afectan la glicosilación, tales como enzimas de glicosilación de mamífero o de desglicosilación. También se contemplan secuencias que tienen residuos de aminoácido fosforilados, e.g., fosfotirosina, fosfoserina, o fosfotreonina.

Se encuentran incluidos en la invención sujeto polipéptidos que se han modificado utilizando técnicas químicas ordinarias a fin de mejorar su resistencia a la

degradación proteolítica, para optimizar las propiedades de solubilidad, o para hacerlos más adecuados como agente terapéutico. Para ejemplos, la estructura del péptido puede ciclarse para mejorar la estabilidad (ver Friedler et al., (2000) J. Biol. Chem., 275:23783-23789). Pueden utilizarse análogos que incluyen residuos diferentes a los aminoácidos L de origen natural, e.g., aminoácidos D o aminoácidos sintéticos de origen no natural. La proteína puede pegilarse para mejorar la estabilidad. Los polipéptidos pueden fusionarse a albúmina.

Los polipéptidos pueden prepararse mediante síntesis in vitro, utilizando métodos convencionales conocidos en la técnica, mediante métodos recombinantes, o pueden aislarse de células inducidas o que producen naturalmente la proteína. La secuencia particular y la manera de preparación se determinará por conveniencia, economía, pureza requerida y lo similar. Si se desea, pueden introducirse diversos grupos en el polipéptido durante la síntesis o durante la expresión, que permiten el enlace a otras moléculas o a una superficie. Por tanto, pueden utilizarse cisteínas para elaborar tioéteres, histidinas para enlace a un complejo de ion de metal, grupos carboxílicos para formar amidas o ésteres, grupos amino para formar amidas, y lo similar.

Agonistas del receptor de interferón Tipo II

Los agonistas del receptor de interferón Tipo II incluyen cualquier ligante de origen natural o de origen no natural de un receptor de interferón humano Tipo II que se enlaza a y ocasiona transducción de señal a través del receptor. Los agonistas del receptor de interferón Tipo II incluyen interferones, incluyendo interferones de origen natural, interferones modificados, interferones sintéticos, interferones pegilados, proteínas de fusión que comprenden un interferón y una proteína heteróloga, interferones de evasión; anticuerpo específico para un receptor de interferón; agonistas químicos no péptido; y lo similar.

Un ejemplo específico de agonista del receptor de interferón Tipo II es IFN-γ y sus variantes. Aunque la presente invención ejemplifica el uso de un polipéptido IFN-γ, será fácilmente aparente que puede utilizarse cualquier agonista del receptor de interferón Tipo II en un método sujeto.

Interferón gama

Puede accederse a las secuencias de ácido nucleico que codifican para polipéptidos IFN-γ a partir de bases de datos públicas, e.g., Genbank, publicaciones periódicas, etc. aunque son de interés diversos polipéptidos IFN-γ de mamífero para el tratamiento de enfermedades humanas, se utilizará generalmente la proteína humana. La secuencia humana de codificación de IFN-γ puede encontrarse en los números de

acceso del GenBank X13274; V00543; y NM_000619. La secuencia genómica correspondiente puede encontrarse en los números de acceso del GenBank J00219; M37265 y V00536. Ver, por ejemplo, Gray et al., (1982) Nature 295:501 (Genbank X13274); y Rinderknecht et al., (1984) J. B. C. 259:6790.

El IFN-γ1b (Actimmune®, interferón humano) es un polipéptido monocatenario de 140 aminoácidos. Se elabora de manera recombinante en E. coli y se encuentra no glicosilado. Rinderknecht et al., (1984) J. Biol. Chem. 259:6790-6797. El IFN-γ recombinante, como se trata en la Patente de E. U. No. 6,497,871 también es adecuado para su uso en la presente.

El IFN-γ que se utiliza en los métodos de la presente invención pueden ser cualquier IFN-γ natural, IFN-γ recombinante y sus derivados mientras que tengan una actividad de IFN-γ, particularmente una actividad de IFN-γ humano. El IFN-γ humano exhibe las propiedades antivirales y anti proliferativas características de los interferones, así como un número de otras actividades inmunomoduladoras, como se conoce en la técnica. aunque IFN-γ se basa en las secuencias proporcionadas anteriormente, la producción de la proteína y el proceso proteolítico puede dar como resultado sus variantes de procesamiento. La secuencia no procesada proporcionada por Gray et al., supra, consiste de 166 aminoácidos (aa). Aunque se creyó originalmente que el IFN-γ recombinante producido en E. coli era de 146 aminoácidos,

(iniciando en el aminoácido 20), se encontró subsecuentemente que el IFN-γ humano natural se divide después del residuo 23 para producir una proteína 143 aa, o 144 aa si la metionina de terminación se encuentra presente, como se requiere para la expresión en bacterias. Durante la purificación, la proteína madura puede dividirse adicionalmente en la terminación C después del residuo 162 (refiriéndose a la secuencia de Gray et al), dando como resultado una proteína de 139 aminoácidos o a140 aminoácidos si se encuentra presente la metionina inicial, e.g., si se requiere para la expresión en bacterias. La metionina de terminación N es un artefacto codificado por la señal AUG del ARNm de translación "inicio" que, en el caso particular de la expresión en E. coli,. No se procesa. En otros sistemas microbiales o sistemas de expresión eucarióticos, puede retirarse la metionina.

Para su uso en los métodos sujeto, puede utilizarse cualquier péptido de IFN-γ natural, sus modificaciones y variantes, o una combinación de uno o más péptidos. Los péptidos IFN-γ de interés incluyen fragmentos y pueden truncarse de varias maneras en la terminación carboxilo relativo a la secuencia completa. Tales fragmentos continúan exhibiendo las propiedades características del interferón gama humano, mientras que se encuentren presentes los aminoácidos 24 hasta aproximadamente 149 (numeración de los

residuos del polipéptido no procesado). Las secuencias extrañas pueden sustituirse por la secuencia de aminoácidos siguiente al aminoácido 155 sin pérdida de actividad. Ver, por ejemplo, Patente de E.U. No. 5,690,925. Los residuos de IFN-γ natural incluyen moléculas que se extienden variadamente desde los residuos de aminoácido 24-150; 24-151; 24-152; 24-153, 24-155; y 24-157. Puede utilizarse en los métodos presentes cualquiera de estas variantes y otras variantes conocidas en la técnica y que tienen una actividad de IFN-γ.

La secuencia de un polipéptido IFN-γ puede alterarse de diversas maneras conocidas en la técnica para generar cambios objetivo en la secuencia. Un polipéptido variante será comúnmente sustancialmente similar a las secuencias proporcionadas en la presente, i.e., diferirá por al menos un aminoácido, y puede diferir por al menos dos pero no más de aproximadamente diez aminoácidos. Los cambios en la secuencia pueden ser sustituciones, inserciones, o supresiones. Pueden utilizarse mutaciones de exploración que introducen sistemáticamente alanina, u otros residuos, para determinar aminoácidos clave. Las sustituciones de aminoácido específicas de interés incluyen cambios conservadores y no conservadores. Las sustituciones de aminoácidos conservadoras incluyen típicamente sustituciones dentro de los siguientes grupos: (glicina, alanina); (valina,

isoleucina, leucina); (ácido aspártico, ácido glutámico); (asparagina, glutamina); (serina, treonina); (lisina, arginina), o (fenilalanina, tirosina).

Las modificaciones de interés que pueden o no alterar la secuencia de aminoácidos primaria incluyen derivatización química de polipéptidos, e.g., acetilación o carboxilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que introducen o retiran un sitio de glicosilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que hacen a la proteína susceptible a pegilación; y lo similar. En una modalidad, la invención contempla el uso de variantes de IFN-γ con uno o más sitios de origen no natural de glicosilación y/o pegilación que se fabrican para proporcionar polipéptidos derivatizados con glicosil y/o PEG con despeje en suero reducido tales como las variantes del polipéptido IFN-γ descritas en la Publicación Internacional de Patente No. WO 01/36001. También se incluyen modificaciones de glicosilación, e.g., aquellas hechas modificando los patrones de glicosilación de un polipéptido durante su síntesis y procesamiento o en etapas de procesamiento adicionales; e.g., exponiendo el polipéptido a enzimas que afectan la glicosilación, tales como enzimas de glicosilación de mamífero o de desglicosilación. También se contemplan secuencias que tienen residuos de aminoácido fosforilados, e.g., fosfotirosina, fosfoserina, o fosfotreonina.

101

Se encuentran incluidos en la invención sujeto polipéptidos que se han modificado utilizando técnicas químicas ordinarias a fin de mejorar su resistencia a la degradación proteolítica, para optimizar las propiedades de solubilidad, o para hacerlos más adecuados como agente terapéutico. Para ejemplos, la estructura del péptido puede ciclarse para mejorar la estabilidad (ver Friedler et al., (2000) J. Biol. Chem., 275:23783-23789). Pueden utilizarse análogos que incluyen residuos diferentes a los aminoácidos L de origen natural, e.g., aminoácidos D o aminoácidos sintéticos de origen no natural. La proteína puede pegilarse para mejorar la estabilidad.

Los polipéptidos pueden prepararse mediante síntesis in vitro, utilizando métodos convencionales conocidos en la técnica, mediante métodos recombinantes, o pueden aislarse de células inducidas o que producen naturalmente la proteína. La secuencia particular y la manera de preparación se determinará por conveniencia, economía, pureza requerida y lo similar. Si se desea, pueden introducirse diversos grupos en el polipéptido durante la síntesis o durante la expresión, que permiten el enlace a otras moléculas o a una superficie. Por tanto, pueden utilizarse cisteínas para elaborar tioéteres, histidinas para enlace a un complejo de ion de metal, grupos carboxílicos para formar amidas o ésteres, grupos amino para formar

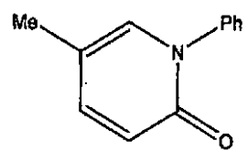
amidas, y lo similar.

Los polipéptidos también pueden aislarse y purificarse de acuerdo con métodos convencionales de síntesis recombinantes. Puede prepararse un lisato del huésped de expresión y purificar el lisato utilizando HPLC, cromatografía de exclusión de tamaño, electroforesis de gel, cromatografía de afinidad; u otra técnica de purificación. En mayor medida, las composiciones utilizadas comprenderán al menos 20% por peso del producto deseado, más comúnmente al menos aproximadamente 75% por peso, preferentemente comúnmente al menos aproximadamente 95% por peso, y para propósitos terapéuticos, comúnmente al menos aproximadamente 99.5% por peso en relación con los contaminantes relacionados al método de preparación del producto y su purificación. Comúnmente, los porcentajes se basarán en el total de proteína.

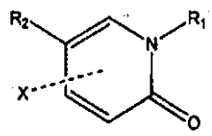
Pirfenidona y sus Análogos

Se describe pirfenidona (5-metil-1-fenil-2-(1H)-piridona) y análogos de pirfenidona específicos para el tratamiento de condiciones fibróticas. Una "condición fibrótica" es una dócil al tratamiento mediante la administración de un compuesto que tiene actividad anti-fibrótica.

Pirfenidona

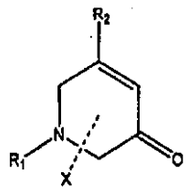


Análogos de pirfenidona

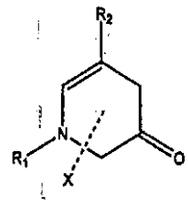


I

II.A



II.B



Descripciones para Sustituyentes R_1, R_2, X

R_1: carbocíclico (saturado e insaturado), heterocíclico (saturado o insaturado), alquilos (saturados e insaturados). Los ejemplos incluyen fenilo, bencilo, pirimidilo, naftilo, indolilo, pirrolilo, furilo, tienilo, imidazolilo, ciclohexilo, piperidilo, pirrolidilo, morfolinilo, ciclohexenilo, butadienilo y lo similar.

R_1 puede incluir además sustituciones en los residuos carbocíclico o heterocíclico con sustituyentes tales como halógeno, nitro, amino, hidroxilo, alcoxi, carboxilo,

ciano, tio, alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo y sus combinaciones, por ejemplo, 4-nitrofenilo, 3-clorofenilo, 2,5-dinitrofenilo, 4-metoxifenilo, 5-metil-pirrolilo, 2,5-diclorociclohexilo, guanidil-ciclohexenilo y lo similar.

R_2: alquilo, carbocíclico, arilo, heterocíclico. Los ejemplos incluyen: metil, etilo, propilo, isopropilo, fenilo, 4-nitrofenilo, tienilo y lo similar.

X: puede ser cualquier número (de 1 a 3) de sustituyentes en el anillo carbocíclico o heterocíclico. Los sustituyentes pueden ser el mismo o diferente. Los sustituyentes pueden incluir hidrógeno, alquilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, halo, nitro, carboxilo, hidroxilo, ciano, amino, tio, alquilamino, haloarilo y lo similar.

Los sustituyentes pueden sustituirse opcionalmente además con 1-3 sustituyentes del grupo que consiste de grupos alquilo, arilo, nitro, alcoxi, hidroxilo, y halo. Los ejemplos incluyen: metilo, 2,3-dimetilo, fenilo, p-tolilo, 4-cloroenilo, 4-nitrofenilo, 2,5-diclorofenilo, furilo, tienilo y lo similar.

Ejemplos específicos incluyen los compuestos listados en la Tabla 1:

Tabla 1

IA	**IIB**
5-metil-1-(2'piridil)-2-(1H)piridina,	6-metil-1-fenil-3-(1H)piridona,

6-metil-1-fenil-2-(1H)piridona,	5-metil-1-p-tolil-3-(1H)piridona,
5-metil-3-fenil-1-(2'-tienil)-2-(1H)piridona,	5-metil-1-(2'naftil)-3-(1H)piridona,
5-metil-1-(2'naftil)-2-(1H)piridona,	5-metil-1-fenil-3-(1H)piridona,
5-metil-1-p-tolil-2-(1H)piridona,	5-metil-1-(5'-quinolil)-3-(1H)piridona,
5-metil-1-(1'naftil)-2-(1H)piridona,	5-etil-1-fenil-3-(1H)piridona,
5-etil-1-fenil2-(1H)piridona,	5-metil-1-(4'metoxifenil)-3-(1H)-piridona,
5-metil-1-(5'-quinolil)-2-(1H)piridona,	4-metil-1-fenil-3-(1H)piridona,
5-metil-1-(4'-quinilil)-2-(1H)piridona,	5-metil-1-(3'-piridil)-3-(1H)piridona,
5-metil-1-(4'-piridil)-2-(1H)piridona,	5-metil-1-(2'-tienil)-3-(1H)piridona,
3-metil-1-fenil-2-(1H)piridona,	5-metil-1-(2'-piridil)-3-(1H)piridona,
5-metil-1-(4'-metoxifenil)-2-(1H)piridona,	5-metil-1-(2'-quinolil)-3-(1H)piridona,
1-fenil-2-(1H)piridona	1-fenil-3-(1H)piridina,
1,3-difenil-2-(1H)piridona,	1-(2'-furil)-5-metil-3-(1H)piridona,
1,3-difenil-5-metil-2-(1H)-piridona,	1-(4'-clorofenil)-5-metil-3-(1H)piridina,
5-metil-1-(3'-trifluorometilfenil)-2-(1H)piridona,	
3-etil-1-fenil-2-(1H)piridona,	
5-metil-1-(3'piridil)-2-(1H)piridona,	
5-metil-1-(3-nitrofenil-2-(1H)piridona	
3-(4'-clorofenil)-5-metil-1-fenil-2-(1H)piridona,	
5-metil-1(2'-tienil)-2-(1H)piridona,	
5-metil-1-(2'.tiazolil)-2-(1H)piridona,	
3,6-Dimetil-1-fenil-2-(1H)piridona,	
1-(4'clorofenil)-5-metil-2-(1H)piridona,	
1-(2'-imidazolil)-5-metil-2-(1H)piridona,	
1-(4'-nitrofenil)-2-(1H)piridona,	
1-(2'-furil)-5-metil-2-(1H)piridona,	
1-fenil-3-(4'clorofenil)-2-(1H)piridina.	

Las Pat. de E.U. Nos. 3,974,281; 3,839,346; 4,042,699; 4,052,509; 5,310,562; 5,518,729; 5,716,632; y

6,090,822 describen métodos para la síntesis y formulación de pirfenidona y análogos de pirfenidona específicos en composiciones farmacéuticas adecuadas para su uso en los métodos de la presente invención.

Thymosin-α (Zadaxin™; disponible de SciClone Pharmaceuticals, Inc., San Mateo, CA) es una forma sintética de timosina alfa 1, una hormona encontrada naturalmente en la circulación y producida por la glándula timo. Thymosin-α incrementa la actividad de las células T y las células NK. Zadaxin™ formulado para inyección subcutánea es una preparación liofilizada estéril purificada de timosina alfa 1 químicamente sintetizada idéntica a la timosina alfa 1 humana. Timosina alfa 1 es un polipéptido acetilado con la siguiente secuencia: Ac-Ser-Asp-Ala-Ala-Val-Asp-Thr-Ser-Ser-Glu-Ile-Thr-Thr-Lys-Asp-Leu-Lys-Glu-Lys-Lys-Glu-Val-Val-Glu-Glu-Ala-Glu-Asn-OH, y que tiene un peso molecular de 3,108 daltons. La preparación liofilizada contiene 1.6 mg de timosina-α sintética, 50 mg de manitol, y amortiguador de fosfato de sodio para ajustar el pH a 6.8.

Ribavirina

Ribavirina, 1-β-D-ribofuranosil-1H-1,2,4-triazolo-3-carboxamida, es un análogo nucleósido disponible de ICN Pharmaceuticals, Inc., Costa Mesa, Calif., y se describe en el Merck Index, compuesto No. 8199, Décima primera edición. Su fabricación y formulación se describe en la Pat. de E.U.

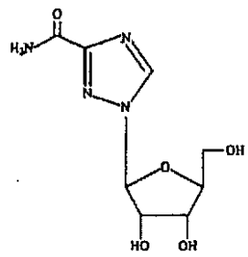
No. 4,211,771. La invención contempla también el uso de derivados de ribavirina (ver, e.g., Pat. de E.U. No. 6,277,830). La ribavirina puede administrarse oralmente en forma de cápsula o tableta. Por supuesto, se contemplan otros tipos de administración de ribavirina, según se encuentren disponibles, tales como rocío nasal, transdérmicamente, por supositorio, por una forma de dosis de liberación sostenida, etc. Cualquier forma de administración funcionará mientras que se suministren las dosis apropiadas sin destruir el ingrediente activo.

Ribavirina se administra generalmente en una cantidad que fluctúa de aproximadamente 400 mg hasta aproximadamente 1200 mg, de aproximadamente 600 mg a aproximadamente 1000 mg, o de aproximadamente 700 a aproximadamente 900 mg al día. En algunas modalidades, ribavirina se administra durante todo el curso de la terapia con inhibidor NS3.

Levovirina

Levovirina es el L-enantiómero de ribavirina, y exhibe la propiedad de mejorar la respuesta inmune de Th1 sobre la respuesta inmune de Th2. Levovirina se fabrica por ICN Pharmaceuticals.

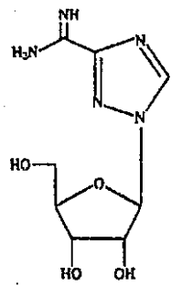
Levovirina tiene la siguiente estructura:



Viramidina

Viramidina es un derivado de 3-carboxamidina de ribavirina, y actúa como una prodroga de ribavirina. Se convierte eficientemente en ribavirina mediante adenosinas deaminasas.

Viramidina tiene la siguiente estructura:



Análogos de nucleósido

Los análogos de nucleósido adecuados para su uso en una terapia de combinación sujeto incluyen, pero no se limitan a, ribavirina, levovirina, viramidina, isatoribina, un nucleósido de L-ribofuranosil descrito en la Patente de E.U. No. 5,559,101 y abarcado por la Fórmula I de la Patente de E.U. No. 5,559,101 (e.g., 1-β-L-ribofuranosiluracilo, 1-β-L-ribofuranosil-5-fluoroacilo, 1-β-L-ribofuranosilcitosina, 9-β-L-ribofuranosiladenina, 9-β-L-ribofuranosilhipoxantina,

9-β-L-ribofuranosilguanidina, 9-β-L-ribofuranosil-6-tioguanina, 2-amino-α-L-ribofuranl[1'. 2':4,5]oxazolina, O^2O^2-anhidro-1-α-L-ribofuranosiluracilo, 1-α-L-ribofuranosiluracilo, 1-(2,3,5-tri-O-benzoil-α-ribofuranosil)-4-tiouracilo, 1-α-L-ribofuranosil-5-fluoroacilo, 2-amino-β-arabinofurano[1',2':4,5]oxazolina, O^2O^2-anhidro-β-L_arabinofuranosiluracilo, 2'-deoxi-β-L-uridina, 3'5'-Di-O-benzoil-4-tio-β-L-uridina, 2'-deoxi-β-L-citidina, 2'-deoxi-β-L-4-tiouridina, 2'-deoxi-β-L-timidina, 2'-deoxi-β-L-5-fluorouridina, 2'3'-dideoxi-β-L-uridina, 2'-deoxi-β-L-5-fluorouridina, y 2'-deoxi-β-L-inosina): un compuesto descrito en la Patente de E.U. No. 6,423,695 y abarcado por la Fórmula I de la Patente de E.U. No. 6,423,695; un compuesto descrito en la Publicación de Patente de E.U. No. 2002/0058635, y abarcado por la fórmula 1 de la Publicación de Patente de E.U. No. 2002/0058635; un análogo de nucleósido descrito en la WO 01/90121 A2 (Idenix); un análogo de nucleósido descrito en la WO 02/069903 A2 (Biocryst Pharmaceuticals Inc.); un análogo de nucleósido descrito en la WO 02/057287 A2 o WO 02/057425 A2 (ambos de Merck/Isis); y lo similar.

Antagonistas TNF

En algunas modalidades, el método sujeto comprende administrar una cantidad efectiva de un inhibidor NS3 y una cantidad efectiva de un antagonista de necrosis de tumor

factor-α (TNF-α). Los antagonistas TNF-α adecuados para su uso en la presente incluyen agentes que disminuyen el nivel de síntesis de TNF-α, agentes que bloquean o inhiben el enlace de TNF-α a un receptor TNF-α (TNFR), y agentes que bloquean o inhiben la transducción de señal mediada por TNFR. A menos que se defina expresamente de otra manera, toda referencia a un "antagonista TNF-α" o "antagonista TNF" en la presente, se entenderá que significa un antagonista TNF-α diferente de pirfenidona o un análogo de pirfenidona.

Como se utilizan en la presente, los términos "polipéptido receptor de TNF" y polipéptido TNF" se refieren a polipéptidos derivados de TNFR (de cualquier especie) que son capaces de enlazarse a TNF. Se han descrito dos TNFRs distintos de superficie celular: TNFR Tipo II (o TNFR p75 o TNFRII) y TNFR Tipo I (o TNFR p55 o TNFRI). El TNFR p75 humano maduro de longitud total es una glicoproteína que tiene un peso molecular de aproximadamente 75-80 kilodaltons (kD). El TNFR p55 humano maduro de longitud total es una glicoproteína que tiene un peso molecular de aproximadamente 55-60 kD. Los polipéptidos TNFR ejemplares se derivan de TNFR Tipo I y/o de TNFR Tipo II. El TNFR soluble incluye polipéptido TNFR p75; fusiones de TNFR p75 con socios de fusión heterólogos, e.g., la porción Fc de una inmunoglobulina.

El polipéptido TNFR puede ser un TNFR intacto o un

fragmento adecuado de TNFR. La Pat. de E.U. No. 5,605,690 proporciona ejemplos de polipéptidos TNFR, incluyendo polipéptidos TNFR solubles, apropiados para su uso en la presente invención. En muchas modalidades, el polipéptido TNFR comprende un dominio extracelular de TNFR. En algunas modalidades, el polipéptido TNFR es un polipéptido de fusión que comprende un dominio extracelular de TNFR enlazado a un dominio constante de una molécula de inmunoglobulina. En otras modalidades, el polipéptido TNFR es un polipéptido de fusión que comprende un dominio extracelular del TNFR p75 enlazado a un dominio constante de una molécula de IgG1. En algunas modalidades, cuando se contempla la administración a humanos, el Ig utilizado para proteínas de fusión es humano, e.g., IgG1 humano.

Pueden utilizarse en la presente invención formas monovalentes y multivalentes de polipéptidos TNFR. Las formas multivalentes de polipéptidos TNFR poseen más de un sitio de enlace de TNFR. En algunas modalidades, el TNFR es una forma bivalente o dimérica de TNFR. Por ejemplo, como se describe en la Pat. de E.U. No. 5,605,690 y en Mohler et al., 1993, J. Immunol., 151:1548-1561, un polipéptido de anticuerpo quimérico con dominios extracelulares de TNFR sustituidos por los dominios variables de cualquiera o ambas cadenas pesada o ligera de inmunoglobulina, proporcionaría un polipéptido TNFR para la presente invención. Generalmente,

cuando tal polipéptido quimérico de TNFR:anticuerpo se produce por células, forma una molécula bivalente a través de enlaces disulfuro entre los dominios de inmunoglobulina. Tal polipéptido quimérico de TNFR:anticuerpo se refiere como TNFR:Fc.

En una modalidad, un método sujeto implica la administración de una cantidad efectiva de el TNFR soluble ENBREL®. ENBREL® es una proteína dimérica de fusión que consiste de la porción extracelular de ligante:enlace del TNFR humano de 75 kilodaltons (p75) enlazado a la porción Fc de IgG1 humana. El componente Fc de ENBREL® contiene el dominio CH2, el dominio CH3 y la región de articulación, pero no el dominio CH1 de IgG1. ENBREL® se produce en un sistema de expresión de células de mamífero de ovario de hámster Chino (CHO). Este consiste de 934 aminoácidos y tiene un peso molecular aparente de aproximadamente 150 kilodaltons. Smith et al., (1990) Science 248:1019-1023; Mohler et al., (1993) J. Immunol. 151:1548-1561; Pat. de E.U. No. 5,395,760; y la Pat. de E.U. No. 5,605,690.

También adecuados para su uso son los anticuerpos que se enlazan a TNF-α. Los anticuerpos monoclonales incluyen anticuerpos de ratón "humanizados"; anticuerpos quiméricos; anticuerpos monoclonales que son al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95% o 100% humanos en la secuencia de

aminoácidos; y lo similar. Ver, e.g., WO 90/10077; WO 90/04036; y WO 92/02190. Los anticuerpos monoclonales adecuados incluyen fragmentos de anticuerpo, tales como Fv, F(ab')2 y Fab; anticuerpos sintéticos; anticuerpos artificiales; anticuerpos de imagen fago; y lo similar.

Ejemplos de anticuerpos monoclonales adecuados incluyen Inflixmab (REMICADE®, Centocor); y Adalimumab (HUMIRA™, Abbott). REMICADE® es un anticuerpo anti-TNF-α monoclonal quimérico que incluye aproximadamente 25% de la secuencia de aminoácidos de ratón y aproximadamente 75% de la secuencia de aminoácidos humana. REMICADE® comprende una región variable de un anticuerpo anti-TNF-α monoclonal de ratón fusionado a la región constante de una IgG1 humana. Elliot et al., (1993) Arthritis Rheum. 36:1681-1690; Elliott et al., (1994) Lancet 344:1105-1110; Baert et al., (1999) Gastroenterology 116:22-28. HUMIRA™ es un anticuerpo monoclonal de IgG1 humano de longitud total que se identificó utilizando tecnología de imagen fago. Piascik (2203) J. Am. Pharm. Assoc. 43:327-328.

También se incluyen en el término "antagonista TNF", y por tanto adecuados para su uso en el método sujeto, inhibidores de proteína quinasa activados por tensión (SAPK). Los inhibidores SAPK se conocen en la técnica, e incluyen, pero no se limitan a 2-alquil imidazolos descritos en la Patente de E.U. No. 6,548,520; compuestos de imidazolo 1,4,5-

sustituidos descritos en la Patente de E.U. No. 6,489,325; compuestos de imidazolo 1,4,5-sustituidos descritos en la Patente de E.U. No. 6,569,871; compuestos de heteroarilo aminofenilo cetona descritos en la Solicitud de Patente de E.U. Publicada No. 2003/0073832; compuestos de piridil imidazolo descritos en la Patente de E.U. No. 6,288,089; y heteroaril aminobenzofenonas descritas en la Patente de E.U. No. 6,432,962. También son de interés los compuestos descritos en la Publicación de Solicitud de Patente de E.U. No. 2003/0149041; y la Patente de E.U. No. 6,214,854. Una proteína quinasa activada por tensión es un miembro de una familia de proteínas quinasa activadas por mitógeno que se activan en respuesta al estímulo de tensión. SAPK incluye, pero no se limita a p38 (Lee et al., (1994) Nature 372:739) y quinasa c-jun de terminación N (JNK).

Los métodos para evaluar la actividad antagonista de TNF se conocen en la técnica y se ejemplifican en la presente. Por ejemplo, la actividad antagonista de TNF puede evaluarse con un análisis de enlace competitivo en base a célula. En tal análisis, TNF radio marcado se mezcla con antagonista TNF diluido de manera serial y células que expresan TNFR enlazado por membrana celular. Las porciones de la suspensión se centrifugan para separar TNF libre y enlazado y se determina la cantidad de radioactividad en las fracciones libres y enlazadas. La actividad antagonista de

TNF se evalúa por inhibición del enlace de TNF a las células en presencia del antagonista TNF.

Como otro ejemplo, los antagonistas TNF pueden analizarse por la capacidad de neutralizar la actividad de TNF en vitro en un bioanálisis utilizando células susceptibles a la actividad citotóxica de TNF como células objetivo. En tal análisis, las células objetivo, cultivadas con TNF, se tratan con cantidades variables de antagonista TNF y subsecuentemente se examinan por citolisis. La actividad antagonista de TNF se evalúa por una disminución en la citolisis de la célula objetivo inducida por TNF en presencia del antagonista TNF.

Inhibidores NS5B

En algunas modalidades, la invención proporciona un método que comprende administrar una cantidad efectiva de un inhibidor NS3 sujeto y una cantidad efectiva de un inhibidor de proteína-5 HCV no estructural (NS5; ARN polimerasa dependiente de ARN) a un paciente de HCV que lo necesita. Los inhibidores NS5B adecuados incluyen, pero no se limitan a, un compuesto descrito en la Patente de E.U. No. 6,479,508 (Boehringer-Ingelheim); un compuesto descrito en cualquiera de las Solicitudes Internacionales de Patente Nos. PCT/CA02/01127, PCT(CA02/01128, y PCT/CA02/'1129, todas presentadas en Julio 18, 2002 por Boehringer Ingelheim; un compuesto descrito en la Patente de E.U. No. 6,440,985

(ViroPharma); un compuesto descrito en la WO 01/47883, e.g., JTK-003 (Japan Tobacco); un análogo dinucleótido descrito en Zhong et al., (2003) Antimicrob. Agents Chemother. 47:2674-2681; un compuesto de benzotiadiazina descrito en Dhanak et al., (2002) J. Biol. Chem. 277(41):38322-7; un inhibidor NS5B descrito en WO 02/100846 A1 o WO 02/100851 A2 (ambas Shire); un inhibidor NS5B descrito en la WO 01/85172 A1 o WO 02/098424 A1 (ambas Glaxo SmithKline); un inhibidor ND5B descrito en la WO 03/000254 (Japan Tobacco); un inhibidor NS5B descrito en la EP 1 256,628 A2 (Agouron); JTK-002 (Japan Tobacco); JTK-109 (Japan Tobacco), y lo similar.

De particular interés en muchas modalidades son los inhibidores ND5 que son inhibidores específicos de NS5, e.g., inhibidores NS5 que inhiben la ARN polimerasa dependiente de ARN NS5 y que carecen de efectos inhibidores significativos hacia otras ARN polimerasas dependientes de ARN y hacia ARN polimerasas dependientes de ADN.

Agentes antivirales adicionales

Los agentes antivirales terapéuticos adicionales que pueden administrarse en combinación con un compuesto inhibidor NS3 sujeto, incluyen pero no se limitan a, inhibidores de inosina monofosfato dehidrogenasa (IMPDH); ribozimas que son complementarias a secuencias de nucleótido virales; inhibidores de ARN de antisentido; y lo similar.

Inhibidores IMPDH

Los inhibidores IMPDH adecuados para su uso en una terapia de combinación sujeto incluyen, pero no se limitan a, VX-497 ácido ((S)-N-3-[3-(3-metoxi-4-oxazol-5-il-fenil)-ureido]-bencil]-carbámico tetrahidrofuran-3-il-éster); Vertex Pharmaceuticals; ver, e.g., Markland et al., (2000) Antimicrob. Agents Chemother. 44:859-866); ribavirina; levovirina (Ribapharm; ver, e.g., Watson (2002) Curr Opin Investig Drugs 3(5):680-3); viramidina (Ribapharm); y lo similar.

Ribozima y Antisentido

Los agentes de ribozima y de antisentido adecuados para su uso en una terapia de combinación sujeto incluyen, pero no se limitan a, ISIS 14803 (ISIS Pharmaceuticals/Elan Corporation; ver, e.g., Witherell (2001) Curr Opin Investig Drugs 2(11):1523-9); Heptazyme™ y lo similar.

En algunas modalidades, se administra un agente antiviral adicional durante el curso completo del tratamiento con compuesto inhibidor NS3. En otras modalidades, se administra un agente antiviral adicional durante un período de tiempo que se sobrepone con el del tratamiento con compuesto inhibidor NS3, e.g., el tratamiento con agente antiviral adicional puede iniciar antes de iniciar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3 y terminar antes de terminar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3; el tratamiento con agente antiviral adicional puede iniciar

después de iniciar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3 y terminar después de terminar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3; el tratamiento con agente antiviral adicional puede iniciar después de iniciar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3 y terminar antes de terminar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3; o el tratamiento con agente antiviral adicional puede iniciar antes de iniciar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3 y terminar después de terminar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3.

DOSIS, FORMULACIONES, Y VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

En los métodos sujeto, el(los) agente(s) activo(s) (e.g., el compuesto de la fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales) puede(n) administrarse al huésped utilizando cualquier medio conveniente capaz de dar como resultado el efecto terapéutico deseado. Por tanto, el agente puede incorporarse en una variedad de formulaciones para administración terapéutica. Más particularmente, los agentes de la presente invención pueden formularse en composiciones farmacéuticas mediante combinación con vehículos o diluyentes apropiados farmacéuticamente aceptables, y pueden formularse en preparaciones en formas sólidas, semi-sólidas, líquidas o gaseosas, tales como tabletas, cápsulas, polvos, ungüentos, soluciones, supositorios, inyecciones, inhaladores y aerosoles.

Formulaciones

El(los) agente(s) antes tratado(s) puede(n) formularse utilizando reactivos y métodos muy conocidos. Las composiciones se proporcionan en formulación con excipiente(s) farmacéuticamente aceptable(s). Se conoce en la técnica una amplia variedad de excipientes farmacéuticamente aceptables y no necesitan tratarse en detalle en la presente. Los excipientes farmacéuticamente aceptables se han descrito ampliamente en una diversidad de publicaciones, incluyendo, por ejemplo, A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20ª edición, Lippincott, Williams & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H. C. Ansel et al., eds., 7ª ed., Lippincott, Williams & Wilkins; y Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe et al., eds., 3ª ed., Amer. Pharmaceutical Assoc.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como vehículos, adyuvantes, portadores o diluyentes, se encuentran fácilmente disponibles al público. Además, se encuentran fácilmente disponibles al público sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables, tales como agentes de ajuste de pH y amortiguadores, agentes de ajuste de tonicidad, estabilizadores, agentes humectantes y lo similar.

En algunas modalidades, el agente se formula en amortiguador acuoso. Los amortiguadores acuosos adecuados incluyen, pero no se limitan a, amortiguadores de acetato,

succinato, citrato y fosfato variando en resistencias de 5 mM a 100 mM. En algunas modalidades, el amortiguador acuoso incluye reactivos que proporcionan una solución isotónica. Tales reactivos incluyen, pero no se limitan a, cloruro de sodio; y azúcares e.g., manitol, dextrosa, sucrosa, y lo similar. En algunas modalidades, el amortiguador acuoso incluye además un surfactante no iónico tal como polisorbato 20 o 80. Opcionalmente, las formulaciones pueden incluir además un preservativo. Los preservativos adecuados incluyen, pero no se limitan a, un alcohol bencílico, fenol, clorobutanol, cloruro de benzalconio, y lo similar. En muchos casos, la formulación se almacena a aproximadamente 4°C. Las formulaciones también pueden liofilizarse, en cuyo caso incluyen generalmente crioprotectores tales como sucrosa, trehalosa, lactosa, maltosa, manitol, y lo similar. Las formulaciones liofilizadas pueden almacenarse durante extensos períodos de tiempo, incluso a temperaturas ambiente.

Como tal, la administración de los agentes puede lograrse de varias maneras, incluyendo administración oral, bucal, rectal, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, subcutánea, intramuscular, transdérmica, intratecal, etc. En muchas modalidades, la administración es mediante inyección rápida, e.g., inyección rápida subcutánea, inyección rápida intramuscular, y lo similar.

Las composiciones farmacéuticas de la invención

pueden administrarse oralmente, parenteralmente o a través de un depósito implantado. Se prefiere la administración oral o la administración por inyección.

La administración subcutánea de la composición farmacéutica de la invención se logra utilizando métodos y dispositivos estándar, e.g., aguja y jeringa, un sistema de suministro de puerta de inyección subcutánea, y lo similar. Ver, e.g., Patentes de E.U. Nos. 3,547,119; 4,755,173; 4,531,937; 4,311,137; y 6,017,328. En la presente, una combinación de una puerta de inyección subcutánea y un dispositivo para la administración de una composición farmacéutica de la invención a un paciente a través de una puerta, se refiere como "un sistema de suministro de puerta de inyección subcutánea". En muchas modalidades, la administración subcutánea se logra mediante suministro rápido por aguja y jeringa.

En formas de dosis farmacéuticas, los agentes pueden administrarse en forma de sus sales farmacéuticamente aceptables o también pueden utilizarse solos o en la asociación apropiada, así como en combinación con otros compuestos farmacéuticamente activos. Los siguientes métodos y excipientes son meramente ejemplares y en ningún modo limitantes.

Para preparaciones orales, los agentes pueden utilizarse solos o en combinación con aditivos apropiados

para elaborar tabletas, polvos, gránulos o cápsulas, por ejemplo, con aditivos convencionales, tales como lactosa, almidón de maíz o almidón de patata; con enlazadores, tales como celulosa cristalina, derivados de celulosa, acacia, almidón de maíz o gelatinas; con desintegradores, tales como almidón de maíz, almidón de patata o carboximetilcelulosa de sodio; con lubricantes, tales como talco o estearato de magnesio; y si se desea, con diluyentes, agentes amortiguadores, agentes humectantes, preservativos y agentes saborizantes.

Los agentes pueden formularse en preparaciones para inyección disolviéndolos, suspendiéndolos o emulsificándolos en un solvente acuoso o no acuoso, tal como aceites vegetales u otros similares, glicéridos sintéticos de ácido alifático, ésteres o ácidos alifáticos mayores o propilen glicol; y si se desea, con aditivos convencionales tales como solubilizadores, agentes isotónicos, agentes de suspensión, agentes de emulsificación, estabilizadores y preservativos.

Además, los agentes pueden prepararse en supositorios mezclándolos con una diversidad de bases tales como bases de emulsificación o bases solubles en agua. Los compuestos de la presente invención pueden administrarse rectalmente a través de un supositorio. El supositorio puede incluir vehículos tales como manteca de cacao, carbo ceras y polietilen glicoles, que se funden a la temperatura corporal,

y sin embargo se solidifican a temperatura ambiente.

Pueden proporcionarse formas de dosis unitaria para administración oral o rectal tales como jarabes, elíxires y suspensiones, en donde cada dosis unitaria, por ejemplo, una cuchara para café, una cuchara sopera, tableta o supositorio, contiene una cantidad predeterminada de la composición que contiene uno o más inhibidores. De manera similar, las formas de dosis unitaria para inyección o administración intravenosa pueden comprender el (los) inhibidor(es) en una composición como una solución en agua estéril, salina normal u otro vehículo farmacéuticamente aceptable.

El término "forma de dosis unitaria" como se utiliza en la presente, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para sujetos humanos y animales, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de los compuestos de la presente invención calculados en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado en asociación con un diluyente, portador o vehículo farmacéuticamente aceptable. Las especificaciones para las nuevas formas de dosis unitaria de la presente invención dependen del compuesto particular empleado y del efecto que va a lograrse, y de la farmacodinámica asociada con cada compuesto en el huésped.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como vehículos, adyuvantes, portadores o diluyentes, se

encuentran fácilmente disponibles al público. Además, se encuentran fácilmente disponibles al público sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables, tales como agentes de ajuste de pH y amortiguadores, agentes de ajuste de tonicidad, estabilizadores, agentes humectantes y lo similar.

Otros agentes antivirales

Como se trató en lo anterior, en algunas modalidades, se llevará a cabo el método sujeto administrando un inhibidor NS3 que es un compuesto de la fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales.

En algunas modalidades, el método incluye además la administración de uno o más agonistas del receptor de interferón. Los agonistas del receptor de interferón se describieron anteriormente.

En otras modalidades, el método incluye además la administración de pirfenidona o de un análogo de pirfenidona. La pirfenidona y análogos de pirfenidona se describieron anteriormente.

Los agentes antivirales adicionales adecuados para su uso en terapia de combinación incluyen pero no se limitan a, análogos de nucleótido y nucleósido. Los ejemplos no limitantes incluyen azidotimidina (AZT) (zidovudina), y sus análogos y derivados; 2',3'-dideoxiinosina (DDI) (didanosina), y sus análogos y derivados; 2',3'-dideoxicitidina (DDC) (dideoxicitidina), y sus análogos y

derivados; 2',3'-didehidro-2'.3'-dideoxitimidina (D4T) (estavudina) y sus análogos y derivados; combivir; abacavir; adefovir dopoxil; cidofovir; análogos de ribavirina; y lo similar.

En algunas modalidades, el método incluye además la administración de ribavirina. Ribavirina, 1-β-D-ribofuranosil-1H-1,2,4-triazolo-3-carboxamida, disponible de ICN Pharmaceuticals, Inc., Costa Mesa, Calif., se describe en el Merck Index, compuesto No. 8199, Décima primera edición. Su fabricación y formulación se describe en la Pat. de E.U. No. 4,211,771. La invención contempla también el uso de derivados de ribavirina (ver, e.g., Pat. de E.U. No. 6,277,830). La ribavirina puede administrarse oralmente en forma de cápsula o tableta, o en la misma o diferente forma de administración y por la misma o diferente vía que el agonista del receptor de interferón. Por supuesto, se contemplan otros tipos de administración de ribavirina, según se encuentren disponibles, tales como rocío nasal, transdérmicamente, por supositorio, por una forma de dosis de liberación sostenida, etc. Cualquier forma de administración funcionará mientras que se suministren las dosis apropiadas sin destruir el ingrediente activo.

En algunas modalidades, el agente antiviral se administra durante el curso completo del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3. En otras modalidades, se administra

un agente antiviral adicional durante un período de tiempo que se sobrepone con el del tratamiento con compuesto inhibidor NS3, e.g., el tratamiento con agente antiviral adicional puede iniciar antes de iniciar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3 y terminar antes de terminar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3; el tratamiento con agente antiviral adicional puede iniciar después de iniciar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3 y terminar después de terminar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3; el tratamiento con agente antiviral adicional puede iniciar después de iniciar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3 y terminar antes de terminar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3; o el tratamiento con agente antiviral adicional puede iniciar antes de iniciar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3 y terminar después de terminar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3.

MÉTODOS DE TRATAMIENTO

Monoterapias

El compuesto inhibidor NS3 de la invención puede utilizarse en terapia aguda o crónica para la enfermedad por HCV. En muchas modalidades, el compuesto inhibidor NS3 se administra durante un período de aproximadamente 1 día a aproximadamente 7 días, o de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 2 semanas, o de aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 3 semanas, o de aproximadamente 3 semanas a

aproximadamente 4 semanas, o de aproximadamente 1 mes a aproximadamente 2 meses, o , o de aproximadamente 3 meses a aproximadamente 4 meses, o de aproximadamente 4 meses a aproximadamente 6 meses, o de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 8 meses, o de aproximadamente 8 meses a aproximadamente 12 meses, o al menos un año, y puede administrarse durante períodos de tiempo más largos. El compuesto inhibidor NS3 puede administrarse 5 veces al día, 4 veces al día, tid, bid, qd, biw, tiw, qw, qow, tres veces al mes, o una vez al mes. En otras modalidades, el compuesto inhibidor NS3 se administra como una infusión continua.

En muchas modalidades, el compuesto inhibidor NS3 de la invención se administra oralmente.

En relación con los métodos antes descritos para el tratamiento de la enfermedad por HCV en un paciente, puede administrarse un compuesto inhibidor NS3 de la invención al paciente en una forma de dosis de aproximadamente 0.01 mg hasta aproximadamente 100 mg/kg del peso corporal del paciente al día, en 1 a 5 dosis divididas al día. En algunas modalidades, el compuesto inhibidor NS3 se administra en una dosis de aproximadamente 0.5 mg hasta aproximadamente 75 mg/kg del peso corporal del paciente al día, en 1 a 5 dosis divididas al día.

La cantidad del ingrediente activo que puede combinarse con materiales portadores para producir una forma

de dosis puede variar dependiendo del huésped que va a tratarse y del modo particular de administración. Una preparación farmacéutica típica puede contener de aproximadamente 5% hasta aproximadamente 95% del ingrediente activo (peso/peso). En otras modalidades, la preparación farmacéutica puede contener de aproximadamente 20% hasta aproximadamente 80% del ingrediente activo.

Los expertos apreciarán fácilmente que los niveles de dosis pueden variar como una función del compuesto inhibidor NS3 específico, la severidad de los síntomas y la susceptibilidad del sujeto a los efectos secundarios. Las dosis preferidas para un compuesto inhibidor NS3 dado se determinan fácilmente por los expertos en la técnica mediante una diversidad de medios. Un medio preferido es medir la potencia fisiológica de un agonista del receptor de interferón dado.

En muchas modalidades, se administran dosis múltiples del compuesto inhibidor NS3. Por ejemplo, el compuesto inhibidor NS3 se administra una vez al mes, dos veces al mes, tres veces al mes, cada tercera semana (qow), una vez a la semana (qw), dos veces por semana (biw), tres veces por semana (tiw), cuatro veces por semana , cinco veces por semana, seis veces por semana cada tercer día (qod), diariamente (qd), dos veces al día (qid), o tres veces al día (tid), durante un período de tiempo que fluctúa desde

aproximadamente un día hasta aproximadamente una semana, desde aproximadamente dos semanas hasta aproximadamente cuatro semanas, desde aproximadamente un mes hasta aproximadamente dos meses, desde aproximadamente dos meses hasta aproximadamente cuatro meses, desde aproximadamente cuatro meses hasta aproximadamente seis meses, desde aproximadamente seis meses hasta aproximadamente ocho meses, desde aproximadamente ocho meses hasta aproximadamente un año, desde aproximadamente un año hasta aproximadamente 2 años, o desde aproximadamente 2 años hasta aproximadamente 4 años o más.

Terapias de combinación con ribavirina

En algunas modalidades, los métodos proporcionan terapia de combinación que comprende la administración de un compuesto inhibidor NS3 como se describió anteriormente, y una cantidad efectiva de ribavirina. Ribavirina puede administrarse en dosis de aproximadamente 400 mg, hasta aproximadamente 1000 mg o aproximadamente 1200 mg al día.

En una modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificados para incluir la co-administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de ribavirina durante la duración del curso deseado del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona

cualquiera de los métodos antes descritos modificados para incluir la co-administración al paciente de aproximadamente 800 mg hasta aproximadamente 1200 mg de ribavirina oralmente al día durante la duración del curso deseado del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificados para incluir la co-administración al paciente de (a) 1000 mg de ribavirina oralmente al día si el paciente tiene un peso corporal menor que 75 kg o (b) 1200 mg de ribavirina oralmente al día si el paciente tiene un peso corporal mayor que o igual a 75 kg, en donde la dosis diaria de ribavirina se divide opcionalmente en 2 dosis durante la duración del curso deseado del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Terapias de combinación con levovirina

En algunas modalidades, los métodos proporcionan terapia de combinación que comprende la administración de un compuesto inhibidor NS3 como se describió anteriormente, y una cantidad efectiva de levovirina. Levovirina se administra generalmente en una cantidad que fluctúa de aproximadamente 30 mg hasta aproximadamente 60 mg, de aproximadamente 60 mg hasta aproximadamente 125 mg, de aproximadamente 125 mg hasta aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 200 mg hasta aproximadamente 300 mg, de aproximadamente 300 mg hasta aproximadamente 400 mg, de

aproximadamente 400 mg hasta aproximadamente 1200 mg, de aproximadamente 600 mg hasta aproximadamente 1000 mg, o de aproximadamente 700 mg hasta aproximadamente 900 mg por día, o aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por día. En algunas modalidades, levovirina se administra oralmente en dosis de aproximadamente 400, aproximadamente 800, aproximadamente 1000, o aproximadamente 1200 mg al día durante el curso deseado del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Terapias de combinación con viramidina

En algunas modalidades, los métodos proporcionan terapia de combinación que comprende la administración de un compuesto inhibidor NS3 como se describió anteriormente, y una cantidad efectiva de viramidina. Viramidina se administra generalmente en una cantidad que fluctúa de aproximadamente 30 mg hasta aproximadamente 60 mg, de aproximadamente 60 mg hasta aproximadamente 125 mg, de aproximadamente 125 mg hasta aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 200 mg hasta aproximadamente 300 mg, de aproximadamente 300 mg hasta aproximadamente 400 mg, de aproximadamente 400 mg hasta aproximadamente 1200 mg, de aproximadamente 600 mg hasta aproximadamente 1000 mg, o de aproximadamente 700 mg hasta aproximadamente 900 mg por día, o aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por día. En algunas modalidades, viramidina se administra oralmente en

dosis de aproximadamente 800, o aproximadamente 1600 mg al día durante el curso deseado del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Terapias de combinación con timosina-α

En algunas modalidades, los métodos proporcionan terapia de combinación que comprende la administración de un compuesto inhibidor NS3 como se describió anteriormente, y una cantidad efectiva de timosina-α. Timosina-α se administra generalmente mediante inyección subcutánea. Timosina-α puede administrarse tid, bid, qd, qod, biw, tiw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, sustancialmente de manera continua, o continuamente durante el curso deseado del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3. En muchas modalidades timosina-α se administra dos veces a la semana durante el curso deseado del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Las dosis efectivas de timosina-α fluctúan de aproximadamente 0.5 mg hasta aproximadamente 5 mg, de aproximadamente 0.5 mg hasta aproximadamente 1.0 mg, de aproximadamente 1.0 mg hasta aproximadamente 1.5 mg, de aproximadamente 1.5 mg hasta aproximadamente 2.0 mg, de aproximadamente 2.0 mg hasta aproximadamente 2.5 mg, de aproximadamente 2.5 mg hasta aproximadamente 3.0 mg, de aproximadamente 3.0 mg hasta aproximadamente 3.5 mg, de aproximadamente 3.5 mg hasta aproximadamente 4.0 mg, de

aproximadamente 4.0 mg hasta aproximadamente 4.5 mg, o de aproximadamente 4.5 mg hasta aproximadamente 5.0 mg. En modalidades particulares, timosina-α se administra en dosis que contienen una cantidad de 1.0 mg o 1.6 mg.

Timosina-α puede administrarse durante un período de tiempo que fluctúa desde aproximadamente un día hasta aproximadamente una semana, desde aproximadamente dos semanas hasta aproximadamente cuatro semanas, desde aproximadamente un mes hasta aproximadamente dos meses, desde aproximadamente dos meses hasta aproximadamente cuatro meses, desde aproximadamente cuatro meses hasta aproximadamente seis meses, desde aproximadamente seis meses hasta aproximadamente ocho meses, desde aproximadamente ocho meses hasta aproximadamente un año, desde aproximadamente un año hasta aproximadamente 2 años, o desde aproximadamente 2 años hasta aproximadamente 4 años o más. En una modalidad, timosina-α se administra durante el curso deseado del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Terapias de combinación con interferón(es)

En muchas modalidades, los métodos proporcionan terapia de combinación que comprende la administración de un compuesto inhibidor NS3 como se describió anteriormente, y una cantidad efectiva de un agonista del receptor de interferón. En algunas modalidades, se co-administra un compuesto de la fórmula I y un agonista del receptor de

interferón Tipo I o III en los métodos de tratamiento de la invención. Los agonistas del receptor de interferón Tipo I para uso en la presente incluyen un interferón-α (IFN-α). En ciertas modalidades, el interferón-α es un interferón-α pegilado. En otras ciertas modalidades, el interferón-α es un interferón de consenso, tal como interferón INFERGEN® alfacon-1. Aún en otras modalidades, el interferón-α es un interferón de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado.

Las dosis efectivas de un IFN-α fluctúan de aproximadamente 3 µg hasta aproximadamente 27 µg, de aproximadamente 3 MU hasta aproximadamente 10 MU, de aproximadamente 90 µg hasta aproximadamente 180 µg, o de aproximadamente 18 µg hasta aproximadamente 90 µg. Las cantidades efectivas del IFN-α de consenso Infergen® incluyen aproximadamente 3 µg, aproximadamente 6 µg, aproximadamente 9 µg, aproximadamente 12 µg, aproximadamente 15 µg, aproximadamente 18 µg, aproximadamente 21 µg, aproximadamente 24 µg, aproximadamente 27 µg, aproximadamente 30 µg, de la droga por dosis. Las dosis efectivas de IFN-α2a e IFN-α2b fluctúan de 3 millones de unidades (MU) a 10 MU por dosis. Las dosis efectivas de IFN-α2a pegilado PEGASYS® contienen una cantidad de aproximadamente 90 µg hasta aproximadamente 180 µg de droga por dosis. Las dosis efectivas de IFN-α2b pegilado PEG-INTRON® contienen una cantidad de aproximadamente 0.5 µg hasta 3.0 µg de droga por kg de peso

corporal por dosis. Las dosis efectivas de interferón de consenso pegilaado (PEG-CIFN) contienen una cantidad de aproximadamente 18 µg hasta aproximadamente 90 µg, o de aproximadamente 27 µg hasta aproximadamente 60 µg, o de aproximadamente 45 µg de aminoácido CIFN en peso por dosis de PEG-CIFN. Las dosis efectivas de CIFN monoPEG (30 kD, lineal)-ilado contienen una cantidad de aproximadamente 45 µg hasta aproximadamente 270 µg, o de aproximadamente 60 µg hasta aproximadamente 180 µg, o de aproximadamente 90 µg hasta aproximadamente 120 µg de droga por dosis. IFN-α puede administrarse diariamente, cada tercer día, una vez a la semana, tres veces a la semana, cada tercera semana, tres veces al mes, una vez al mes, sustancialmente de manera continua, o continuamente.

En muchas modalidades el agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III y/o el agonista del receptor de interferón Tipo II se administra durante un período de aproximadamente 1 día a aproximadamente 7 días, o de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 2 semanas, o de aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 3 semanas, o de aproximadamente 3 semanas a aproximadamente 4 semanas, o de aproximadamente 1 mes a aproximadamente 2 meses, o , o de aproximadamente 3 meses a aproximadamente 4 meses, o de aproximadamente 4 meses a aproximadamente 6 meses, o de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 8 meses, o de

aproximadamente 8 meses a aproximadamente 12 meses, o al menos un año, y puede administrarse durante períodos de tiempo más largos. Los regímenes de dosis pueden incluir tid, bid, qd, qod, biw, tiw, qw, qow, tres veces al mes, o en administraciones mensuales. En algunas modalidades, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos en los cuales la dosis deseada de un IFN-α se administra de manera subcutánea al paciente mediante suministro rápido qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, o mensualmente, o se administra de manera subcutánea al paciente por día mediante suministro sustancialmente continuo o continuo, durante la duración deseada del tratamiento. En otras modalidades, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos en los cuales la dosis deseada de IFN-α pegilado (PEG- IFN-α) se administra de manera subcutánea al paciente mediante suministro rápido qw, qow, tres veces al mes, o mensualmente durante la duración deseada del tratamiento.

En otras modalidades, se co-administra un compuesto inhibidor NS3 y un agonista del receptor de interferón Tipo II en los métodos de tratamiento de la invención. Los agonistas del receptor de interferón Tipo II adecuados para su uso en la presente incluyen cualquier interferón-γ (IFN-γ).

Las dosis efectivas de IFN-γ pueden fluctuar de

aproximadamente 0.5 µg/m^2 hasta aproximadamente 500 µg/m^2, comúnmente de aproximadamente 1.5 µg/m^2 hasta 200 µg/m^2, dependiendo de la talla del paciente. Esta actividad se basa en 10^6 unidades internacionales (U) por 50 µg de proteína. IFN-γ puede administrarse diariamente, cada tercer día, tres veces a la semana, o sustancialmente de manera continua o continuamente.

En modalidades de interés específicas, IFN-γ se administra a un individuo en una forma de dosis unitaria de desde aproximadamente 25 µg hasta aproximadamente 500 µg, desde aproximadamente 50 µg hasta aproximadamente 400 µg, o desde aproximadamente 100 µg hasta aproximadamente 300 µg. En modalidades de interés particulares, la dosis es de aproximadamente 200 µg de IFN-γ. En muchas modalidades se interés se administra IFN-γ1b.

Cuando la dosis es de 200 µg de IFN-γ por dosis, la cantidad de IFN-γ por peso corporal (asumiendo un rango de pesos corporales de desde aproximadamente 45 kg hasta aproximadamente 135 kg) se encuentra en el rango de desde aproximadamente 4.4 µg de IFN-γ por kg de peso corporal hasta aproximadamente 1.48 µg de IFN-γ por kg de peso corporal.

El área se superficie corporal de los individuos sujeto fluctúa de aproximadamente 1.33 m^2 hasta aproximadamente 2.50 m^2. Por tanto, en muchas modalidades, la dosis de IFN-γ fluctúa desde aproximadamente 150 µg/m^2

hasta aproximadamente 20 $\mu g/m^2$. Por ejemplo, una dosis de IFN-γ fluctúa de aproximadamente 20 $\mu g/m^2$ hasta aproximadamente 30 $\mu g/m^2$, de aproximadamente 30 $\mu g/m^2$ hasta aproximadamente 40 $\mu g/m^2$, de aproximadamente 40 $\mu g/m^2$ hasta aproximadamente 50 $\mu g/m^2$, de aproximadamente 50 $\mu g/m^2$ hasta aproximadamente 60 $\mu g/m^2$, de aproximadamente 60 $\mu g/m^2$ hasta aproximadamente 70 $\mu g/m^2$, de aproximadamente 70 $\mu g/m^2$ hasta aproximadamente 80 $\mu g/m^2$, de aproximadamente 80 $\mu g/m^2$ hasta aproximadamente 90 $\mu g/m^2$, de aproximadamente 90 $\mu g/m^2$ hasta aproximadamente 100 $\mu g/m^2$, de aproximadamente 100 $\mu g/m^2$ hasta aproximadamente 110 $\mu g/m^2$, de aproximadamente 110 $\mu g/m^2$ hasta aproximadamente 120 $\mu g/m^2$, de aproximadamente 120 $\mu g/m^2$ hasta aproximadamente 130 $\mu g/m^2$, de aproximadamente 130 $\mu g/m^2$ hasta aproximadamente 140 $\mu g/m^2$, de aproximadamente 140 $\mu g/m^2$ hasta aproximadamente 150 $\mu g/m^2$. En algunas modalidades los grupos de dosis fluctúan de aproximadamente 25 $\mu g/m^2$ hasta aproximadamente 100 $\mu g/m^2$. En otras modalidades los grupos de dosis fluctúan de aproximadamente 25 $\mu g/m^2$ hasta aproximadamente 50 $\mu g/m^2$.

En algunas modalidades, un agonista del receptor de interferón Tipo III se administra en un régimen de primera dosis, seguido por un régimen de segunda dosis. El régimen de primera dosis de agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III (también referido como "el régimen de inducción") implica generalmente la administración de una

dosis mayor del agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III. Por ejemplo, en el caso del IFN-α de consenso (CIFN) Infergen®, el régimen de primera dosis comprende administrar CIFN a aproximadamente 9 µg, aproximadamente 15 µg, aproximadamente 18 µg, o aproximadamente 27 µg. El régimen de primera dosis puede abarcar un evento de dosis única o al menos dos o más eventos de dosis. El régimen de primera dosis del agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III puede administrarse diariamente, cada tercer día, tres veces a la semana, cada tercera semana, tres veces al mes, una vez al mes, sustancialmente de manera continua o continuamente.

El régimen de primera dosis del agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III se administra durante un primer período de tiempo, cuyo período de tiempo puede ser de al menos aproximadamente 4 semanas, al menos aproximadamente 8 semanas o al menos aproximadamente 12 semanas.

El régimen de segunda dosis de agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III (también referido como "la dosis de mantenimiento") implica generalmente la administración de una dosis menor del agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III. Por ejemplo, en el caso del CIFN el régimen de segunda dosis comprende administrar CIFN a una dosis de al menos aproximadamente 3 µg, al menos

aproximadamente 9 µg, al menos aproximadamente 15 µg, o al menos aproximadamente 18 µg. El régimen de segunda dosis puede abarcar un evento de dosis única o al menos dos o más eventos de dosis.

El régimen de segunda dosis del agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III puede administrarse diariamente, cada tercer día, tres veces a la semana, cada tercera semana, tres veces al mes, una vez al mes, sustancialmente de manera continua o continuamente.

En algunas modalidades, en donde se administra un régimen de dosificación de "inducción"/"mantenimiento" de un agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III, se incluye una dosis de "preparación" de un agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III (e.g., IFN-γ). En estas modalidades, IFN-γ se administra durante un período de tiempo de aproximadamente 1 día hasta aproximadamente 14 días, de aproximadamente 2 días hasta aproximadamente 10 días, o de aproximadamente 3 días hasta aproximadamente 7 días, antes de iniciar el tratamiento con el agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III. Este período de tiempo se refiere como la fase de "preparación".

En algunas de estas modalidades, el tratamiento con agonista del receptor de interferón Tipo II continúa a lo largo del período de tratamiento completo con el agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III. En otras

modalidades, el tratamiento con agonista del receptor de interferón Tipo II se discontinúa antes de terminar el tratamiento con el agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III. En estas modalidades, el tiempo total de tratamiento con agonista del receptor de interferón Tipo II (incluyendo la fase de "preparación") es de aproximadamente 2 días hasta aproximadamente 30 días, de aproximadamente 4 días hasta aproximadamente 25 días, de aproximadamente 8 días hasta aproximadamente 20 días, de aproximadamente 10 días hasta aproximadamente 18 días, o de aproximadamente 12 días hasta aproximadamente 16 días. Aún en otras modalidades, el tratamiento con agonista del receptor de interferón Tipo II se discontinúa una vez iniciado el tratamiento con agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III.

En otras modalidades, el agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III se administra en un régimen de dosis única. Por ejemplo en el caso de CIFN, la dosis de CIFN se encuentra generalmente en un rango de aproximadamente 3 µg hasta aproximadamente 15 µg. o de aproximadamente 9 µg hasta aproximadamente 15 µg. La dosis del agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III se administra generalmente diariamente, cada tercer día, tres veces por semana, cada tercera semana, tres veces al mes, una vez al mes, o sustancialmente de manera continua. La dosis del agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III se

administra durante un período de tiempo, cuyo período puede ser, por ejemplo, de al menos aproximadamente 24 semanas hasta al menos aproximadamente 48 semanas o más.

En algunas modalidades, cuando se administra un régimen de dosis única del agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III, se incluye una dosis de "preparación" del agonista del receptor de interferón Tipo II (e.g., IFN-γ). En estas modalidades, IFN-γ se administra durante un período de tiempo de aproximadamente 1 día hasta aproximadamente 14 días, de aproximadamente 2 días hasta aproximadamente 10 días, o de aproximadamente 3 días hasta aproximadamente 7 días, antes de iniciar el tratamiento con el agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III. Este período de tiempo se refiere como la fase de "preparación". En algunas de estas modalidades, el tratamiento con agonista del receptor de interferón Tipo II continúa a lo largo del período de tratamiento completo con el agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III. En otras modalidades, el tratamiento con agonista del receptor de interferón Tipo II se discontinúa antes de terminar el tratamiento con el agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III. En estas modalidades, el tiempo total de tratamiento con agonista del receptor de interferón Tipo II (incluyendo la fase de "preparación") es de aproximadamente 2 días hasta aproximadamente 30 días, de aproximadamente 4 días

hasta aproximadamente 25 días, de aproximadamente 8 días hasta aproximadamente 20 días, de aproximadamente 10 días hasta aproximadamente 18 días, o de aproximadamente 12 días hasta aproximadamente 16 días. Aún en otras modalidades, el tratamiento con agonista del receptor de interferón Tipo II se discontinúa una vez iniciado el tratamiento con agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III.

En modalidades adicionales, se co-administra un compuesto inhibidor NS3 y un agonista del receptor de interferón Tipo II durante la duración deseada del tratamiento en los métodos de la invención. En algunas modalidades se co-administra un compuesto inhibidor NS3, un interferón-α y un interferón-γ durante la duración deseada del tratamiento en los métodos de la invención.

En algunas modalidades, la invención proporciona métodos que utilizan una cantidad de un agonista del receptor de interferón Tipo I o Tipo III, un agonista del receptor de interferón Tipo II, y un compuesto inhibidor NS3, efectivos para el tratamiento de infección por HCV en un paciente. En algunas modalidades, la invención proporciona métodos que utilizan una cantidad efectiva de un IFN-α, IFN-γ y un compuesto inhibidor NS3 en el tratamiento de infección por HCV en un paciente. En una modalidad, la invención proporciona un método que utiliza una cantidad efectiva de un IFN-α de consenso, IFN-γ y un compuesto inhibidor NS3 en el

tratamiento de infección por HCV en un paciente.

En general, se proporciona una cantidad efectiva de un interferón de consenso (CIFN) y IFN-γ adecuada para su uso en los métodos de la invención por una proporción de dosis de 1 µg de CIFN: 10 µg de IFN-γ, en donde tanto el CIFN como el IFN-γ son especies no pegiladas y no glicosiladas.

En una modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α de consenso INFERGEN®, e IFN-γ en el tratamiento de infección por HCV en un paciente, que comprende la administración a un paciente de una dosis de INFERGEN® que contiene una cantidad de aproximadamente 1 µg hasta aproximadamente 30 µg, de droga por dosis de INFERGEN®, de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 10 µg hasta aproximadamente 300 µg de droga por dosis de IFN-γ, de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el

uso de una cantidad efectiva de IFN-α de consenso INFERGEN®, e IFN-γ en el tratamiento de infección por HCV en un paciente, que comprende la administración a un paciente de una dosis de INFERGEN® que contiene una cantidad de aproximadamente 1 µg hasta aproximadamente 9 µg, de droga por dosis de INFERGEN®, de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 10 µg hasta aproximadamente 100 µg de droga por dosis de IFN-γ, de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α de consenso INFERGEN®, e IFN-γ en el tratamiento de infección por HCV en un paciente, que comprende la administración a un paciente de una dosis de INFERGEN® que contiene una cantidad de aproximadamente 1 µg de droga por dosis de INFERGEN®, de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de

IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 10 µg hasta aproximadamente 50 µg de droga por dosis de IFN-γ, de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α de consenso INFERGEN®, e IFN-γ en el tratamiento de infección por HCV en un paciente, que comprende la administración a un paciente de una dosis de INFERGEN® que contiene una cantidad de aproximadamente 9 µg de droga por dosis de INFERGEN®, de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 90 µg hasta aproximadamente 100 µg de droga por dosis de IFN-γ, de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α de consenso INFERGEN®,

e IFN-γ en el tratamiento de infección por HCV en un paciente, que comprende la administración a un paciente de una dosis de INFERGEN® que contiene una cantidad de aproximadamente 30 µg de droga por dosis de INFERGEN®, de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 200 µg hasta aproximadamente 300 µg de droga por dosis de IFN-γ, de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α de consenso pegilado, e IFN-γ en el tratamiento de infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de IFN-α de consenso pegilado (PEG-CIFN) que contiene una cantidad de aproximadamente 4 µg hasta aproximadamente 60 µg, de aminoácido CIFN por peso por dosis de PEG-CIFN, de manera subcutánea qw, qow, tres veces al mes, o una vez al mes, en combinación con una dosis total semanal de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 30 µg hasta aproximadamente 1,000 µg de droga por semana en dosis

divididas administradas de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, o administradas sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α de consenso pegilado, e IFN-γ en el tratamiento de infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de IFN-α de consenso pegilado (PEG-CIFN) que contiene una cantidad de aproximadamente 18 µg hasta aproximadamente 24 µg, de aminoácido CIFN por peso por dosis de PEG-CIFN, de manera subcutánea qw, qow, tres veces al mes, o una vez al mes, en combinación con una dosis total semanal de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 100 µg hasta aproximadamente 300 µg de droga por semana en dosis divididas administradas de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, o administradas sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En general, se proporciona una cantidad efectiva de IFN-α 2a o 2b o 2c e IFN-γ adecuada para su uso en los métodos de la invención por una proporción de dosis de 1 millón de unidades (MU) de IFN-α 2a o 2b o 2c: 30 µg de IFN-γ, en donde tanto IFN-α 2a o 2b o 2c como IFN-γ son especies

no pegiladas y no glicosiladas.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α 2a o 2b o 2c e IFN-γ en el tratamiento de una infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de un IFN-α 2a o 2b o 2c que contiene una cantidad de aproximadamente 1 MU hasta aproximadamente 20 MU de droga por dosis de IFN-α 2a o 2b o 2c de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 30 µg hasta aproximadamente 600 µg de droga por dosis de IFN-γ, de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α 2a o 2b o 2c e IFN-γ en el tratamiento de una infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de un IFN-α 2a o 2b o 2c que contiene una cantidad de aproximadamente 3 MU de droga por dosis de IFN-α 2a o 2b o 2c de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, en

combinación con una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 100 µg de droga por dosis de IFN-γ, de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α 2a o 2b o 2c e IFN-γ en el tratamiento de una infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de un IFN-α 2a o 2b o 2c que contiene una cantidad de aproximadamente 10 MU de droga por dosis de IFN-α 2a o 2b o 2c de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 300 µg de droga por dosis de IFN-γ, de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α pegilado PEGASYS® e IFN-γ en el tratamiento de una infección por virus en un

paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de PEGASYS® que contiene una cantidad de aproximadamente 90 µg hasta aproximadamente 360 µg de droga por dosis de PEGASYS® de manera subcutánea, qw, qow, tres veces al mes o mensualmente, en combinación con una dosis semanal total de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 30 µg hasta aproximadamente 1,000 µg de droga por semana administrada en dosis divididas, de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, o administrada sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α pegilado PEGASYS® e IFN-γ en el tratamiento de una infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de PEGASYS® que contiene una cantidad de aproximadamente 180 µg de droga por dosis de PEGASYS® de manera subcutánea, qw, qow, tres veces al mes o mensualmente, en combinación con una dosis semanal total de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 100 µg hasta aproximadamente 300 µg de droga por semana administrada en dosis divididas, de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, o administrada sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento

con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α pegilado PEG-INTRON® e IFN-γ en el tratamiento de una infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de PEG-INTRON® que contiene una cantidad de aproximadamente 0.75 µg hasta aproximadamente 3.0 µg de droga por kilogramo de peso corporal por dosis de PEG-INTRON® de manera subcutánea, qw, qow, tres veces al mes o mensualmente, en combinación con una dosis semanal total de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 30 µg hasta aproximadamente 1,000 µg de droga por semana administrada en dosis divididas, de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, o administrada sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α pegilado PEG-INTRON® e IFN-γ en el tratamiento de una infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de PEG-INTRON® que contiene una cantidad de aproximadamente 1.5 µg de droga por kilogramo de peso corporal por dosis de PEG-INTRON® de manera subcutánea, qw,

qow, tres veces al mes o mensualmente, en combinación con una dosis semanal total de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 100 µg hasta aproximadamente 300 µg de droga por semana administrada en dosis divididas, de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, o administrada sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de IFN-α de consenso INFERGEN® administrada de manera subcutánea, qd, o tiw, y ribavirina administrada oralmente qd, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta modalidad, ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos que 75 kg, y de 1,200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrada de manera subcutánea, qd, o tiw; 50 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw; y ribavirina administrada oralmente qd, en donde la duración de

la terapia es de 48 semanas. En esta modalidad, ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos que 75 kg, y de 1,200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrada de manera subcutánea, qd, o tiw; 100 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw; y ribavirina administrada oralmente qd, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta modalidad, ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos que 75 kg, y de 1,200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrada de manera subcutánea, qd, o tiw; y 50 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas.

En una modalidad, la presente invención proporciona

cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrada de manera subcutánea, qd, o tiw; y 100 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrada de manera subcutánea, qd, o tiw; 25 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw; y ribavirina administrada oralmente qd, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta modalidad, ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos que 75 kg, y de 1,200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrada de manera subcutánea, qd, o tiw; 200 µg de IFN-γ

1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw; y ribavirina administrada oralmente qd, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta modalidad, ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos que 75 kg, y de 1,200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrada de manera subcutánea, qd, o tiw; y 25 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrada de manera subcutánea, qd, o tiw; y 200 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una

infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 100 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado administrada de manera subcutánea, cada 10 días o qw,, o tiw, y ribavirina administrada oralmente qd, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta modalidad, ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos que 75 kg, y de 1,200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 100 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado administrada de manera subcutánea cada 10 días o qw; 50 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw; y ribavirina administrada oralmente qd, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta modalidad, ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos que 75 kg, y de 1,200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 100 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30

kD, lineal)-ilado administrada de manera subcutánea cada 10 días o qw; 100 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw; y ribavirina administrada oralmente qd, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta modalidad, ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos que 75 kg, y de 1,200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 100 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado administrada de manera subcutánea cada 10 días o qw; 50 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 100 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado administrada de manera subcutánea cada 10 días o qw; 100 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 150 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado administrada de manera subcutánea cada 10 días o qw, y ribavirina administrada oralmente qd, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta modalidad, ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos que 75 kg, y de 1,200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 150 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado administrada de manera subcutánea cada 10 días o qw; 50 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw; y ribavirina administrada oralmente qd, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta modalidad, ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos que 75 kg, y de 1,200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para

comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 150 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado administrada de manera subcutánea cada 10 días o qw; 100 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw; y ribavirina administrada oralmente qd, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta modalidad, ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos que 75 kg, y de 1,200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 150 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado administrada de manera subcutánea cada 10 días o qw; y 50 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 150 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado administrada de manera subcutánea cada 10

días o qw; y 100 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 200 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado administrada de manera subcutánea cada 10 días o qw, y ribavirina administrada oralmente qd, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta modalidad, ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos que 75 kg, y de 1,200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 200 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado administrada de manera subcutánea cada 10 días o qw; 50 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw; y ribavirina administrada oralmente qd, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta modalidad, ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos que 75 kg, y de 1,200

mg para individuos que pesan 75 kg o más.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 200 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado administrada de manera subcutánea cada 10 días o qw; 100 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw; y ribavirina administrada oralmente qd, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta modalidad, ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos que 75 kg, y de 1,200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 200 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado administrada de manera subcutánea cada 10 días o qw; 50 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para comprender la administración a un individuo que tiene una

infección por HCV de una cantidad efectiva de un inhibidor NS3; y un régimen de 200 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado administrada de manera subcutánea cada 10 días o qw; 100 µg de IFN-γ 1b humano Actimmune® administrada de manera subcutánea tiw, en donde la duración de la terapia es de 48 semanas.

Cualquiera de los métodos antes descritos que implican la administración de un inhibidor NS3, un agonista del receptor de interferón Tipo I (e.g., un IFN-α), y un agonista del receptor de interferón Tipo II (e.g., un IFN-γ), puede aumentarse mediante la administración de una cantidad efectiva de un antagonista de TNF-α (e.g., un antagonista de TNF-α diferente a pirfenidona o un análogo de pirfenidona). Los antagonistas de TNF-α ejemplares no limitantes adecuados para su uso en tales terapias de combinación incluyen ENBREL®, REMICADE® y HUMIRA™.

En una modalidad, la invención proporciona un método que utiliza una cantidad efectiva de ENBREL®; una cantidad efectiva de IFN-α; una cantidad efectiva de IFN-γ; y una cantidad efectiva de un inhibidor NS3 en el tratamiento de una infección por HCV en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosis de ENBREL® que contiene una cantidad de desde aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 23 mg por dosis, desde aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 1 µg, desde aproximadamente 1 µg hasta

aproximadamente 10 µg, desde aproximadamente 10 µg hasta aproximadamente 100 µg, desde aproximadamente 100 µg hasta aproximadamente 1 mg, desde aproximadamente 1 mg hasta aproximadamente 5 mg, desde aproximadamente 5 mg hasta aproximadamente 10 mg, desde aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 15 mg, desde aproximadamente 15 mg hasta aproximadamente 20 mg, o desde aproximadamente 20 mg hasta aproximadamente 23 mg de ENBREL® de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes o una vez cada tercer mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente durante la duración deseada del tratamiento.

En una modalidad, la invención proporciona un método que utiliza una cantidad efectiva de REMICADE®; una cantidad efectiva de IFN-α; una cantidad efectiva de IFN-γ; y una cantidad efectiva de un inhibidor NS3 en el tratamiento de una infección por HCV en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosis de REMICADE® que contiene una cantidad de desde aproximadamente 0.1 mg/kg hasta aproximadamente 4.5 mg/kg, desde aproximadamente 0.1 mg/kg hasta aproximadamente 0.5 mg/kg, desde aproximadamente 0.5 mg/kg hasta aproximadamente 1.0 mg/kg, desde aproximadamente 1.0 mg/kg hasta aproximadamente 1.5 mg/kg, desde aproximadamente 1.5 mg/kg hasta aproximadamente 2.0 mg/kg, desde aproximadamente 2.0 mg/kg hasta aproximadamente 2.5

mg/kg, desde aproximadamente 2.5 mg/kg hasta aproximadamente 3.0 mg/kg, desde aproximadamente 3.0 mg/kg hasta aproximadamente 3.5 mg/kg, desde aproximadamente 3.5 mg/kg hasta aproximadamente 4.0 mg/kg, o desde aproximadamente 4.0 mg/kg hasta aproximadamente 4.5 mg/kg de REMICADE® de manera intravenosa, qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes o una vez cada tercer mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente durante la duración deseada del tratamiento.

En una modalidad, la invención proporciona un método que utiliza una cantidad efectiva de HUMIRA™; una cantidad efectiva de IFN-α; una cantidad efectiva de IFN-γ; y una cantidad efectiva de un inhibidor NS3 en el tratamiento de una infección por HCV en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosis de HUMIRA™ que contiene una cantidad de desde aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 35 mg, desde aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 1 µg, desde aproximadamente 1 µg hasta aproximadamente 10 µg, desde aproximadamente 10 µg hasta aproximadamente 100 µg, desde aproximadamente 100 µg hasta aproximadamente 1 mg, desde aproximadamente 1 mg hasta aproximadamente 5 mg, desde aproximadamente 5 mg hasta aproximadamente 10 mg, desde aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 15 mg, desde aproximadamente 15 mg hasta aproximadamente 20 mg, o desde aproximadamente 20 mg hasta

aproximadamente 25 mg, desde aproximadamente 25 mg hasta aproximadamente 30 mg, o desde aproximadamente 30 mg hasta aproximadamente 35 mg por dosis de HUMIRA™ de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes o una vez cada tercer mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente durante la duración deseada del tratamiento.

Terapias de combinación con pirfenidona

En muchas modalidades, los métodos proporcionan terapias de combinación que comprenden la administración de un compuesto inhibidor NS3 como se describió anteriormente, y una cantidad efectiva de pirfenidona o un análogo de pirfenidona. En algunas modalidades, se co-administra u compuesto inhibidor NS3, uno o más agonistas del receptor de interferón, y pirfenidona o análogo de pirfenidona, en los métodos de tratamiento de la invención. En ciertas modalidades, se co-administra un compuesto inhibidor NS3, un agonista del receptor de interferón Tipo I y pirfenidona (o un análogo de pirfenidona). En otras modalidades, se co-administra un compuesto inhibidor NS3, un agonista del receptor de interferón Tipo I, un agonista del receptor de interferón Tipo II y pirfenidona (o un análogo de pirfenidona). Los agonistas del receptor de interferón Tipo I adecuados para su uso en la presente incluyen cualquier IFN-α, tal como interferón alfa-2a, interferón alfa-2b,

interferón alfacon-1, e IFN-αs pegilados, tales como peginterferón alfa-2a, peginterferón alfa-2b, e interferones de consenso pegilados, tales como interferón de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado. Los agonistas del receptor de interferón Tipo II adecuados para su uso en la presente incluyen cualquier interferón-γ.

Pirfenidona o un análogo de pirfenidona puede administrarse una vez al mes, dos veces al mes, tres veces al mes, una vez a la semana, dos veces a la semana, tres veces a la semana, cuatro veces a la semana, cinco veces a la semana, seis veces a la semana, diariamente, o divida en dosis que fluctúan de una vez al día hasta 5 veces al día durante un período de tiempo que fluctúa desde aproximadamente un día hasta aproximadamente una semana, de aproximadamente dos semanas hasta aproximadamente cuatro semanas, de aproximadamente un mes hasta aproximadamente dos meses, de aproximadamente dos meses hasta aproximadamente cuatro meses, de aproximadamente cuatro meses hasta aproximadamente seis meses, de aproximadamente seis meses hasta aproximadamente ocho meses, de aproximadamente ocho meses hasta aproximadamente 1 año, de aproximadamente 1 año hasta aproximadamente 2 años, o de aproximadamente 2 años hasta aproximadamente 4 años o más.

Las dosis efectivas de pirfenidona o un análogo de pirfenidona específico incluyen una dosis en base al peso en

el rango de aproximadamente 5 mg/kg/día hasta aproximadamente 125 mg/kg/día, o una dosis fija de aproximadamente 400 mg hasta aproximadamente 3600 mg al día, o aproximadamente 800 mg hasta aproximadamente 2400 mg al día, o aproximadamente 1000 mg hasta aproximadamente 1800 mg al día, o aproximadamente 1200 mg hasta aproximadamente 1600 mg al día administrada oralmente en de una a cinco dosis divididas al día. Se describen otras dosis y formulaciones de pirfenidona y análogos de pirfenidona específicos adecuados para su uso en el tratamiento de enfermedades fibróticas, en las Pats. de E.U. Nos. 5,310,562; 5,528,729; 5,716,632; y 6,090,822.

En una modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para incluir la co-administración a un paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de pirfenidona o un análogo de pirfenidona durante la duración del curso deseado del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

Terapias de combinación con antagonistas TNF-α

En muchas modalidades, los métodos proporcionan terapias de combinación que comprenden la administración de un compuesto inhibidor NS3 como se describió anteriormente, y una cantidad efectiva de antagonista TNF-α en una terapia de combinación para el tratamiento de una infección por HCV.

Las dosis efectivas de un antagonista TNF-α fluctúan de 0.1 µg hasta 40 mg por dosis, e.g., de

aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 0.5 µg por dosis, de aproximadamente 0.5 µg hasta aproximadamente 1.0 µg por dosis, de aproximadamente 1.0 µg hasta aproximadamente 5.0 µg por dosis, de aproximadamente 5.0 µg hasta aproximadamente 10 µg por dosis, de aproximadamente 10 µg hasta aproximadamente 20 µg por dosis, de aproximadamente 20 µg hasta aproximadamente 30 µg por dosis, de aproximadamente 30 µg hasta aproximadamente 40 µg por dosis, de aproximadamente 40 µg hasta aproximadamente 50 µg por dosis, de aproximadamente 50 µg hasta aproximadamente 60 µg por dosis, de aproximadamente 60 µg hasta aproximadamente 70 µg por dosis, de aproximadamente 70 µg hasta aproximadamente 80 µg por dosis, de aproximadamente 80 µg hasta aproximadamente 100 µg por dosis, de aproximadamente 100 µg hasta aproximadamente 150 µg por dosis, de aproximadamente 150 µg hasta aproximadamente 200 µg por dosis, de aproximadamente 200 µg hasta aproximadamente 250 µg por dosis, de aproximadamente 250 µg hasta aproximadamente 300 µg por dosis, de aproximadamente 300 µg hasta aproximadamente 400 µg por dosis, de aproximadamente 400 µg hasta aproximadamente 500 µg por dosis, de aproximadamente 500 µg hasta aproximadamente 600 µg por dosis, de aproximadamente 600 µg hasta aproximadamente 700 µg por dosis, de aproximadamente 700 µg hasta aproximadamente 800 µg por dosis, de aproximadamente 800 µg hasta aproximadamente 900 µg por

dosis, de aproximadamente 900 µg hasta aproximadamente 1000 µg por dosis, de aproximadamente 1 mg hasta aproximadamente 10 mg por dosis, de aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 15 mg por dosis, de aproximadamente 15 mg hasta aproximadamente 20 mg por dosis, de aproximadamente 20 mg hasta aproximadamente 25 mg por dosis, de aproximadamente 25 mg hasta aproximadamente 30 mg por dosis, de aproximadamente 30 mg hasta aproximadamente 35 mg por dosis, o de aproximadamente 35 mg hasta aproximadamente 40 mg por dosis.

En algunas modalidades, las dosis efectivas de un antagonista TNF-α se expresan como mg/kg de peso corporal. En estas modalidades, las dosis efectivas de un antagonista TNF-α son de aproximadamente 0.1 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, e.g., de aproximadamente 0.1 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 0.5 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.5 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 1.0 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 1.0 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 2.5 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 2.5 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 5.0 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 5.0 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 7.5 mg/kg de peso corporal, o de aproximadamente 7.5 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal.

En muchas modalidades, un antagonista TNF-α se administra durante un período de aproximadamente 1 día hasta aproximadamente 7 días, o de aproximadamente 1 semana hasta aproximadamente 2 semanas, o de aproximadamente 2 semana hasta aproximadamente 3 semanas, o de aproximadamente 3 semana hasta aproximadamente 4 semanas, o de aproximadamente 1 mes hasta aproximadamente 2 meses, o de aproximadamente 3 meses hasta aproximadamente 4 meses, o de aproximadamente 4 meses hasta aproximadamente 6 meses, o de aproximadamente 6 meses hasta aproximadamente 8 meses, o de aproximadamente 8 meses hasta aproximadamente 12 meses, o de al menos un año, y puede administrarse durante períodos de tiempo más largos. El antagonista TNF-α puede administrarse tid, bid, qd, qod, biw, tiw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, sustancialmente de manera continua o continuamente.

En muchas modalidades, se administran dosis múltiples del antagonista TNF-α. Por ejemplo, el antagonista TNF-α se administra una vez al mes, dos veces al mes, tres veces al mes, cada tercera semana (qow), una vez a la semana (qw), dos veces por semana (biw), tres veces por semana (tiw), cuatro veces por semana, cinco veces por semana, seis veces por semana, cada tercer día (qod), diariamente (qd), dos veces al día (bid), o tres veces al día (tid), de sustancialmente de manera continua o continuamente durante un período de tiempo que fluctúa desde aproximadamente un día

hasta aproximadamente una semana, desde aproximadamente dos semanas hasta aproximadamente cuatro semanas, desde aproximadamente un mes hasta aproximadamente dos meses, desde aproximadamente dos meses hasta aproximadamente cuatro meses, desde aproximadamente cuatro meses hasta aproximadamente seis meses, desde aproximadamente seis meses hasta aproximadamente ocho meses, desde aproximadamente ocho meses hasta aproximadamente un año, desde aproximadamente un año hasta aproximadamente 2 años, o desde aproximadamente 2 años hasta aproximadamente 4 años o más.

Un antagonista TNF-α y un inhibidor NS3 se administran generalmente en formulaciones separadas. Un antagonista TNF-α y un inhibidor NS3 pueden administrarse sustancialmente de manera simultánea, o dentro de aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 16 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 72 horas, aproximadamente 4 días, aproximadamente 7 días, o aproximadamente 2 semanas entre sí.

En una modalidad, la invención proporciona un método que utiliza una cantidad efectiva de un antagonista TNF-α y una cantidad efectiva de un inhibidor NS3 en el tratamiento de una infección por HCV en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosis de un antagonista

TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista TNF-α, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En una modalidad, la invención proporciona un método que utiliza una cantidad efectiva de ENBREL® y una cantidad efectiva de un inhibidor NS3 en el tratamiento de una infección por HCV en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosis de ENBREL® que contiene una cantidad de desde aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 23 mg por dosis, desde aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 1 µg, desde aproximadamente 1 µg hasta aproximadamente 10 µg, desde aproximadamente 10 µg hasta aproximadamente 100 µg, desde aproximadamente 100 µg hasta aproximadamente 1 mg, desde aproximadamente 1 mg hasta aproximadamente 5 mg, desde aproximadamente 5 mg hasta aproximadamente 10 mg, desde aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 15 mg, desde aproximadamente 15 mg hasta aproximadamente 20 mg, o desde aproximadamente 20 mg hasta aproximadamente 23 mg de ENBREL® de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes o una vez cada tercer mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En una modalidad, la invención proporciona un

método que utiliza una cantidad efectiva de REMICADE® y una cantidad efectiva de un inhibidor NS3 en el tratamiento de una infección por HCV en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosis de REMICADE® que contiene una cantidad de desde aproximadamente 0.1 mg/kg hasta aproximadamente 4.5 mg/kg, desde aproximadamente 0.1 mg/kg hasta aproximadamente 0.5 mg/kg, desde aproximadamente 0.5 mg/kg hasta aproximadamente 1.0 mg/kg, desde aproximadamente 1.0 mg/kg hasta aproximadamente 1.5 mg/kg, desde aproximadamente 1.5 mg/kg hasta aproximadamente 2.0 mg/kg, desde aproximadamente 2.0 mg/kg hasta aproximadamente 2.5 mg/kg, desde aproximadamente 2.5 mg/kg hasta aproximadamente 3.0 mg/kg, desde aproximadamente 3.0 mg/kg hasta aproximadamente 3.5 mg/kg, desde aproximadamente 3.5 mg/kg hasta aproximadamente 4.0 mg/kg, o desde aproximadamente 4.0 mg/kg hasta aproximadamente 4.5 mg/kg de REMICADE® de manera intravenosa, qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes o una vez cada tercer mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En una modalidad, la invención proporciona un método que utiliza una cantidad efectiva de HUMIRA™ y una cantidad efectiva de un inhibidor NS3 en el tratamiento de una infección por HCV en un paciente, que comprende

administrar al paciente una dosis de HUMIRA™ que contiene una cantidad de desde aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 35 mg, desde aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 1 µg, desde aproximadamente 1 µg hasta aproximadamente 10 µg, desde aproximadamente 10 µg hasta aproximadamente 100 µg, desde aproximadamente 100 µg hasta aproximadamente 1 mg, desde aproximadamente 1 mg hasta aproximadamente 5 mg, desde aproximadamente 5 mg hasta aproximadamente 10 mg, desde aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 15 mg, desde aproximadamente 15 mg hasta aproximadamente 20 mg, o desde aproximadamente 20 mg hasta aproximadamente 25 mg, desde aproximadamente 25 mg hasta aproximadamente 30 mg, o desde aproximadamente 30 mg hasta aproximadamente 35 mg por dosis de HUMIRA™ de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes o una vez cada tercer mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

Terapias de combinación con timosina-α

En muchas modalidades, los métodos proporcionan terapias de combinación que comprenden la administración de un compuesto inhibidor NS3 como se describió anteriormente, y una cantidad efectiva de timosina-α en una terapia de combinación para el tratamiento de una infección por HCV.

Las dosis efectivas de timosina-α fluctúan de aproximadamente 0.5 mg hasta aproximadamente 5 mg, de aproximadamente 0.5 mg hasta aproximadamente 1.0 mg, de aproximadamente 1.0 mg hasta aproximadamente 1.5 mg, de aproximadamente 1.5 mg hasta aproximadamente 2.0 mg, de aproximadamente 2.0 mg hasta aproximadamente 2.5 mg, de aproximadamente 2.5 mg hasta aproximadamente 3.0 mg, de aproximadamente 3.0 mg hasta aproximadamente 3.5 mg, de aproximadamente 3.5 mg hasta aproximadamente 4.0 mg, de aproximadamente 4.0 mg hasta aproximadamente 4.5 mg, o de aproximadamente 4.5 mg hasta aproximadamente 5.0 mg. En modalidades particulares, timosina-α se administra en dosis que contienen una cantidad de 1.0 mg o 1.6 mg.

En una modalidad, la invención proporciona un método que utiliza una cantidad efectiva de ZADAXIN™ y una cantidad efectiva de un inhibidor NS3 en el tratamiento de una infección por HCV en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosis de ZADAXIN™ que contiene una cantidad de desde aproximadamente 1.0 µg hasta aproximadamente 1.6 mg por dosis, de manera subcutánea dos veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Terapias de combinación con un antagonista TNF-α y un interferón

En algunas modalidades, la presente invención

proporciona un método para tratar una infección por HCV en un individuo que tiene una infección por HCV, comprendiendo el método administrar una cantidad efectiva de un inhibidor NS3, una cantidad efectiva de un antagonista TNF-α, y una cantidad efectiva de uno o más interferones.

En una modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-γ y una cantidad efectiva de un antagonista TNF-α en el tratamiento de infección por HCV en un paciente, que comprende la administración a un paciente de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 10 µg hasta aproximadamente 300 µg, de droga por dosis de IFN-γ, de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de antagonista TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista TNF-α, de manera subcutánea qd, qod, tiw, o biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En una modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-γ y una cantidad efectiva de un antagonista TNF-α en el tratamiento de infección por

HCV en un paciente, que comprende la administración a un paciente de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 10 µg hasta aproximadamente 100 µg, de droga por dosis de IFN-γ, de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de antagonista TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista TNF-α, de manera subcutánea qd, qod, tiw, o biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-γ y una cantidad efectiva de un antagonista TNF-α en el tratamiento de infección por virus en un paciente, que comprende la administración a un paciente de una dosis semanal total de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 30 µg hasta aproximadamente 1,000 µg de droga por semana en dosis divididas administradas de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, o administradas sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de antagonista TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista TNF-α, de manera subcutánea

qd, qod, tiw, o biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-γ y una cantidad efectiva de un antagonista TNF-α en el tratamiento de infección por virus en un paciente, que comprende la administración a un paciente de una dosis semanal total de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 100 µg hasta aproximadamente 300 µg de droga por semana en dosis divididas administradas de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, o administradas sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de antagonista TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista TNF-α, de manera subcutánea qd, qod, tiw, o biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En una modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α de consenso INFERGEN®, y un antagonista TNF-α en el tratamiento de infección por HCV en un paciente, que comprende la administración a un paciente de una dosis de INFERGEN® que contiene una cantidad de

aproximadamente 1 µg hasta aproximadamente 30 µg, de droga por dosis de INFERGEN®, de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de un antagonista TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 µg por dosis de un antagonista TNF-α, de manera subcutánea qd, qod, tiw, o biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En una modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α de consenso INFERGEN®, y un antagonista TNF-α en el tratamiento de infección por HCV en un paciente, que comprende la administración a un paciente de una dosis de INFERGEN® que contiene una cantidad de aproximadamente 1 µg hasta aproximadamente 9 µg, de droga por dosis de INFERGEN®, de manera subcutánea qd, qod, tiw, biw, qw, qow, tres veces al mes, una vez al mes, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de antagonista TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 µg por dosis de un antagonista TNF-α, de manera subcutánea qd, qod, tiw, o biw, o al día sustancialmente de manera

continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α de consenso pegilado, y una cantidad efectiva de un antagonista TNF-α en el tratamiento de infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de IFN-α de consenso pegilado (PEG-CIFN) que contiene una cantidad de aproximadamente 4 µg hasta aproximadamente 60 µg, de aminoácido CIFN por peso por dosis de PEG-CIFN, de manera subcutánea qw, qow, tres veces al mes, o una vez al mes, en combinación con una dosis de un antagonista TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 µg por dosis de un antagonista TNF-α de manera subcutánea qd, qod, tiw, o biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α de consenso pegilado, y una cantidad efectiva de un antagonista TNF-α en el tratamiento de infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de IFN-α

de consenso pegilado (PEG-CIFN) que contiene una cantidad de aproximadamente 18 µg hasta aproximadamente 24 µg, de aminoácido CIFN por peso por dosis de PEG-CIFN, de manera subcutánea qw, qow, tres veces al mes, o una vez al mes, en combinación con una dosis de antagonista TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 µg por dosis de un antagonista TNF-α de manera subcutánea qd, qod, tiw, o biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α 2a o 2b o 2c y una cantidad efectiva de un antagonista TNF-α en el tratamiento de una infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de un IFN-α 2a o 2b o 2c que contiene una cantidad de aproximadamente 1 MU hasta aproximadamente 20 MU de droga por dosis de IFN-α 2a o 2b o 2c de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de antagonista TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 µg por dosis de un antagonista TNF-α, de manera subcutánea, qd, qod, tiw, o biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada

del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α 2a o 2b o 2c y una cantidad efectiva de un antagonista TNF-α en el tratamiento de una infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de un IFN-α 2a o 2b o 2c que contiene una cantidad de aproximadamente 3 MU de droga por dosis de IFN-α 2a o 2b o 2c de manera subcutánea, qd, qod, tiw, biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de antagonista TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista TNF-α, de manera subcutánea, qd, qod, tiw, o biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α 2a o 2b o 2c y una cantidad efectiva de un antagonista TNF-α en el tratamiento de una infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de un IFN-α 2a o 2b o 2c que contiene una cantidad de aproximadamente 10 MU de droga por dosis de IFN-α 2a o 2b o 2c de manera subcutánea,

qd, qod, tiw, biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, en combinación con una dosis de un antagonista TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista TNF-α, de manera subcutánea, qd, qod, tiw, o biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α 2a pegilado PEGASYS® y una cantidad efectiva de un antagonista TNF-α en el tratamiento de una infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de PEGASYS® que contiene una cantidad de aproximadamente 90 µg hasta aproximadamente 360 µg de droga por dosis de PEGASYS® de manera subcutánea, qw, qow, tres veces al mes o mensualmente, en combinación con una dosis semanal total de antagonista TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 µg por dosis de un antagonista TNF-α, de manera subcutánea, qd, qod, tiw, o biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona

cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α 2a pegilado PEGASYS® y una cantidad efectiva de un antagonista TNF-α en el tratamiento de una infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de PEGASYS® que contiene una cantidad de aproximadamente 180 µg de droga por dosis de PEGASYS® de manera subcutánea, qw, qow, tres veces al mes o mensualmente, en combinación con una dosis de un antagonista TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 µg por dosis, de manera subcutánea, qd, qod, tiw, o biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α 2b pegilado PEG-INTRON® y una cantidad efectiva de un antagonista TNF-α en el tratamiento de una infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de PEG-INTRON® que contiene una cantidad de aproximadamente 0.75 µg hasta aproximadamente 3.0 µg de droga por kilogramo de peso corporal por dosis de PEG-INTRON® de manera subcutánea, qw, qow, tres veces al mes o mensualmente, en combinación con una dosis de un antagonista TNF-α que contiene una cantidad de

aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 mg por dosis, de manera subcutánea, qd, qod, tiw, o biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

En otra modalidad, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos modificado para el uso de una cantidad efectiva de IFN-α 2b pegilado PEG-INTRON® y una cantidad efectiva de un antagonista TNF-α en el tratamiento de una infección por virus en un paciente, que comprende la administración al paciente de una dosis de PEG-INTRON® que contiene una cantidad de aproximadamente 1.5 µg de droga por kilogramo de peso corporal por dosis de PEG-INTRON® de manera subcutánea, qw, qow, tres veces al mes o mensualmente, en combinación con una dosis de un antagonista TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0.1 µg hasta aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista TNF-α, de manera subcutánea, qd, qod, tiw, o biw, o al día sustancialmente de manera continua o continuamente, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor NS3.

Terapias de combinación con otros agentes antivirales

Otros agentes tales como los inhibidores de HCV NS3 helicasa, también son drogas atractivas para la terapia de combinación, y se contemplan para su uso en las terapias de

combinación descritas en la presente. También las ribozimas tales como Heptazyme™ y oligonucleótidos de fosforotioato que son complementarios a las secuencias de proteínas HCV y que inhiben la expresión de proteínas de núcleo viral, son adecuados para su uso en las terapias de combinación descritas en la presente.

En algunas modalidades, el(los) agente(s) antiviral(es) adicional(es) se administra(n) durante el curso completo del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3 de la invención, y el inicio y el final de los períodos de tratamiento coinciden. En otras modalidades, el(los) agente(s) antiviral(es) adicional(es) se administra(n) durante un período de tiempo que se sobrepone con el del tratamiento con compuesto inhibidor NS3, e.g., el tratamiento con agente(s) antiviral(es) adicional(es) se inicia antes de iniciar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3 y termina antes de terminar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3; el tratamiento con agente(s) antiviral(es) adicional(es) se inicia después de iniciar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3 y termina después de terminar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3; el tratamiento con agente(s) antiviral(es) adicional(es) se inicia después de iniciar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3 y termina antes de terminar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3; o el tratamiento con agente(s) antiviral(es) adicional(es) se

inicia antes de iniciar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3 y termina después de terminar el tratamiento con compuesto inhibidor NS3.

El compuesto inhibidor NS3 puede administrarse conjuntamente con (i.e., simultáneamente en formulaciones separadas; simultáneamente en la misma formulación; administrarse en formulaciones separadas y dentro de aproximadamente 48 horas, dentro de aproximadamente 36 horas, dentro de aproximadamente 24 horas, dentro de aproximadamente 16 horas, dentro de aproximadamente 12 horas, dentro de aproximadamente 8 horas, dentro de aproximadamente 4 horas, dentro de aproximadamente 2 horas, dentro de aproximadamente 1 hora, dentro de aproximadamente 30 minutos, dentro de aproximadamente 15 minutos o menos) uno o más agentes antivirales adicionales.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de IFN-α, puede modificarse para reemplazar el régimen de IFN-α sujeto con un régimen de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que comprende la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de IFN-α, puede modificarse para reemplazar el régimen de IFN-α sujeto con un régimen de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que comprende la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 150 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de IFN-α, puede modificarse para reemplazar el régimen de IFN-α sujeto con un régimen de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que comprende la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 200 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de IFN-α, puede modificarse para reemplazar el régimen de IFN-α sujeto con un régimen de interferón alfacon-1 INFERGEN® que comprende la administración de una dosis de interferón

alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez al día o tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de IFN-α, puede modificarse para reemplazar el régimen de IFN-α sujeto con un régimen de interferón alfacon-1 INFERGEN® que comprende la administración de una dosis de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez al día o tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de IFN-γ sujeto con un régimen de IFN-γ que comprende la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 25 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de IFN-γ sujeto con un régimen de IFN-γ que comprende la administración de

una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 50 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de IFN-γ sujeto con un régimen de IFN-γ que comprende la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días o una vez cada 10 días; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 50 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

192

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de antagonista TNF, puede modificarse para reemplazar el régimen de antagonista TNF sujeto con un régimen de antagonista TNF que comprende la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado del grupo de: (a) etanercept en una cantidad de 25 mg de droga por dosis, de manera subcutánea dos veces a la semana, (b) infliximab una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal por dosis de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso; o (c) adalimumab en una cantidad de 40 mg de droga por dosis de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días o una vez cada 10 días; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis de manera subcutánea

tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 150 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días o una vez cada 10 días; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 50 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días o una vez cada 10 días; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una

cantidad de 100 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 200 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días o una vez cada 10 días; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 50 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 200 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días o una vez cada 10 días; y (b) la

administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 25 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una

cantidad de 50 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez al día; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 25 µg de droga por dosis de manera subcutánea

tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez al día; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 50 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez al día; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del

tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 25 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 50 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez al día; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 25 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los

métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez al día; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 50 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ sujeto con un régimen de combinación de IFN-α e IFN-γ que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez al día; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de

combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días o una vez cada 10 días; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de

combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días o una vez cada 10 días; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 50 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de

150 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días o una vez cada 10 días; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 50 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 150 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días o una vez cada 10 días; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una

cantidad de 100 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 200 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días o una vez cada 10 días; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 50 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una

cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 200 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días o una vez cada 10 días; y (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las

semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 IFERGEN® que contiene una cantidad de 9 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 25 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor

NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 IFERGEN® que contiene una cantidad de 9 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 50 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede

modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 IFERGEN® que contiene una cantidad de 9 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1

IFERGEN® que contiene una cantidad de 9 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 25 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 IFERGEN® que contiene una cantidad de 9 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 50 µg de droga por dosis de manera subcutánea

tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 IFERGEN® que contiene una cantidad de 9 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por

kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 IFERGEN® que contiene una cantidad de 15 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 25 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la

duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 IFERGEN® que contiene una cantidad de 15 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 50 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de

combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 IFERGEN® que contiene una cantidad de 15 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende:

(a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 IFERGEN® que contiene una cantidad de 15 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 25 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 IFERGEN® que contiene una cantidad de 15 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una

cantidad de 50 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ, y antagonista TNF puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α, IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 IFERGEN® que contiene una cantidad de 15 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; (b) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis de manera subcutánea tres veces a la semana; y (c) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana,

(ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días o una vez cada 10 días; y (b) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor

NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 150 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días o una vez cada 10 días; y (b) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α

y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado que contiene una cantidad de 200 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días o una vez cada 10 días; y (b) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez al día o tres veces a la semana; y (b) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos

veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez al día o tres veces a la semana; y (b) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-γ y antagonista TNF, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-γ y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 25 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; y (b) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg, de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-γ y antagonista TNF, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 50 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; y (b)

la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de combinación de IFN-γ y antagonista TNF, puede modificarse para reemplazar el régimen de combinación de IFN-α y antagonista TNF sujeto con un régimen de combinación de IFN-γ y antagonista TNF que comprende: (a) la administración de una dosis de IFN-γ que contiene una cantidad de 100 µg de droga por dosis, de manera subcutánea tres veces a la semana; y (b) la administración de una dosis de antagonista TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg de manera subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de droga por kilogramo de peso corporal de manera intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después de eso o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg de manera subcutánea una vez a la semana o una vez cada tercera semana; durante la duración deseada del tratamiento

con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que incluyen un régimen de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado, puede modificarse para reemplazar el régimen de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado con un régimen de peginterferón alfa-2a que comprende la administración de una dosis de peginterferón alfa-2a que contiene una cantidad de 180 µg de droga por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que incluyen un régimen de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado, puede modificarse para reemplazar el régimen de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal)-ilado con un régimen de peginterferón alfa-2b que comprende la administración de una dosis de peginterferón alfa-2b que contiene una cantidad de 1.0 µg a 1.5 µg de droga por kilogramo de peso corporal por dosis, de manera subcutánea una vez a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos puede modificarse para incluir la administración de una dosis de ribavirina que contiene una cantidad de 400 mg, 800mg, 1000 mg o 1200 mg de droga

oralmente al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos puede modificarse para incluir la administración de una dosis de ribavirina que contiene (i) una cantidad de 1000 mg de droga oralmente al día, para pacientes que tienen un peso corporal menor que 75 kg o (ii) una cantidad de 1200 mg de droga oralmente al día para pacientes que tienen un peso corporal mayor que o igual a 75 kg, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos puede modificarse para reemplazar el régimen de inhibidor NS3 sujeto con un régimen de inhibidor NS3 que comprende la administración de una dosis de 0.01 mg a 0.1 mg de droga por kilogramo de peso corporal oralmente al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos puede modificarse para reemplazar el régimen de inhibidor NS3 sujeto con un régimen de inhibidor NS3 que comprende la administración de una dosis de 0.1 mg a

1 mg de droga por kilogramo de peso corporal oralmente al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos puede modificarse para reemplazar el régimen de inhibidor NS3 sujeto con un régimen de inhibidor NS3 que comprende la administración de una dosis de 1 mg a 10 mg de droga por kilogramo de peso corporal oralmente al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos puede modificarse para reemplazar el régimen de inhibidor NS3 sujeto con un régimen de inhibidor NS3 que comprende la administración de una dosis de 10 mg a 100 mg de droga por kilogramo de peso corporal oralmente al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de inhibidor NS5B, puede modificarse para reemplazar el régimen de inhibidor NS5B sujeto con un régimen de inhibidor NS5B que comprende la administración de una dosis de 0.01 mg a 0.1 mg

de droga por kilogramo de peso corporal oralmente al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de inhibidor NS5B, puede modificarse para reemplazar el régimen de inhibidor NS5B sujeto con un régimen de inhibidor NS5B que comprende la administración de una dosis de 0.1 mg a 1 mg de droga por kilogramo de peso corporal oralmente al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de inhibidor NS5B, puede modificarse para reemplazar el régimen de inhibidor NS5B sujeto con un régimen de inhibidor NS5B que comprende la administración de una dosis de 1 mg a 10 mg de droga por kilogramo de peso corporal oralmente al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Como ejemplos no limitantes, cualquiera de los métodos antes descritos que caracterizan un régimen de inhibidor NS5B, puede modificarse para reemplazar el régimen

de inhibidor NS5B sujeto con un régimen de inhibidor NS5B que comprende la administración de una dosis de 10 mg a 100 mg de droga por kilogramo de peso corporal oralmente al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor NS3.

Identificación de Pacientes

En ciertas modalidades, el régimen específico de terapia con drogas utilizado en el tratamiento del paciente de HCV, se selecciona ded acuerdo con ciertos parámetros de enfermedad exhibidos por el paciente, tales como la carga viral inicial, el genotipo de la infección por HCV en el paciente, la histología hepática y/o la etapa de fibrosis hepática en el paciente.

De este modo, en algunas modalidades, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de la infección por HCV en el cual el método sujeto se modifica para tratar a un paciente que falla al tratamiento durante una duración de 48 semanas.

En otras modalidades, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para HCV en el cual el método sujeto se modifica para tratar a un paciente que no responde al tratamiento, en donde el paciente recibe una terapia de una duración de 48 semanas.

En otras modalidades, la invención proporciona

cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de la infección por HCV en el cual el método sujeto se modifica para tratar a un paciente reincidente, en donde el paciente recibe una terapia de una duración de 48 semanas.

En otras modalidades, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de la infección por HCV en el cual el método sujeto se modifica para tratar a un paciente simple infectado con genotipo 1 de HCV, en donde el paciente recibe una terapia de una duración de 48 semanas.

En otras modalidades, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de la infección por HCV en el cual el método sujeto se modifica para tratar a un paciente simple infectado con genotipo 4 de HCV, en donde el paciente recibe una terapia de una duración de 48 semanas.

En otras modalidades, la invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de la infección por HCV en el cual el método sujeto se modifica para tratar a un paciente simple infectado con genotipo 1 de HCV, en donde el paciente tiene una alta carga viral (HVL), en donde "HVL" se refiere a una carga viral de HCV mayor que 2 x 10^6 HCV copias genómicas por ml en suero, y en donde el paciente recibe una terapia de una duración de 48 semanas.

En una modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar a un paciente que tiene una etapa avanzada o severa de fibrosis hepática medida mediante una marcación Knodell de 3 o 4, y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 60 semanas, o de aproximadamente 30 semanas a aproximadamente un año, o de aproximadamente 36 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 48 semanas, o de al menos aproximadamente 24 semanas, o de al menos aproximadamente 30 semanas, o de al menos aproximadamente 36 semanas, o de al menos aproximadamente 40 semanas, o de al menos aproximadamente 48 semanas, o de al menos aproximadamente 60 semanas.

En otra modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar a un paciente que tiene una etapa avanzada o severa de fibrosis hepática medida mediante una marcación Knodell de 3 o 4, y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de

aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 60 semanas, o de aproximadamente 48 semanas.

En otra modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar a un paciente que tiene una infección por genotipo 1 de HCV y una carga viral inicial mayor que 2 millones de copias genómicas virales por ml de suero del paciente, y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 60 semanas, o de aproximadamente 30 semanas a aproximadamente un año, o de aproximadamente 36 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 48 semanas, o de al menos aproximadamente 24 semanas, o de al menos aproximadamente 30 semanas, o de al menos aproximadamente 36 semanas, o de al menos aproximadamente 40 semanas, o de al menos aproximadamente 48 semanas, o de al menos aproximadamente 60 semanas.

En otra modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar a un paciente que tiene una infección por genotipo 1 de HCV y una carga viral inicial mayor que 2 millones de copias

genómicas virales por ml de suero del paciente, y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 48 semanas.

En otra modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar a un paciente que tiene una infección del genotipo 1 de HCV y una carga viral inicial de más de 2 millones de copias genómicas virales por ml en suero del paciente y ninguna fibrosis hepática en etapa inicial medida mediante una marcación Knodell de 0, 1 o 2, y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 60 semanas, o de aproximadamente 30 semanas a aproximadamente un año, o de aproximadamente 36 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 48 semanas, o de al menos aproximadamente 24 semanas, o de al menos aproximadamente 30 semanas, o de al menos aproximadamente 36 semanas, o de al menos aproximadamente 40 semanas, o de al menos aproximadamente 48 semanas, o de al menos aproximadamente 60 semanas.

En otra modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el

tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar a un paciente que tiene una infección del genotipo 1 de HCV y una carga viral inicial de más de 2 millones de copias genómicas virales por ml en suero del paciente y ninguna fibrosis hepática en etapa inicial medida mediante una marcación Knodell de 0, 1 o 2, y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 48 semanas.

En otra modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar a un paciente que tiene una infección del genotipo 1 de HCV y una carga viral inicial de menos de o igual a 2 millones de copias genómicas virales por ml en suero del paciente y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de aproximadamente 20 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 48 semanas, o de aproximadamente 30 semanas a aproximadamente 40 semanas, o de hasta aproximadamente 20 semanas, o de hasta aproximadamente 24 semanas, o de hasta aproximadamente 30 semanas, o de hasta aproximadamente 36 semanas, o de hasta aproximadamente 48

semanas.

En otra modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar a un paciente que tiene una infección del genotipo 1 de HCV y una carga viral inicial de menos de o igual a 2 millones de copias genómicas virales por ml en suero del paciente y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de aproximadamente 20 semanas a aproximadamente 24 semanas.

En otra modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar a un paciente que tiene una infección del genotipo 1 de HCV y una carga viral inicial de menos de o igual a 2 millones de copias genómicas virales por ml en suero del paciente y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 48 semanas.

En otra modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar

a un paciente que tiene una infección del genotipo 2 o 3 de HCV y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 60 semanas, o de aproximadamente 30 semanas a aproximadamente un año, o de aproximadamente 36 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 48 semanas, o de al menos aproximadamente 24 semanas, o de al menos aproximadamente 30 semanas, o de al menos aproximadamente 36 semanas, o de al menos aproximadamente 40 semanas, o de al menos aproximadamente 48 semanas, o de al menos aproximadamente 60 semanas.

En otra modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar a un paciente que tiene una infección del genotipo 2 o 3 de HCV y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de aproximadamente 20 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 48 semanas, o de aproximadamente 30 semanas a aproximadamente 40 semanas, o de hasta aproximadamente 20 semanas, o de hasta aproximadamente 24 semanas, o de hasta aproximadamente 30 semanas, o de hasta aproximadamente 36 semanas, o de hasta aproximadamente 48

semanas.

En otra modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar a un paciente que tiene una infección del genotipo 2 o 3 de HCV y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de aproximadamente 20 semanas a aproximadamente 24 semanas.

En otra modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar a un paciente que tiene una infección del genotipo 2 o 3 de HCV y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de al menos aproximadamente 24 semanas.

En otra modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar a un paciente que tiene una infección del genotipo 1 o 4 de HCV y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 60 semanas, 30

semanas a aproximadamente un año, o de aproximadamente 36 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 48 semanas, o de al menos aproximadamente 24 semanas, o de al menos aproximadamente 30 semanas, o de al menos aproximadamente 36 semanas, o de al menos aproximadamente 40 semanas, o de al menos aproximadamente 48 semanas, o de al menos aproximadamente 60 semanas.

En otra modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar a un paciente que tiene una infección de los genotipos 5, 6, 7, 8 y 9 de HCV y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de aproximadamente 20 semanas a aproximadamente 50 semanas.

En otra modalidad, la presente invención proporciona cualquiera de los métodos antes descritos para el tratamiento de una infección por HCV, en donde el método sujeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar a un paciente que tiene una infección de los genotipos 5, 6, 7, 8 y 9 de HCV y después (2) administrar al paciente la terapia de droga del método sujeto durante un período de tiempo de aproximadamente 24 semanas y de hasta

aproximadamente 48 semanas.

SUJETOS ADECUADOS PARA TRATAMIENTO

Cualquiera de los regímenes de tratamiento anteriores puede administrarse a individuos que se ha diagnosticado con una infección por HCV. Cualquiera de los regímenes de tratamiento anteriores puede administrarse a individuos que han fallado un tratamiento previo para la infección por HCV ("pacientes que fallan al tratamiento", incluyendo los que no responden y los que reinciden).

Los individuos que se han diagnosticado clínicamente como infectados con HCV son de interés particular en muchas modalidades. Los individuos que se encuentran infectados con HCV se identifica que tienen ARN HCV en su sangre, y/o que tienen un anticuerpo anti-HCV en su suero. Tales individuos incluyen individuos anti-HCV positivos a ELISA, e individuos con un inmunoanálisis positivo recombinante (RIBA). Tales individuos pueden tener también, pero no necesariamente, elevados niveles de ALT en suero.

Los individuos que se diagnostican clínicamente infectados con HCV incluyen individuos naturales (e.g., individuos no previamente tratados para HCV, particularmente aquellos que no han recibido previamente terapia a base de IFN-α y/o a base de ribavirina) e individuos que han fallado a un tratamiento previo para HCV (pacientes que "fallan al

tratamiento"). Los pacientes que fallan al tratamiento incluyen los que no responden (e.g., individuos en los cuales la titulación de HCV no se redujo significativa o suficientemente mediante un tratamiento previo para HCV, e.g., una monoterapia de IFN-α previa, o una terapia de combinación previa de IFN-α pegilado y una ribavirina); y reincidentes (i.e., individuos tratados previamente para HCV, e.g., que recibieron una monoterapia de IFN-α previa, una terapia de combinación previa de IFN-α y ribavirina, o una terapia de combinación de IFN-α pegilado y ribavirina, cuya titulación de HCV disminuyó, y subsecuentemente aumentó).

En modalidades particulares de interés, los individuos tienen al menos aproximadamente 10^5, al menos aproximadamente 5×10^5, o , al menos aproximadamente 10^6, o, al menos aproximadamente 2×10^6, copias genómicas de HCV por mililitro de suero. El paciente puede encontrarse infectado con cualquier genotipo de HCV (genotipo 1, incluyendo 1a y 1b, 2, 3, 4, 6, etc., y subtipos (e.g., 2a, 2b, 3a, etc.)), particularmente un genotipo difícil de tratar tal como el genotipo 1 de HCV y subtipos particulares de HCV y quasi especies.

También son de interés individuos HCV positivos (como se describió anteriormente) que exhiben fibrosis severa o cirrosis temprana (no-descompensada, clase Childs's-Pugh clase A o menor), o cirrosis más avanzada (descompensada,

clase Child's-Pugh B o C) debido a infección crónica por HCV y que son virémicos a pesar de un tratamiento anti viral previo con terapias a base de IFN-α o que no pueden tolerar terapias a base de IFN-α, o que tienen una contraindicación a tales terapias. En modalidades particulares de interés, los individuos HCV positivos con etapa 3 o 4 de fibrosis hepática de acuerdo con el sistema de marcación METAVIR son adecuados para el tratamiento con los métodos de la presente invención. En otras modalidades, los individuos adecuados para tratamiento con los métodos de la presente invención son pacientes con cirrosis descompensada con manifestaciones clínicas incluyendo pacientes con cirrosis hepática muy avanzada, incluyendo aquellos que esperan un transplante de hígado. Aún en otras modalidades, los individuos adecuados para tratamiento con los métodos de la presente invención, incluyen pacientes con grados más suaves de fibrosis incluyendo aquellos con fibrosis temprana (etapas 1 y 2 en los sistemas de marcación METAVIR, Ludwig, y Scheuer; o etapas 1, 2, o 3 en el sistema de marcación Ishak).

PREPARACIÓN DE INHIBIDORES NS3

Los compuestos de la fórmula I pueden sintetizarse de acuerdo con los métodos descritos abajo.

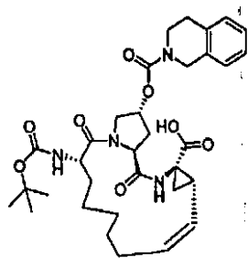
Metodología

Preparación de Compuestos con la Estructura General I

Se utilizaron dos métodos para la preparación de

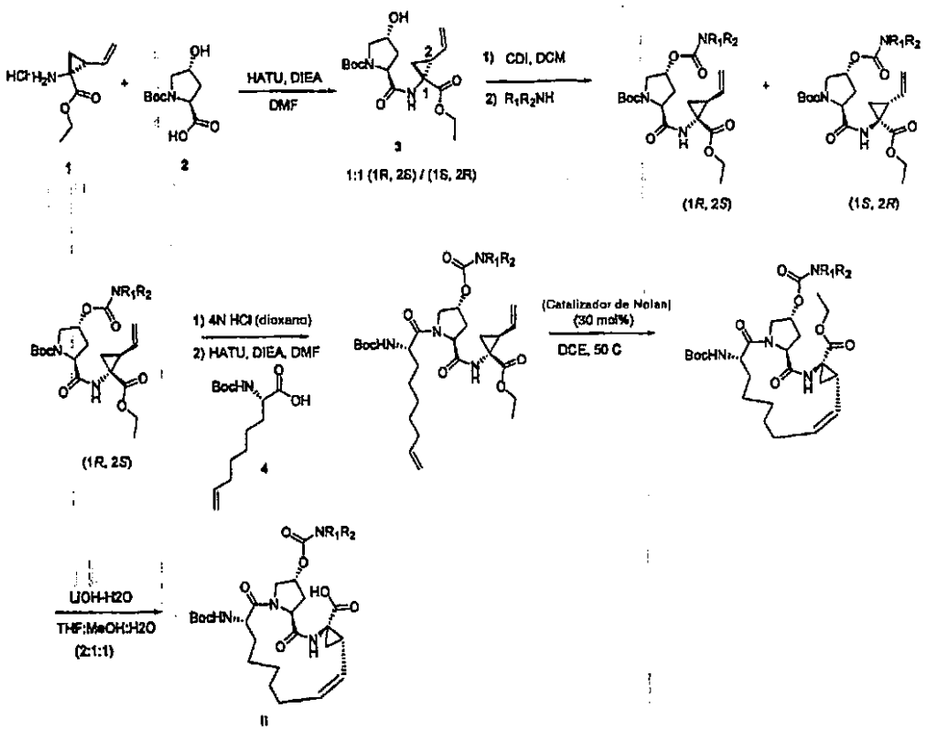
compuestos con la estructura general I. En ambos métodos, se prepararon intermediarios 1 y 4 de acuerdo con los procedimientos descritos en la Solicitud Internacional PCT/CA00/00353 (Publicación No. WO 00/59929). El intermediario 4 también se adquirió de RSP Amino Acids.

Ejemplo 1-1: Síntesis del Compuesto # 101 (Compuesto AR00220042) mediante el Método A:

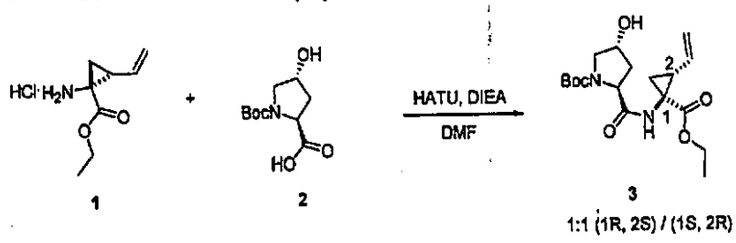


Compuesto # 101 (Compuesto AR00220042)

Método A:



Etapa 1: Síntesis de ter-butil éster de ácido 2S(1-Etoxicarbonil-2-vinil-ciclopropilcarbamoil)-4R-hidroxi-pirrolidina-1-carboxílico (3)

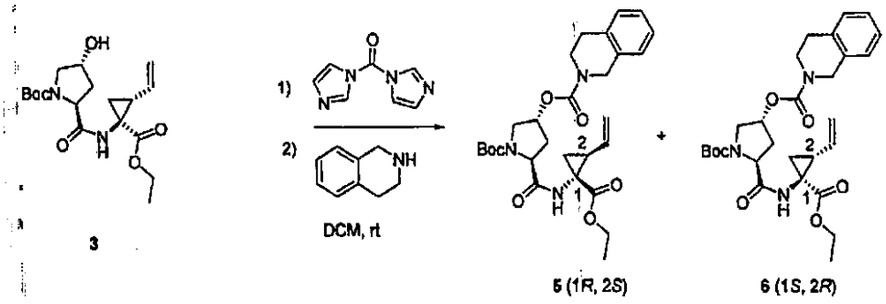


A un matraz cargado con etil-(1R,2S)(1S,2R)-1-amino-2-vinilciclopropil carboxilato (1, 1.0 g, 5.2 mmol), trans-N-(ter-butoxicarbonil)-4-hidroxi-L-prolina (2, 1.3 g, 1.1 equiv.), y HATU (2.7 g, 1.1 equiv.) se agregaron 30 ml de DMF para preparar una solución. Se enfrió a 0°C en un baño

de agua helada, seguido por adición lenta de una solución de DIEA (4.4 ml, 4 equiv.) en DMF (15 ml) mientras se agitó. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante la noche.

Después de 16 horas, la reacción se completó monitoreada por HPLC. Se diluyó con EtOAc (100 ml), se lavó con agua (3 x 40 ml), $NaHCO_3$ saturado (2 x 40 ml), y salmuera (2 x 40 ml), después se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para dar un aceite cobrizo oscuro. El crudo se purificó en gel de sílice (eluyente: acetona/hexanos 3:7), dando 3 puro como un polvo espumoso bronce (770 mg, 32%).

Etapa 2: Síntesis de ácido 3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-carboxílico 1-ter-butoxicarbonil-5-(1R-etoxicarbonil-2S-vinil-ciclopropilcarbamoil)-pirrolidin-3R-il éster (5), y ácido 3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-carboxílico 1-ter-butoxicarbonil-5-(1S-etoxicarbonil-2S-vinil-ciclopropilcarbamoil)-pirrolidin-3R-il éster (6)

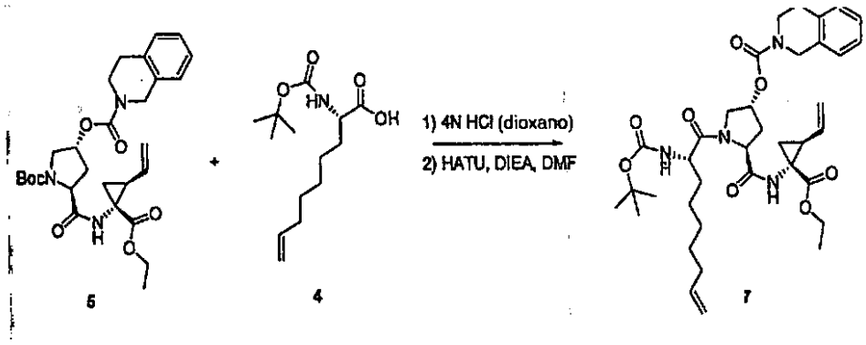


El dipéptido 3 (300 mg, 0.81 mmol) se disolvió en DCM (8 ml), seguido por la adición de CDI (163 mg, 1.2

equiv.) en una porción. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de 15 horas la reacción se completó monitoreada por TLC (DCM/MeOH 9:1). Se agregó 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (0.32 ml, 3 equiv.) a la reacción por porciones, y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche.

Después de 22 horas, TLC mostró la reacción completada. La reacción se diluyó con DCM (15 ml) y se lavó con 1N HCl acuoso (15 ml), salmuera (15 ml), se secó (Na_2SO_4), y se concentró. El crudo se purificó en gel de sílice (eluyente: DCM/Et_2O/acetona 30:10:1). El punto alto aislado (5) fue polvo espumoso blanco (169 mg, 40%), y el punto bajo (6) fue sólido blanco (156 mg, 38%). MS m/e 550 (M^++Na).

Etapa 3: Síntesis de ácido 3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-carboxílico 1-(2S-ter-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-5-(1R-etoxicarbonil-2S-vinil-ciclopropilcarbamoil)-pirrolidin-3R-il éster (7)



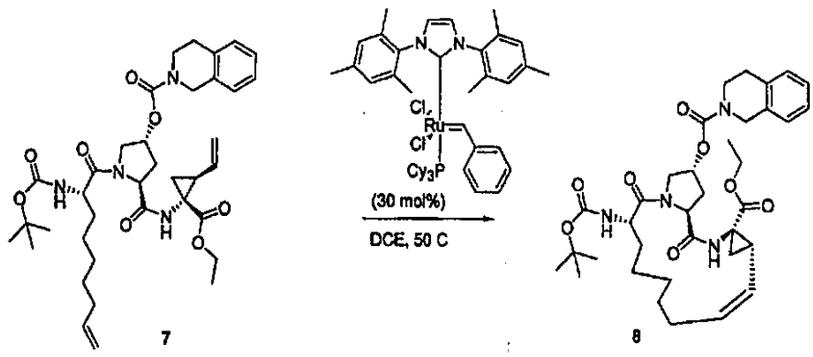
5 4 7

El isómero alto 5 (118 mg, 0.22 mmol) se disolvió en 4N HCl (dioxano, 8 ml) y se dejó a temperatura ambiente

durante 90 minutos para retirar el grupo protector BOC. Entonces se concentró, se absorbió en acetonitrilo y se concentró de nuevo dos veces. A este residuo café claro, se agregó 4 (66.8 mg, 1.1 equiv.) y HATU (93.5 mg, 1.1 equiv.), seguido por 2 ml DMF bajo nitrógeno. La reacción se enfrió en un baño de agua helada durante 15 minutos, después de los cuales se agregaron 0.5 ml de solución DMF de DIEA (0.13 ml, 4 equiv.) a la reacción por goteo mientras se agitó. El baño de hielo se dejó elevar lentamente a temperatura ambiente y la reacción se agitó durante la noche.

Después de 24 horas, la reacción se tornó café oscuro. Su TLC alícuota muestra la reacción completada. La reacción se diluyó con EtOAc (30 ml) y se lavó con agua (3 x 15 ml), $NaHCO_3$ saturado (2 x 15 ml), salmuera (15 ml), se secó (Na_2SO_4) y se concentró para dar 7 como un residuo aceitoso naranja (156 mg). Se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS m/e 703 (M^++Na).

Etapa 4: Síntesis de etil éster de ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (8)

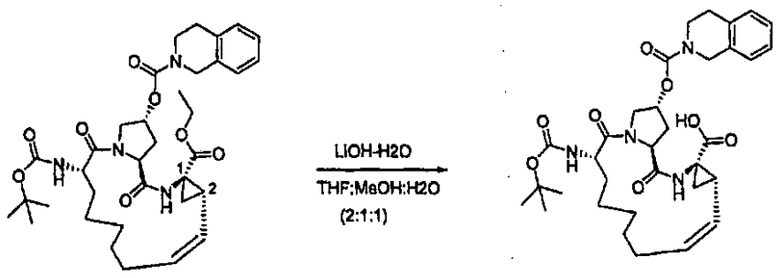


7 8

El crudo 7 (135 mg, 0.2 mmol) se disolvió en 20 ml de DriSolve DCE para preparar una solución, seguido por la adición de catalizador de Nolan (5 mg, 0.3 equiv.) a temperatura ambiente bajo nitrógeno. La solución se volvió púrpura. La reacción se colocó en un baño de aceite pre calentado (50°C) y se agitó durante la noche.

Después de 10 horas, la reacción se volvió café oscuro. TLC (DCM/EtOAc 1:1) mostró una conversión limpia a un nuevo punto con R_f ligeramente más bajo. La reacción se concentró y se purificó en gel de sílice (eluyente: DCM/EtOAc gradiente de 5:1 a 2:1), dando el producto 8 como un polvo espumoso bronce (75 mg, 58%). MS m/e 653.1 (M^++1).

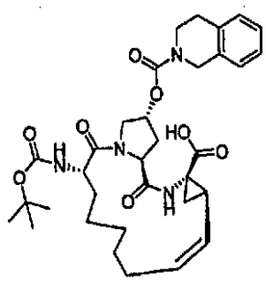
Etapa 5: Síntesis de ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto # 101)



8 Compuesto#101

El éster macrocíclico 8 (60 mg, 0.092 mmol) se disolvió en 0.9 ml de un solvente mezclado (THF/MeOH/H2O 2:1:1), seguido por la adición de LiOH-H_2O (23 mg, 6 equiv.). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de 18 horas, TLC (DCM/MeOH 9:1) mostró un nuevo punto limpio con Rf más bajo. La reacción se concentró a casi sequedad y se dividió entre 1N de HCl acuoso (15 ml) y DCM (20 ml). La capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 10 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron, dando el compuesto # 101 como un polvo espumoso café claro (50 mg, 87%). ^1H NMR (CD_3OD, 400 MHz) δ 1.20-1-67 (m, 21H), 1.70-1.83 (m, 1H), 1.88-2.10 (m, 1H), 2.12-2.58 (m, 4H), 2.82 (m, 2H), 3.60-3.o80 (m, 2H), 3.86 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.35 (m, 1H), 4.54 (s, 7H), 4-58 (m, 3H), 5.29-5.41 (m, 2H), 5.57 (m, 1H), 7.0-7.24 (m, 4H). MS m/e 625.1 (M^++1).

Ejemplo 1-1a:

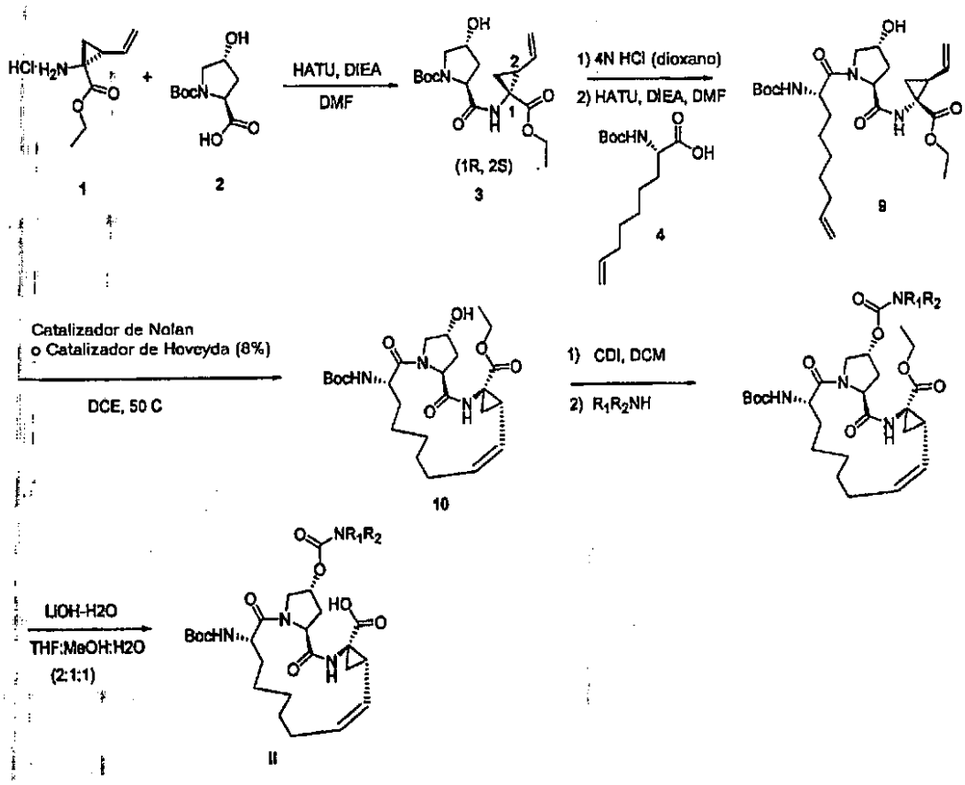


Compuesto AR00220122

Se preparó **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (Compuesto AR00220122) de manera similar de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 1-1, sustituyendo el compuesto 5 con el 6 en la Etapa 3. MS m/e 625 (M^++1).

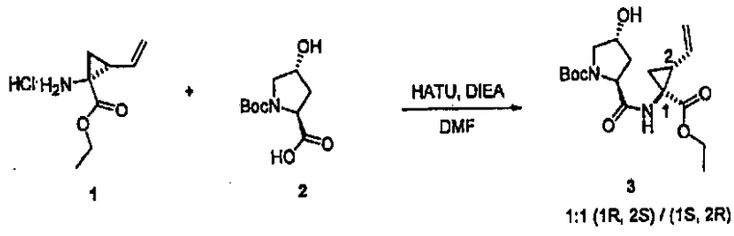
Ejemplo 1-2: Síntesis del Compuesto # 101 (Compuesto AR00220042) mediante el método B:

Método B:



El Compuesto # 101 se preparó también de acuerdo con el procedimiento anterior. La síntesis del intermediario macrocíclico 10 descrita en la presente, es similar a la descrita en la Solicitud Internacional PCT/CA00/00353 (Publicación No. WO 00/59929).

Etapa 1: Síntesis de ter-butil éster de ácido 2S-(1-etoxicarbonil-2-vinil-ciclopropilcarbamoil)-4R-hidroxi-pirrolidina-1-carboxílico (3)

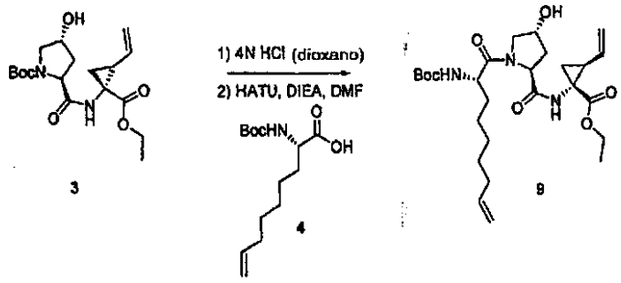


1:1 (1R, 2S) / (1S, 2R)

A un matraz cargado con etil-(1R,2S)(1S,2R)-1-amino-2-vinilciclopropil carboxilato (1, 1.0 g, 5.2 mmol), trans-N-(ter-butoxicarbonil)-4-hidroxi-L-prolina (2, 1.3 g, 1.1 equiv.), y HATU (2.7 g, 1.1 equiv.) se agregaron 30 ml de DMF para preparar una solución. Se enfrió a 0°C en un baño de agua helada, seguido por adición lenta de una solución de DIEA (4.4 ml, 4 equiv.) en DMF (15 ml) mientras se agitó. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante la noche.

Después de 16 horas, la reacción se completó monitoreada por HPLC. Se diluyó con EtOAc (100 ml), se lavó con agua (3 x 40 ml), $NaHCO_3$ saturado (2 x 40 ml), y salmuera (2 x 40 ml), después se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para dar un aceite cobrizo oscuro. El crudo se purificó en gel de sílice (eluyente: acetona/hexanos 3:7), dando 3 puro como un polvo espumoso bronce (770 mg, 32%).

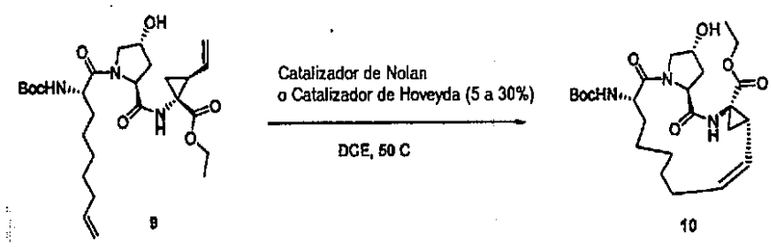
Etapa 2: Síntesis de etil éster de ácido 1R-{[1-(2S-ter-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4R-hidroxi-pirrolidina-2S-carbonil]-amino}-2S-vinil-ciclopropanocarboxílico (9)



El compuesto 3 (2.85 g, 7.7 mmol) se disolvió en 10 ml 4N de HCl (dioxano) y se dejó a temperatura ambiente durante 90 minutos para retirar el grupo protector BOC. Entonces se concentró, se absorbió en acetonitrilo y se concentró de nuevo dos veces. A este residuo café claro, se agregó 4 (2.2 g, 8.1 mmol) y HATU (3.2 g, 8.5 mmol), seguido por 80 ml DMF bajo nitrógeno. La reacción se enfrió en un baño de agua helada durante 15 minutos, después de los cuales se agregaron 5 ml de solución DMF de DIEA (5.4 ml, 30.9 mmol) a la reacción por goteo mientras se agitó. El baño de hielo se dejó elevar lentamente a temperatura ambiente y la reacción se agitó durante la noche.

Después de 18 horas TLC mostró la reacción completada. La reacción se diluyó con EtOAc (300 ml) y se lavó con agua (3 x 150 ml), $NaHCO_3$ saturado (2 x 150 ml), salmuera (150 ml), se secó (Na_2SO_4) y se retiró el solvente. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida de gel de sílice en Biotage 40 M (eluyente = 3% a 5% MeOH en DCM) para dar 9 como un sólido espumoso café (3.5 g, 87%).

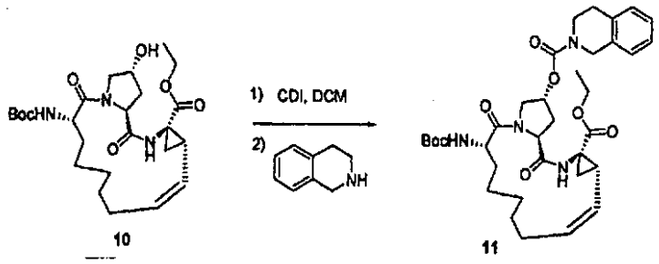
Etapa 3: Síntesis de etil éster de ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-18-hidroxi-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (10)



El compuesto 9 (2.6 g, 5.0 mmol) se disolvió en 500 ml de DriSolve DCE en un matraz de fondo redondo para preparar una solución. Se desgasificó mediante nitrógeno burbujeante a lo largo de 1 hora. Después se agregó el catalizador Hoveyda (0.25 equiv.) a temperatura ambiente bajo nitrógeno. La reacción se colocó en un baño de aceite pre calentado (50°C) y se agitó durante la noche. Después de 16 horas, la reacción se volvió café oscuro. TLC (DCM/EtOAc 1:1) mostró una conversión limpia a un nuevo punto con R_f ligeramente más bajo. La reacción se concentró y se purificó en gel de sílice (Biotage 40 M, eluyente: DCM/EtOAc gradiente de 1:1 a 1:2), dando el producto 10 como un polvo espumoso bronce (0.64 g, 52%). ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1.21 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 1.43 (s, 9H), 1.20-1.50 (m, 6H), 1.52-1.68 (m, 2H), 1.83-1.96 (m, 2H), 1.98-2.28 (m, 4H), 2.60 (m, 1H), 3.13 (brs, 1H), 3.68 (m, 1H), 3.94 (m, 1H), 4.01-4.19 (m, 2H), 4.48 (m, 1H), 4.56 (brs, 1H), 4.79 (m, 1H), 5.26 (t, J = 9.4 Hz, 1H), 5.36 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 5.53 (m, 1H), 7.19 (brs, 1H). MS m/e 494.0 (M^++1).

Etapa 4: Síntesis de etil éster de ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-

14-ter-butoxicarbonilamino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (11)

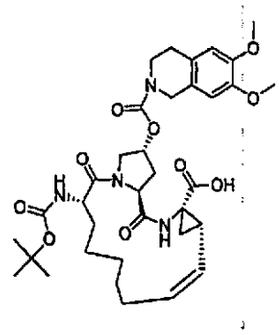


El intermediario macrocíclico 10 (110 mg, 0.22 mmol) se disolvió en DCM (2.2 ml) seguido por la adición de CDI (45 mg, 0.27 mmol) en una porción. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de 15 horas, la reacción se completó monitoreada por TLC (DCM/MeOH 9:1). Se agregó 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (0.14 ml, 1.1 mmol) a la reacción por goteo, y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de 22 horas, TLC mostró la reacción completada. La reacción se diluyó con DCM (6 ml) y se lavó con 1N HCl acuoso (2 x 2 ml), bicarbonato de sodio saturado (2 ml), salmuera (2 ml), se secó (Na_2SO_4), y se concentró. El crudo se purificó en gel de sílice (Biotage 40S, eluyente: 2 a 4% MeOH en DCM) dando 11 como un polvo espumoso amarillo pálido (131 mg, 90%).

Etapa 5: El Compuesto 11 se hidrolizó de la misma manera descrita en la Etapa 5 del Ejemplo 1-1 para dar el compuesto # 101.

Los siguientes compuestos también se prepararon de acuerdo con el Método B antes descrito, siendo sustituida la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinilina por otras varias aminas secundarias. La mayoría de estas aminas se adquirieron de fuentes comerciales, o son compuestos conocidos en la literatura, por tanto se prepararon utilizando los procedimientos listados en la presente (1. Stokker, G. E. Tetrahedron Lett. 1996, 37(31), 5453-5456, 2. Chan, N. W. Bioorganic & Medicinal Chemistry 2000, 8, 2085-2094, 3. Vecchietti, V. et al., J. Med. Chem. 1991, 34, 2624-2633). Para aquellas entradas amina que no se prepararon directamente de acuerdo con los procedimientos de la literatura, o en las que la entrada específica no se ha reportado antes en la literatura hasta donde tenemos conocimiento, sus síntesis se proporcionan dentro de cada ejemplo.

Ejemplo 1-3:

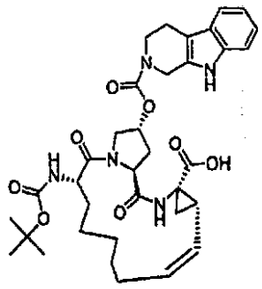


Compuesto AR00226824

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-**

butoxicarbonilamino-18-(6,7-dimetoxi-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00226824) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. MS m/e 585.2 (M^++1-100).

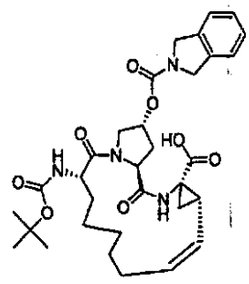
Ejemplo 1-4:



Compuesto AR00226825

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-18-(1,3,4,9-tetrahidro-b-carbolina-2-carboniloxi)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00226825) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 2,3,4,9-tetrahidro-1H-b-carbolina en la Etapa 4. MS m/e 564.2 (M^++1-100).

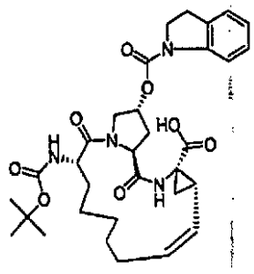
Ejemplo 1-5:



Compuesto AR00291871

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00291871) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 2,3-dihidro-1H-isoindolo en la Etapa 4. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ 1.21-1.44 (m, 8H), 1.32 (s, 9H), 1.54-1.62 (m, 2H), 1.78-1.88 (m, 2H), 2.04-2.13 (m, 1H), 2.16-2.23 (m, 1H), 2.24-2.36 (m, 2H), 2.66-2,74 (m, 1H), 3.87-3.90 (m, 1H), 4.15 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 4.37-4.43 (m, 1H), 4.61-4.77 (m, 5H), 5.18 (t, J = 10.3 Hz, 1H), 5.24-5.31 (m, 1H), 5.40-5.45 (m, 1H), 5.58-5.66 (m, 1H), 7.11-7.30 (m, 4H). MS m/e 611.0 (M^++1).

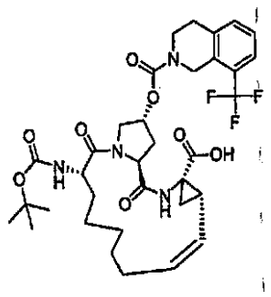
Ejemplo 1-6:



Compuesto AR00291875

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-18-(2,3-dihidro-indolo-1-carboniloxi-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00291875) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 2,3-dihidro-1H-indolo en la Etapa 4. MS m/e 611.0 (M^++1).

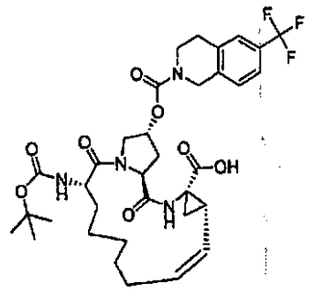
Ejemplo 1-7:



Compuesto AR00294382

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-18-(8-trifluorometil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00294382) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 8-trifluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. MS m/e 693.0 (M^+).

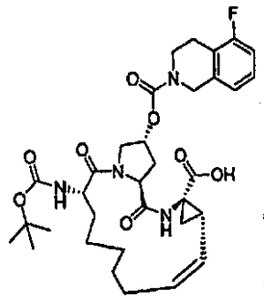
Ejemplo 1-8:



Compuesto AR00294383

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-2,15-dioxo-18-(6-trifluorometil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00294383) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 6-trifluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.46-7.38 (m, 2H), 7.26-7.18 (m, 1H), 6.98 (s, 1H), 5.62 (q, 1H), 5.42 (s, 1H), 5.21-5.15 (m, 2H), 4.78-4.60 (m, 3H), 4.40 (s, 1H), 4.16-4.00 (m, 1H), 3.92-3.81 (m, 1H), 3.80-3.60 (m, 2H), 3.00-2.85 (m, 2H), 2.72-2.64 (brs, 1H), 2.40-1.18 (m, 20H). MS m/e 693.0 (M^+).

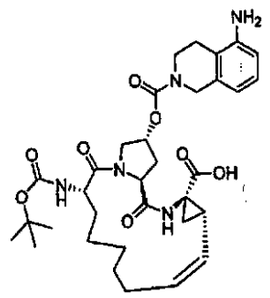
Ejemplo 1-9:



Compuesto AR00294384

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-18-(5-fluoro-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00294384) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 5-trifluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.19-7.11 (m, 1H), 7.05 (m, 1H), 6.91 (t, 2H), 5.62 (q, 1H), 5.40 (s, 1H), 5.24 (d, 1H), 5.20 (t, 1H), 4.78 (s, 1H), 4.64-4.56 (m, 2H), 4.42 (s, 1H), 4.12-4.02 (m, 1H), 3.92-3.81 (m, 1H), 3.78-3.61 (m, 2H), 2.84-2.80 (m, 2H), 2.74-2.64 (m, 1H), 2.36-2.18 (m, 2H), 1.91-1.81 (m, 2H), 1.64-1.54 (m, 2H), 1.48-1.10 (m, 15H). MS m/e 643.0 (M^+).

Ejemplo 1-10:

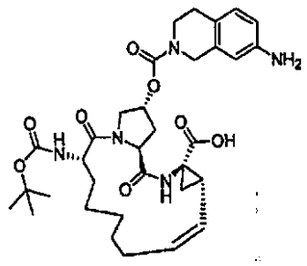


Compuesto AR00301745

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(5-amino-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-**

triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00301745) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. MS m/e 640.1 (M^+).

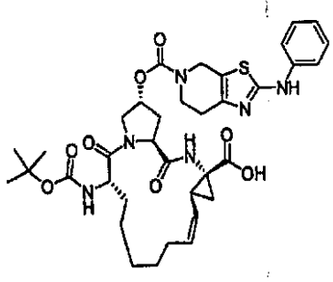
Ejemplo 1-11:



Compuesto AR00301749

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(7-amino-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00301749) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 7-amino-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. MS m/e 640.1 (M^+), 641.1 (M^++1).

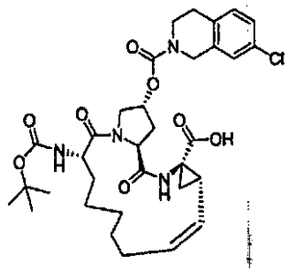
Ejemplo 1-12:



Compuesto AR00304000

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-2,15-dioxo-18-(2-fenilamino-6,7-dihidro-4H-tiazolo[5,4-c]piridina-5-carboniloxi-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00304000) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó fenilo-(4,5,6,7-tetrahidro-tiazolo[5,4-c]piridin-2-il)-amina en la Etapa 4. MS m/e 721.2 (M-1).

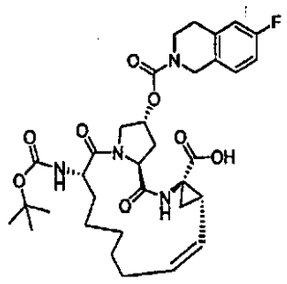
Ejemplo 1-13:



Compuesto AR00304062

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(7-cloro-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00304062) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 7-cloro-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. MS m/e 659.0 (M^+), 661.0 (M^++2).

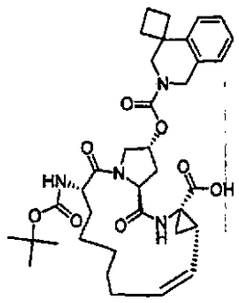
Ejemplo 1-14:



Compuesto AR00304063

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(6-fluoro-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00304063) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 6-fluoro-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. MS m/e 643.0 (M^+), 644.0 (M^++1).

Ejemplo 1-15:



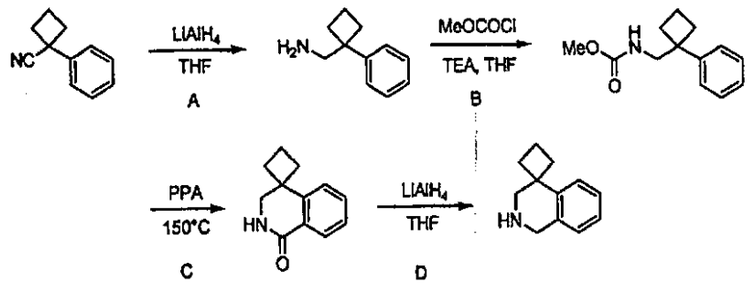
Compuesto AR00304065

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(4,4-spirociclobutil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto

AR00304065) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 4,4-spirociclobutil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-acetona) δ 7.99 (d, 1H), 7.57-7.66 (m, 1H), 7.27 (t, 1H), 7.09-7.22 (m, 2H), 5.99 (bs, 1H), 5.56 (dd, 1H), 5.42 (bs, 1H), 5.19-5.30 (m, 1H), 4.52-4.70 (m, 1H), 4.27-4.42 (m, 1H), 4.17-4.27 (m, 1H), 3.91 (dd, 1H), 3.63-3.82 (m, 2H), 2.22-2.51 (m, 6H), 1.93-2.20 (m, 3H), 1.79-1.91 (m, 1H), 1.52-1.66 (m, 1H), 1.16-1.50 (m, 19H). MS m/e 665.1 (M^+).

Ejemplo 1-15a:

Preparación de 4,4-spiroclorobutil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina:



A: A una solución de 1-fenil-1-ciclopropano carbonitrilo (2.00 g, 12.7 mmol) en 100 ml de THF se agregó una solución dde 1.0 M de LiAlH (19.1 ml, 19.1 mmol) por goteo a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas, después se reposó lentamente a 0°C con 10 ml de H2O y después 10 ml de 1.0 N de NaOH y se agitó a temperatura ambiente durante 1.5 horas. La

solución se filtró, y se retiró el THF mediante evaporación giratoria. El acuoso se extrajo con EtOAc, y el extracto orgánico se lavó con H2O y salmuera, se secó sobre Na2SO4, y se concentró para dar 0.70 g (34%) de un aceite claro que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

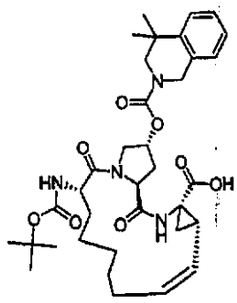
B: A una solución de C-(1-fenil-ciclobutil)-metilamina (0.70 g, 4.34 mmol) y TEA (0.67 ml, 4.78 mmol) en 40 ml de THF a 0°C se agregó cloroformato de metilo por goteo. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. Al día siguiente se agregó agua y EtOAc y la capa orgánica se separó y se lavó con 1N de HCl y salmuera, se secó sobre Na2SO4, se concentró hasta un aceite, y se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

C: Una mezcla de metil éster de ácido (1-fenil-ciclobutilmetil)-carbámico (0.95 g, 4.34 mmol) y PPA (20 ml) se agregó a un baño de arena precalentado a 150°C. después de 30 minutos la reacción se enfrió a temperatura ambiente. Después de enfriar, se agregó agua por goteo y la solución se extrajo dos veces con DCM. Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na2SO4 y se concentraron hasta un aceite claro que se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

D: A una solución de 3,4-dihidro-2H-isoquinolin-

1-ona (0.406 g, 2.17 mmol) en 20 ml de THF a 0°C se agregó una solución de 1.0 M de LiAlH (3.26 ml, 3.26 mmol) por goteo. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 15 horas, después se reposó lentamente a 0°C con 5 ml de H2O y después 5 ml 1.0 N de NaOH y se agitó a temperatura ambiente durante 1.5 horas. La solución se filtró, y el THF se retiró mediante evaporación giratoria. El acuoso se extrajo con EtOAc, y el extracto orgánico se lavó H2O y salmuera, se secó sobre Ma2SO4, y se concentró para dar 0.21 g (56%) de un aceite claro que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo 1-16:

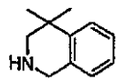


Compuesto AR00304066

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(4,4-dimetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00304066) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 4,4-dimetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la

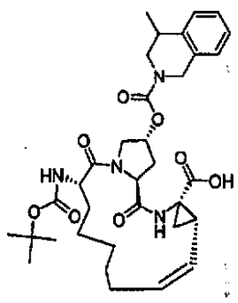
Etapa 4. ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-acetona) δ 7.98 (d, 1H), 7.39 (bs, 1H), 7.09-7.24 (m, 3H), 5.99 (bs, 1H), 5.57 (dd, 1H), 5.37-5.46 (bs, 1H), 5.24 (dd, 1H), 4.55-4.69 (m, 1H), 4.26-4.36 (m, 1H), 4.16-4.26 (m, 1H), 3.90 (dd, 1H), 3.40-3.49 (m, 1H), 2.28-2.50 (m, 4H), 1.98-2.09 (2H), 1.79-1.92 (m, 1H), 1.52-1.65 (m, 3H), 1.16-1.51 (m, 22H). MS m/e 653.0 (M^++1).

Ejemplo 1-16a:



4,4-dimetil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina se preparó siguiendo las etapas experimentales A a D en el Ejemplo 1-15a, 2-metil-2-fenil-propionitrilo (preparado de acuerdo con Caron, S.; Vasquez, E.; Wojcik, J. M. J. Am. Chem. Soc. 2000, 122, 712-713) se convirtió en el compuesto del título.

Ejemplo 1-17:

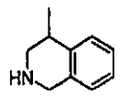


Compuesto AR00304067

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(4-metil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-**

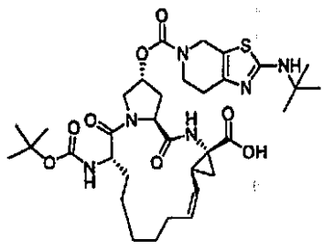
triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304067) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 4-metil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. ^{1}H NMR (400 MHz, d_6-acetona) δ 7.93-8.03 (m, 1H), 7.40-7.28 (m, 4H), 6.02 (bs, 1H), 5.56 (dd, 1H), 5.40 (m, 1H), 5.23 (dd, 1H), 4.66-4.85 (m, 1H), 4.54-4.64 (m, 1H), 4.34-4.54 (m, 1H), 4.17-4.34 (m, 1H), 3.91 (dd, 1H), 3.57-3.78 (m, 1H), 3.42-3.57 (m, 1H), 2.26-2.52 (m, 4H), 1.96-2.09 (m, 2.0), 1.77-1.92 (m, 1.0), 1.50-1.64 (m, 3.0), 1.13-1.50 (m, 17h). MS m/z 639.0 (M^++1).

Ejemplo 1-17a:



4-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina se preparó a partir de 2-fenil-propilamina de acuerdo con Grunewald, G. L.; Sall, D. J.; Monn, J. A. J. Med. Chem. 1988, 31, 433-444.

Ejemplo 1-18:

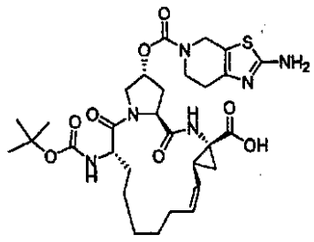


Compuesto AR00304103

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-18-(2-ter-metilamino-6,7-dihidro-4H-**

tiazolo[5,4-c]piridina-5-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304103) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó ter-butil-(4,5,6,7-tetrahidro-tiazolo[5,4-c]piridin-2-il)-amina en la Etapa 4. MS m/e 731.2 (M^++1).

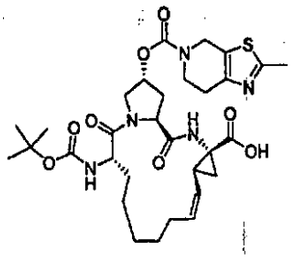
Ejemplo 1-19:



Compuesto AR00304154

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(2-amino-6,7-dihidro-4H-tiazolo[5,4-c]piridina-5-carboniloxi)-14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00304154) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 4,5,6,7-tetrahidro-tiazolo[5,4-c]piridin-2-il)-amina en la Etapa 4. MS m/e 675.1 (M^++1).

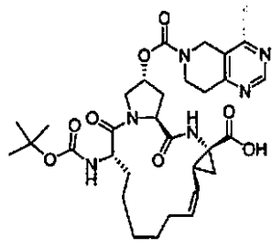
Ejemplo 1-20:



Compuesto AR00304158

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(2-metil-6,7-dihidro-4H-tiazolo[5,4-c]piridina-5-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00304158) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 2-metil-4,5,6,7-tetrahidro-tiazolo[5,4-c]piridina en la Etapa 4. MS m/e 546.2 (M^++1-100).

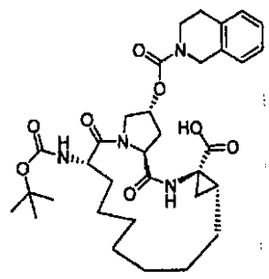
Ejemplo 1-21:



Compuesto AR00304183

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidina-6-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00304183) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 5,6,7,8-tetrahidro-pirido[4,3-d]pirimidina en la Etapa 4. MS m/e 625.2 (M^++1).

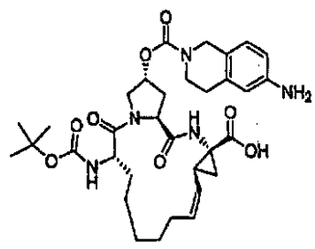
Ejemplo 1-22:



Compuesto AR00312023

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00312023) de acuerdo con el Método B, excepto que el producto de metástasis de cierre de anillo 10 de la etapa 3 se redujo adicionalmente con H_2/Rh-Al_2O_3 antes de la siguiente etapa de acoplamiento (WO 0059929, pp. 76-77). MS m/e 625.3 (M^++1).

Ejemplo 1-23:

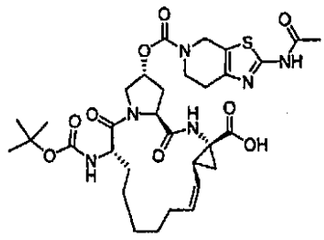


Compuesto AR00314578

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(6-amino-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-**

triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00314578) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-6-ilamina en la Etapa 4. MS (POS ESI) m/z 540.2 [origen, (M^++1)-100 (grupo Boc)].

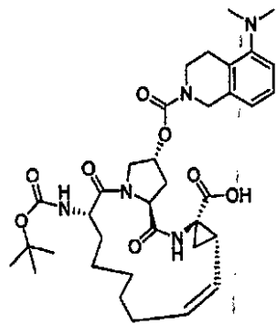
Ejemplo 1-24:



Compuesto AR00314685

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(2-acetilamino-6,7-dihidro-4H-tiazolo[5,4-c]piridina-5-carboniloxi)-14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00314685) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó N-(4,5,6,7-tetrahidro-tiazolo[5,4-c]piridin-2-il)-acetamida en la Etapa 4. MS m/e 589.2 (M^++1-100).

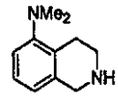
Ejemplo 1-25:



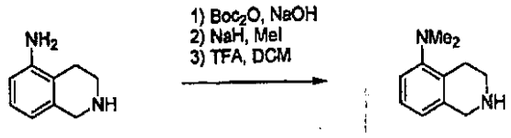
Compuesto AR00315997

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-18-(5-dimetilamino-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00315997) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó dimetil-(1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-5-il)-amina (Ejemplo 1-25a). MS m/e 668.0 (M^+).

Ejemplo 1-25a



La síntesis de dimetil-(1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-5-il)-amina se describe en el esquema siguiente:

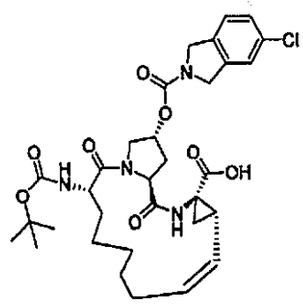


A una solución de 5-aminotetrahidroisoquinolina (3.68 g, 24.8 mmol) en 1,4-dioxano (100 ml) se agregó 3 N de NaOH (8.27 ml, 24.8 mmol). después de enfriar a 0°C, se agregó $(Boc)_2$° (5.42 g, 24.8 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml) por goteo y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vació en agua y se extrajo con EtOAc (2x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada acuosa de $NaHCO_3$, agua, y salmuera, después se secaron y se concentraron. El residuo se purificó mediante

cromatografía de gel de sílice para dar 5.44 g (88%) del producto deseado Boc-protegido como un sólido blanco.

A una solución del producto de la etapa previa descrita anteriormente (0.2 g, 0.81 mmol) en THF (5 ml) se agregó NaH a 0°C. Después de 15 minutos, se agregó CH_3I y continuó la agitación durante la noche a temperatura ambiente. Después de completarse, la mezcla de reacción se reposó con agua helada, se extrajo con EtOAc (2 ml), se secó (Na_2SO_4) y se concentró. El grupo Boc se retiró con 60% TFA-DCM (2 ml) a 0°C para dar 110 mg (77.5%) del producto final como un sólido verdoso claro. MS: 177.1 (MH^+).

Ejemplo 1-26:

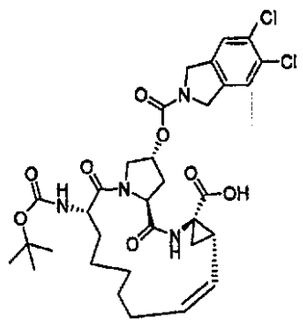


Compuesto AR00315998

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(5-cloro-1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00315998) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindolo. ^1H NMR (400 MHz,

$CDCl_3$) δ 7.24-7.02 (m, 3H), 6.82 (s, 1H), 5.68-5.51 (m, 1H), 5.36 (s, 1H), 5.11-4.96 (m, 2H), 4.67-4.44 (m, 5H), 4.29-4.20 (m, 1H), 4.20-4.11 (m, 1H), 3.82-3.74 (m, 1H), 2.69-2.55 (m, 1H), 2.31-2.15 (m, 1H), 2.14-2.06 (m, 1H), 2.03 (s, 1H), 2.01-1.86 (m, 1H), 1.86-1.24 (m, 11H), 1.22 (s, 9H). MS m/e 644.9 (M^+), 646.9 (M^++2).

Ejemplo 1-27:

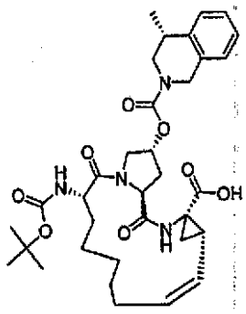


Compuesto AR00315999

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(5,6-dicloro-1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00315999) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 5,6-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindolo. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.06 (s, 1H), 5.57-5.50 (m, 1H), 5.33 (s, 1H), 5.23-5.09 (m, 2H), 4.73-4.65 (m, 1H), 4.64-4.48 (m, 5H), 4.33-4.29 (m, 1H), 4.11-4.02 (m, 1H), 3.82-3.74 (m, 1H), 2.73-2.61 (m, 1H), 2.29-2,08 (m, 3H), 2.01 (s, 1H), 1.83-1.65 (m, 2H), 1.63-1.46 (m, 2H), 1.40-1.12 (m,

15H). MS m/e 678.9 (M^+), 681 (M^++2).

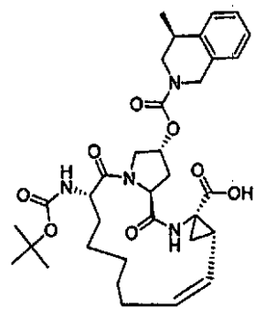
Ejemplo 1-28:



Compuesto AR00320122

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(4R-metil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00320122) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 4R-metil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.02-7.24 (m, 3H), 5.59 (dd, 1H), 5.30-5.44 (m, 2H), 4.66-4.81 (m, 1H), 4.14-4.64 (m, 3H), 3.83-3.92 (m, 1H), 3.58-3.81 (m, 1H), 3.44-3.56 (m, 1H), 2.86-3.86 (m, 1H), 2.23-2.58 (m, 4H), 1.87-2.13 (m, 2H), 1.70-1.87 (m, 1H), 1.50-1.70 (m, 3H), 1.07-1.51 (m, 19H), 0.80-0.96 (m, 2H). MS m/z 639.0 (M^++1).

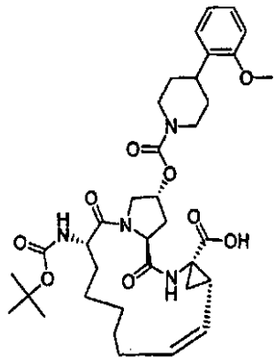
Ejemplo 1-29:



Compuesto AR00320123

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(4S-metil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00320123) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 4S-metil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.01-7.23 (m, 3H), 5.58 (dd, 1H), 5.32-5.45 (m, 2H), 4.66-4.82 (m, 1H), 4.12-4.64 (m, 3H), 3.86-3.94 (m, 1H), 3.52-3.74 (m, 1H), 3.43-3.56 (m, 1H), 2.88-3.85 (m, 1H), 2.24-2.60 (m, 4H), 1.87-2.15 (m, 2H), 1.71-1.87 (m, 1H), 1.52-1.70 (m, 3H), 1.07-1.52 (m, 19H), 0.80-0.96 (m, 2H). MS m/z 639.0 (M^++1).

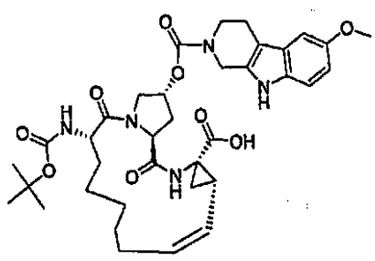
Ejemplo 1-30:



Compuesto AR00320576

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-18-[4-(2-metoxi-fenil)-piperidina-1-carboniloxi]-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00320576) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 4(2-metoxi-fenil)-piperidina. MS m/e 583.3 (M^++1-100).

Ejemplo 1-31:

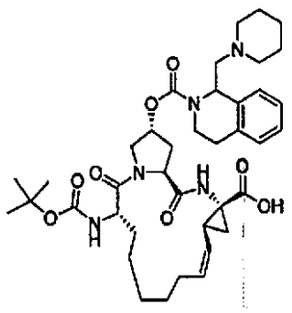


Compuesto AR00320577

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-18-(6-metoxi-1,3,4,9-tetrahidro-b-carbolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto

AR00320577) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 6-metoxi-2,3,4,9-terahidro-1Hb-carbolina. MS m/e 594.2 (M^++1-100).

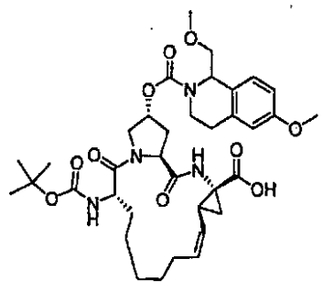
Ejemplo 1-32:



Compuesto AR00301383

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-2,15-dioxo-18-(1-piperidin-1-ilmetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina)-2-carboniloxi)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00301383) de acuerdo con el Método B, excepto que se utilizó 1-piperidin-1-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.33-7.24 (m, 4H), 7.20 (brs, 1H), 6.61 (brs, 1H), 5.75-5.52 (m, 2H), 5.50-5.33 (m, 2H), 4.63-4.43 (m, 2H), 4.42-4.07 (m, 4H), 3.96 (brs, 1H), 3.67-3.11 (m, 5H), 3.06-2.88 (m, 2H), 2.86-2.74 (m, 2H), 2.56-2.35 (m, 3H), 2.23 (q, 1H), 2.04-1.90 (m, 2H), 1.89-1.52 (m, 10H), 1.52-1.32 (m, 12H); MS (POS APCI) m/z 722.3 (M^++1).

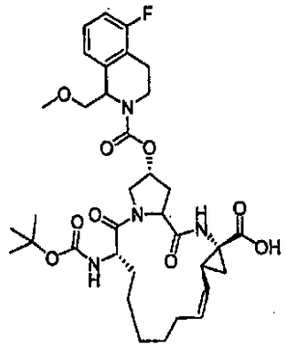
Ejemplo 1-33:



Compuesto AR00333842

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(6-metoxi-1-metoximetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00333842) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 1-2, excepto que se utilizó cloruro de 6-metoxi-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. MS (APCI-) m/z 697.2 (M^++1).

Ejemplo 1-34:

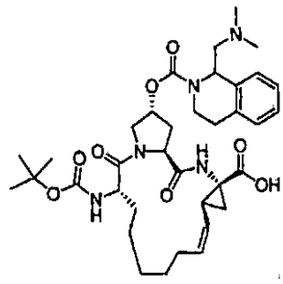


Compuesto AR00365349

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(5-fluoro-1-metoximetil-3,4-dihidro-**

1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00365349) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 1-2, excepto que se utilizó cloruro de 5-fluoro-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. MS (APCI-) m/z 685.3 (M^-1).

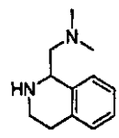
Ejemplo 1-35:



Compuesto AR00333224

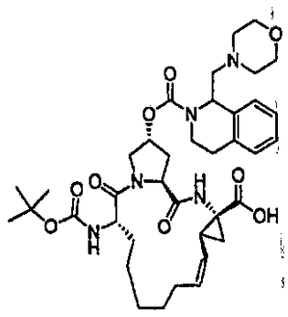
Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-18-(1-dimetilaminometil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00365349) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 1-2, excepto que se utilizó dimetil-(1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-1-ilmetil)-amina (sintetizada de acuerdo con el Ejemplo 1-35a) para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. MS (APCI+) m/z 582.3 (M^+-Boc).

Ejemplo 1-35a:



Se sintetizó dimetil-(1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-1-ilmetil)-amina de un modo similar al mostrado en el Ejemplo 3-76a, excepto que en la Etapa 1, se utilizó fenetilamina para reemplazar 2-(3-metoxi-fenil)-etilamina, y que en la primera parte de la Etapa 3, se utilizó dimetilamina para reemplazar metóxido de sodio como el nucleófilo. El producto crudo se utilizó directamente en la siguiente etapa de acoplamiento sin purificación adicional.

Ejemplo 1-36:

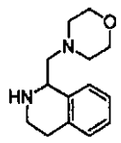


Compuesto AR00333225

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(1-morfolin-4-ilmetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00333225) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 1-2, excepto que se utilizó 1-morfolin-4-ilmetil-

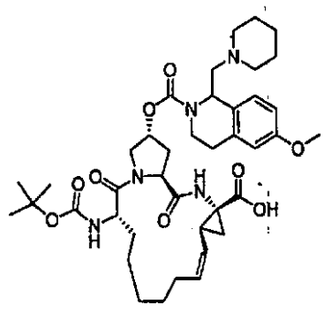
1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina (sintetizada de acuerdo con el Ejemplo 1-36a) para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. MS (APCI-) m/z 722.3 (M-1).

Ejemplo 1-36a:



Se sintetizó 1-morfolin-4-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina de un modo similar al mostrado en el Ejemplo 3-76a, excepto que en la Etapa 1, se utilizó fenetilamina para reemplazar 2-(3-metoxi-fenil)-etilamina, y que en la primera parte de la Etapa 3, se utilizó morfolina para reemplazar metóxido de sodio como el nucleófilo. El producto crudo se utilizó directamente en la siguiente etapa de acoplamiento sin purificación adicional.

Ejemplo 1-37:

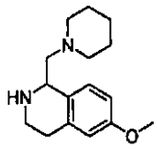


Compuesto AR00333248

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-18-(6-metoxi-1-piperidin-1-ilmetil-3,4-**

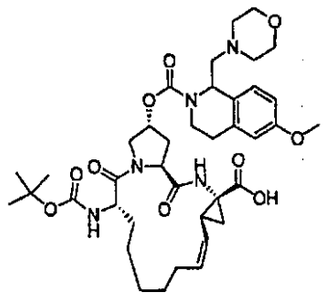
dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00333248) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 1-2, excepto que se utilizó 6-metoxi-1-piperidin-1-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina (sintetizada de acuerdo con el Ejemplo 1-37a) para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. MS (APCI-) m/z 750.4 (M-1).

Ejemplo 1-37a:



Se sintetizó 6-metoxi-1-piperidin-1-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina de un modo similar al mostrado en el Ejemplo 3-76a, excepto que en la primera parte de la Etapa 3, se utilizó piperidina para reemplazar metóxido de sodio como el nucleófilo. El producto crudo se utilizó directamente en la siguiente etapa de acoplamiento sin purificación adicional.

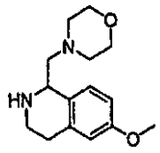
Ejemplo 1-38:



Compuesto AR00333276

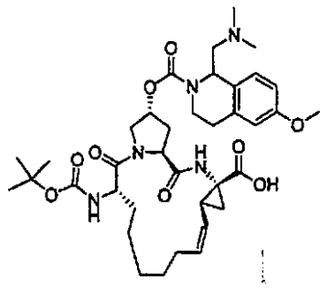
Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(6-metoxi-1-morfolin-4-ilmetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00333276) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 1-2, excepto que se utilizó 6-metoxi-1-morfolin-4-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina (sintetizada de acuerdo con el Ejemplo 1-38a) para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. MS (APCI-) m/z 750.3 (M-1).

Ejemplo 1-38a:



Se sintetizó 6-metoxi-1-morfolin-4-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina de un modo similar al mostrado en el Ejemplo 3-76a, excepto que en la primera parte de la Etapa 3, se utilizó morfolina para reemplazar metóxido de sodio como el nucleófilo. El producto crudo se utilizó directamente en la siguiente etapa de acoplamiento sin purificación adicional.

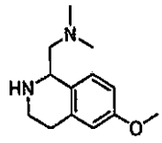
Ejemplo 1-39:



Compuesto AR00333277

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-(1-dimetilaminometil-6-metoxi-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00333277) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 1-2, excepto que se utilizó (6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-1-ilmetil)-dimetilamina (sintetizada de acuerdo con el Ejemplo 1-39a) para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. MS (APCI+) m/z 712.3 (MH+).

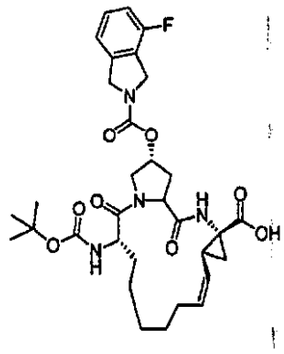
Ejemplo 1-39a:



Se sintetizó (6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-1-ilmetil)-dimetilamina de un modo similar al mostrado en el Ejemplo 3-76a, excepto que en la primera parte de la Etapa 3, se utilizó dimetilamina para reemplazar metóxido de sodio como el nucleófilo. El producto crudo se

utilizó directamente en la siguiente etapa de acoplamiento sin purificación adicional.

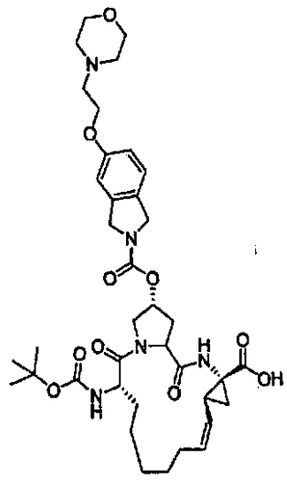
Ejemplo 1-40:



Compuesto AR00365369

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-18-(4-fluoro-1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00365369) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 1-2, excepto que se utilizó 4-fluoro-2,3-dihidro-1H-isoindolo (sintetizado de acuerdo con el Ejemplo 3-55a) para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO) δ 12.21 (brs, 1H), 8.66 (brs, 1H), 7.35 (q, 1H), 7.19 (d, 1H), 7.11 (q, 2H), 7.03 (brs, 1H), 5.51 (q, 1H), 5.33-5.21 (m 2H), 4.66 (m, 4H), 4.22 (q, 1H), 4.24 (t, 1H), 3.99-3.89 (m, 1H), 3.73-3.64 (m, 1H), 2.65-2.55 (m, 1H), 2.28-2.08 (m, 3H), 1.77-1.61 (m, 2H), 1.54-1.42 (m, 1H), 1.42-1.03 (m, 16H); MS (APCI-) m/z 627.3 (M-1).

Ejemplo 1-41:

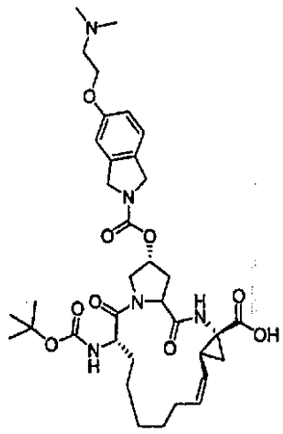


Compuesto AR00371946

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-[5-(2-morfolin-4-il-etoxi)-1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00371946) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 1-2, excepto que se utilizó 5(2-morfolin-4-il-etoxi)-2,3-dihidro-1H-isoindolo (preparado de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, No. 26, 5771, método de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett 11 (2001) 685-688). Para N-Boc amina protegido la entrada: ^{1}H NMR (500 MHz, CDCl3) δ 7.13 (dd, 1H), 6.85-6,74 (m, 2H), 4.61 (t, 4H), 4.10 (t, 2H), 3.73 (t, 4H), 2.81 (t, 2H), 2.61-2.54 (m, 4H), 1.51 (s, 9H); MS (APCI+) m/z 349.1 (M+1)) se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. MS (APCI+): m/z 640.3 [(M+1)-

Boc].

Ejemplo 1-42:

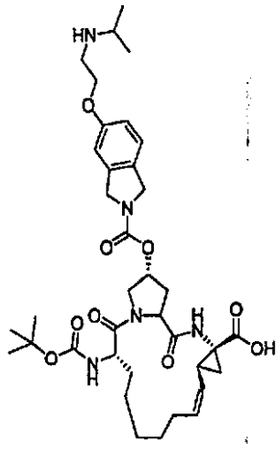


Compuesto AR00371947

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-[5-(2-dimetilamino-etoxi)-1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00371947) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 1-2, excepto que se utilizó [2-(2,3-dihidro-1H-isoindol-5-iloxi)-etil]-dimetil-amina (preparada de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, No. 26, 5771, método de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett 11 (2001) 685-688). Para N-Boc amina protegido la entrada: ^{1}H NMR (500 MHz, CDCl3) δ 7.14 (dd, 1H), 6.88-6,76 (m, 2H), 4.61 (t, 4H), 4.04 (t, 2H), 2.72 (t, 2H), 2.34 (s, 6H), 1.50 (s, 9H); MS (APCI+) m/z 307.1 (M+1)) se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa

4. MS (APCI+): m/z 698.2 (M+1).

Ejemplo 1-43:

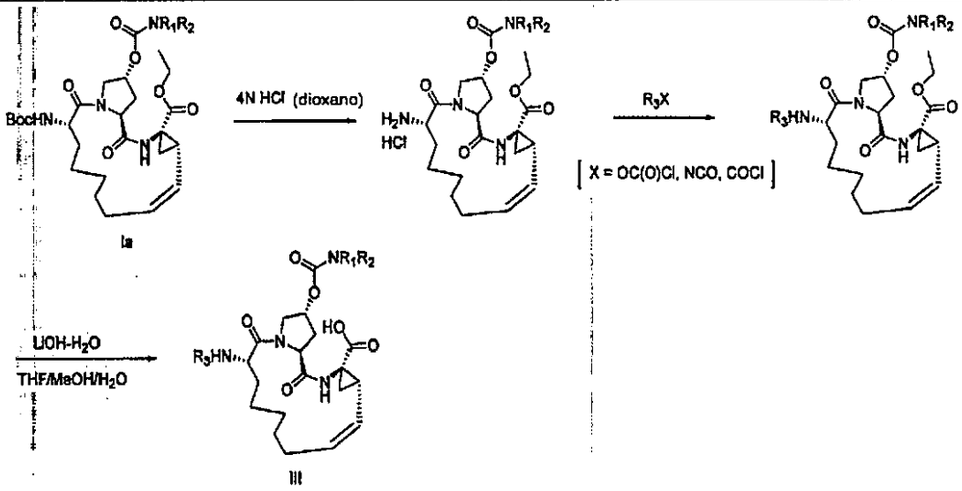


Compuesto AR00371948

Se sintetizó el **ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-terbutoxicarbonilamino-18-[5-(2-isopropilamino-etoxi)-1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico** (compuesto AR00371948) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 1-2, excepto que se utilizó [2-(2,3-dihidro-1H-isoindol-5-iloxi)-etil]-isopropil-amina (preparada de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, No. 26, 5771, método de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett 11 (2001) 685-688). Para N-Boc amina protegido la entrada: ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.13 (dd, 1H), 6.86-6,75 (m, 2H), 4.62 (t, 4H), 4.06 (t, 2H), 2.99 (t, 2H), 2.88 (séptupla, 1H), 1.62 (brs, 1H), 1.51 (s, 9H), 1.10 (d, 6H); MS (APCI+) m/z 321.2 (M+1)) se utilizó para reemplazar

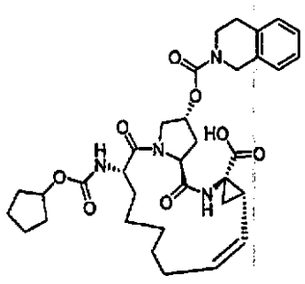
1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4. MS (APCI-): m/z 710.3 (M-1).

2. Preparación de Compuestos con la Estructura General III



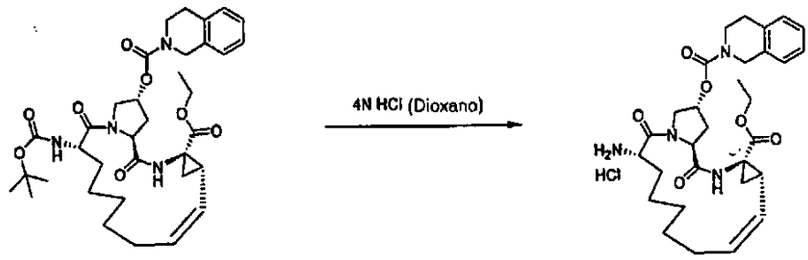
Los compuestos con la estructura general II se prepararon de acuerdo con el esquema general mostrado arriba. Un compuesto con la estructura Ia se retiró primero de su grupo protector Boc. Seguido por el ataque nucleofílico del grupo amino en un electrófilo, para formar un carbamato, amida o urea.

Ejemplo 2-1:



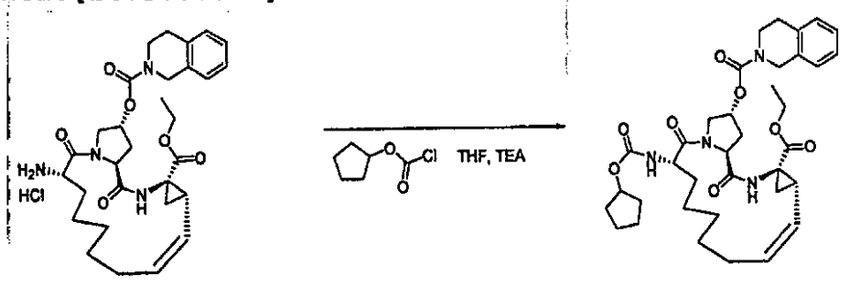
Compuesto AR00247310

Etapa 1: Preparación de etil éster de ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-amino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico.



El material de inicio N-Boc protegido (102 mg, 0.16 mmol) se disolvió en 6 ml de 4N HCl (dioxano), y se dejó a temperatura ambiente durante 90 min. HPLC mostró el retiro total del grupo Boc protector. La mezcla de reacción se concentró entonces, se absorbió en acetonitrilo y se concentró de nuevo dos veces. El polvo espumoso café claro resultante se condujo a la siguiente etapa.

Etapa 2: Preparación de etil éster de ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ciclopentiloxicarbonilamino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico.



A una solución de ciclopentanol (42 mg, 0.48 mmol) en THF (16 ml) ç, se agregó por goteo una solución de tolueno de fosgeno (0.42 ml, 1.9 M, 0.80 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas para formar el reactivo de ciclopentil cloroformato. La reacción se concentró entonces hasta aproximadamente la mitad del volumen. Después se diluyó con DCM hasta el volumen original, y se concentro de nuevo a la mitad del volumen, a fin de retirar completamente el exceso de fosgeno. Esta solución de ciclopentil cloroformato se diluyó adicionalmente con THF (16 ml), se enfrió a 0°C y se agregó al residuo sólido (0.16 mmol) de la Etapa 1 anterior a 0°C. TEA (0.11 ml, 0.81 mmol) se agregó entonces a la mezcla de reacción, y la reacción se agitó a 0°C durante 2 horas. La reacción se completó por HPLC. Se concentró, se absorbió en EtOAc (15 ml), y después se lavó con agua, bicarbonato de sodio saturado, y salmuera (10 ml cada uno), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El residuo de aceite duro amarillento crudo se purificó mediante cromatografía en Biotage 40S (eluyente = hexanos/EtOAc 1:1), dando el producto deseado como un polvo espumoso blanco crujiente (65.2 mg, 63%). MS (MH+ 665.2).

Etapa 3: Preparación de ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ciclopentiloxicarbonilamino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto

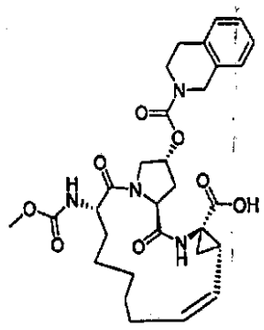
AR00247310).



Se siguieron los mismos procedimientos de hidrólisis que en la Etapa 5 del Ejemplo 1-1.

Los siguientes compuestos también se prepararon siguiendo los mismos procedimientos antes mencionados en el Ejemplo 2-1, ya sea sustituyendo el ciclopentil cloroformato por otros electrófilos, y/o sustituyendo P2-tetrahidroisoquinolina por otras entradas de amina como se ilustra en la Etapa 4 del Método B en el Ejemplo 1-2.

Ejemplo 2-2:

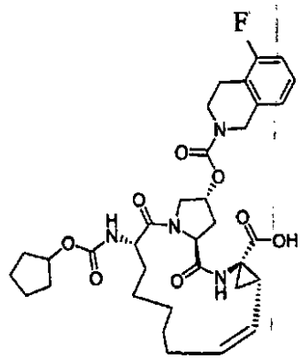


Compuesto AR00294376

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-14-metoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-

triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00294376) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 2-1, excepto que se utilizó metil cloroformato en la Etapa 2.

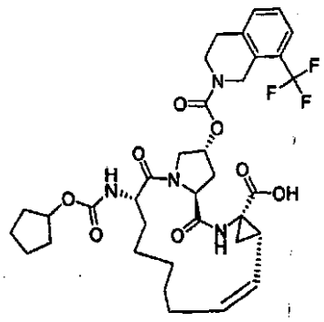
Ejemplo 2-3:



Compuesto AR00304074

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ciclopentiloxicarbonilamino-18-(5-fluoro-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00304074) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se utilizó 5-fluoro-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. MS m/e 583.2 (M^++1).

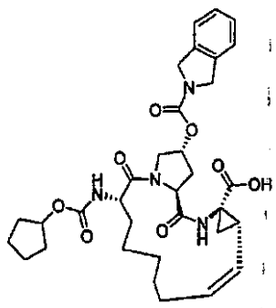
Ejemplo 2-4:



Compuesto AR00304075

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ciclopentiloxicarbonilamino-2,15-dioxo-18-(8-trifluorometil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)--3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00304075) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se utilizó 8-trifluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. MS m/e 705.1 (M^++1).

Ejemplo 2-5:

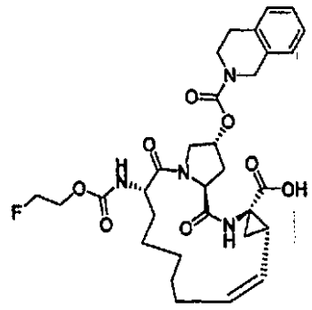


Compuesto AR00304076

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ciclopentiloxicarbonilamino-18-(1,3-dihidro-isoindol-2-carboniloxi)-2,15-doxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.$0^{4,6}$]

nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00304076) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se utilizó en su lugar 2,3-dihidro-1H-isoindol en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. MS m/e 623.2 (M^++1).

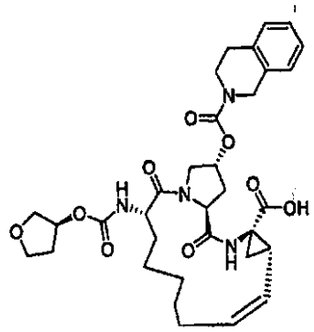
Ejemplo 2-6:



Compuesto AR00304125

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-14-(2-fluoro-etoxicarbonilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00304125) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 2-1, excepto que se utilizó 2-fluoroetanol para formar el reactivo cloroformato en la Etapa 2 en lugar del ciclopentanol. MS m/e 615.1 (M^++1).

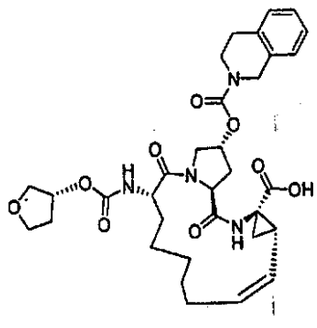
Ejemplo 2-7:



Compuesto AR00304126

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-14-(tetrahidro-furan-3S-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00304126) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 2-1, excepto que se utilizó tetrahidro-furan-3S-ol para formar el reactivo cloroformato en la Etapa 2 en lugar del ciclopentanol. MS m/e 639.2 (M^++1).

Ejemplo 2-8:

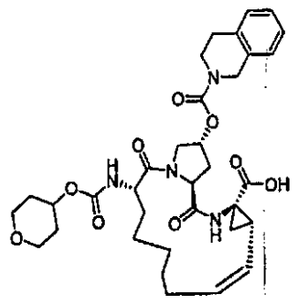


Compuesto AR00304127

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-14-

(tetrahidrofuran-3R-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00304127) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 2-1, excepto que se utilizó tetrahidro-furan-3R-ol para formar el reactivo cloroformato en la Etapa 2 en lugar del ciclopentanol. MS m/e 639.2 (M^++1).

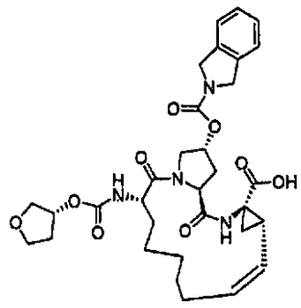
Ejemplo 2-9:



Compuesto AR00320002

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-14-(tetrahidro-piran-4-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00320002) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 2-1, excepto que se utilizó tetrahidro-piran-4-ol para formar el reactivo cloroformato en la Etapa 2 en lugar del ciclopentanol. MS m/e 653.2 (M^++1).

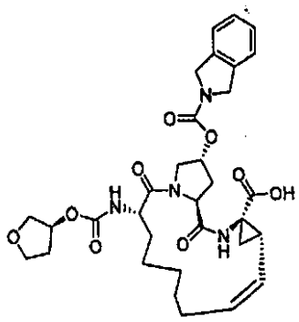
Ejemplo 2-10:



Compuesto AR00320074

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(1,3-dihidro-1H-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-14-(tetrahidrofuran-3R-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00320074) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se utilizó 2,3-dihidro-1H-isoindolo en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2 y se utilizó tetrahidro-furan-3R-ol para formar el reactivo cloroformato en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 en lugar del ciclopentanol. MS m/e 625.2 (M^++1).

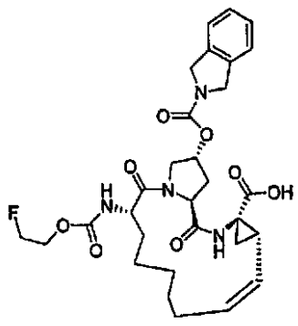
Ejemplo 2-11:



Compuesto AR00320075

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-14-(tetrahidrofuran-3R-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00320075) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se utilizó 2,3-dihidro-1H-isoindolo en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2 y se utilizó tetrahidro-furan-3S-ol para formar el reactivo cloroformato en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 en lugar del ciclopentanol. MS m/e 625.2 (M^++1).

Ejemplo 2-12:

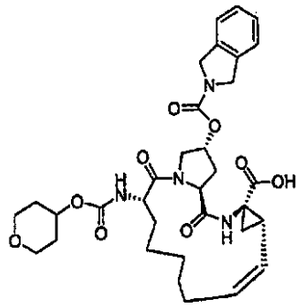


Compuesto AR00320076

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-14-(tetrahidrofuran-3S-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00320076) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se utilizó 2,3-dihidro-1H-isoindolo en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2 y se utilizó 2-

fluoroetanol para formar el reactivo cloroformato en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 en lugar del ciclopentanol. MS m/e 601.1 (M^++1).

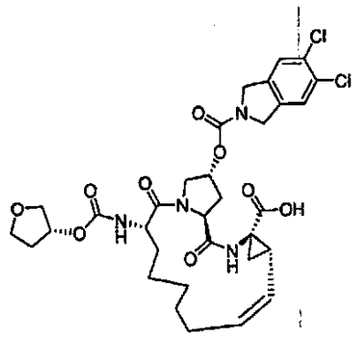
Ejemplo 2-13:



Compuesto AR00320077

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-14-(tetrahidro-piran-4-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00320077) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se utilizó 2,3-dihidro-1H-isoindolo en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2 y se utilizó tetrahidro-piran-4-ol para formar el reactivo cloroformato en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 en lugar del ciclopentanol. MS m/e 601.1 (M^++1).

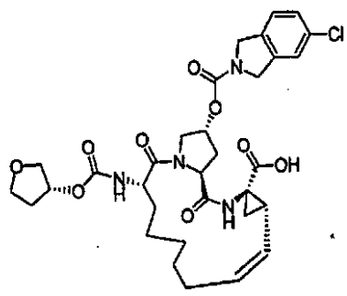
Ejemplo 2-14:



Compuesto AR00320445

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(5,6-dicloro-1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-14-(tetrahidro-furan-3R-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00320445) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se utilizó 5,6-dicloro-2,3-dihidro-1H-isoindolo en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2 y se utilizó tetrahidro-furan-3R-ol para formar el reactivo cloroformato en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 en lugar del ciclopentanol. MS m/e 695.1 (M^++2).

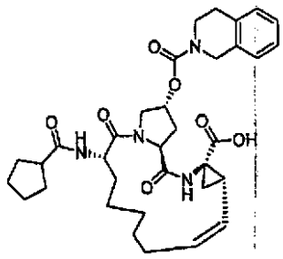
Ejemplo 2-15:



Compuesto AR00320448

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(5-cloro-1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-14-(tetrahidro-furan-3R-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00320448) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se utilizó 5-dicloro-2,3-dihidro-1H-isoindolo en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2 y se utilizó tetrahidro-furan-3R-ol para formar el reactivo cloroformato en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 en lugar del ciclopentanol. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.38 (s, 1H), 7.32-7.28 (m, 2H), 7.22 (d, 1H), 7.10 (brs, 1H), 5.56-5.50 (q, 1H), 5.42-5.38 (t, 1H), 5.35 (brs, 1H), 4.80-4.48 (m 6H), 4.44 (m, 1H), 4.16 (d, 1H), 3.84 (dd, 1H), 3.78-3.69 (m, 1H), 3.68-3.60 (m, 1H), 3.50 (t, 1H), 2.55-2.36 (m, 3H), 2.21-2.12 (m, 1H), 1.98-1.85 (m, 1H), 1.72-1.62 (m, 2H), 1.61-1.51 (m, 2H), 1.50-1.20 (m, 9H); MS m/e 659.1 (M^+), 661.1 (M^++2).

Ejemplo 2-16:



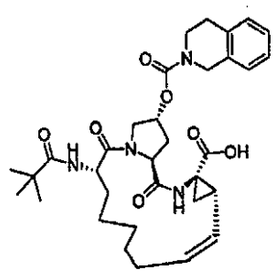
AR00248689

Síntesis de ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-(ciclopentanocarbonilamino)18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-

carboniloxi)-2,15-dioxo--3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR248689)

Se cargó primero ácido ciclopentil carboxílico en resina PS-TFP (adquirida de Argonaut Technologies) para formar un éster activo. El éster activado en resina (26 mg, 1.16 mmol/g 0.03 mmol) se engrosó primero en 0.5 ml de cloroformo, seguido por la adición de resina de MP-carbonato (adquirida de Argonaut Technologies, 300 mg, 2.5 mmol/g 0.75 mmol). a esta mezcla de resinas se agregó entonces 0.5 M de solución de cloroformo del material macrocíclico (15 mg, 0.02 mmol), y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La reacción se completó por HPLC después de 16 horas. Después se filtró y se concentró, dando el producto N-acilado limpio. Se hidrolizó entonces siguiendo los mismos procedimientos de hidrólisis que en la Etapa 5 del Ejemplo 1-1, dando el producto deseado AR248689 como un sólido blanco (12.5 mg, 88%). MS (APCI+): m/z 621.3 (MH^+).

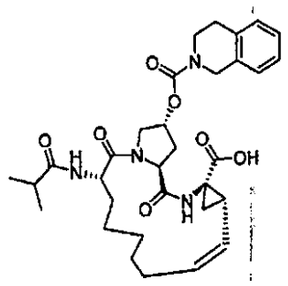
Ejemplo 2-17:



Compuesto AR00248687

Se sintetizó ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-14-(2,2-dimetil-propionilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00248687) siguiendo los mismos procedimientos descritos en el Ejemplo 2-16, excepto que se cargó primero ácido ter-butil-carboxílico en resina PS-TFP. MS (APCI+): m/z 609.3 (MH^+).

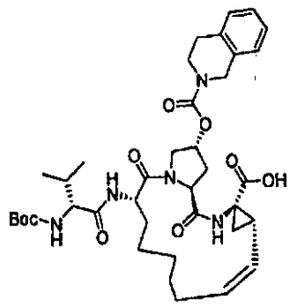
Ejemplo 2-18:



Compuesto AR00248688

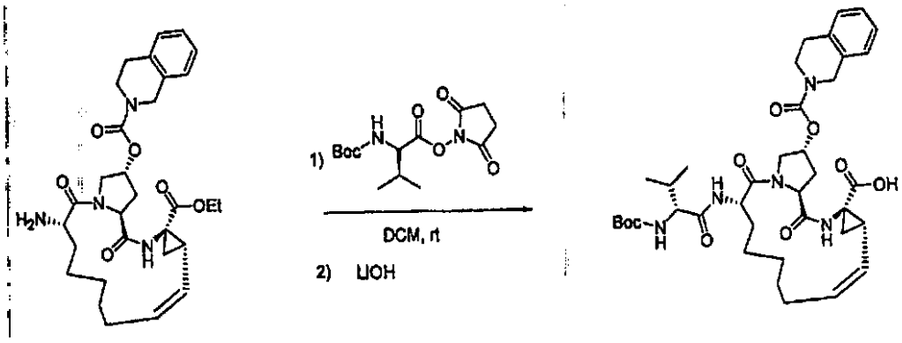
Se sintetizó ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-14-isobutirilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00248688) siguiendo los mismos procedimientos descritos en el Ejemplo 2-16, excepto que se cargó primero ácido isopropil-carboxílico en resina PS-TFP. MS (APCI+): m/z 595.3 (MH^+).

Ejemplo 2-19:



Compuesto AR00298989

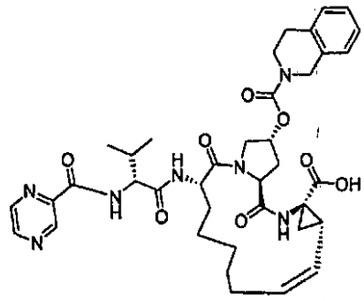
Síntesis de ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-(2-ter-butoxicarbonilamino-3-metil-butirilamino)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00298989)



Etil éster de ácido 14-Amino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-carboxílico (120 mg, 217 umol) y éster de N-a-t-Boc-L-valina-N-hidroxisuccinamida (96 mg, 300 umol) se agitaron juntos en 1.2 ml de diclorometano durante 14 horas. El solvente se retiró in vacuo y se agregó 1 ml tanto de agua como de etil acetato. Las fases se

separaron y la capa acuosa se lavó dos veces con 500 ul de etil acetato. Los orgánicos combinados se secaron sobre MgSO4 y los solventes se retiraron in vacuo para proporcionar el compuesto deseado como un sólido blanco (132 mg, 81%). MS m/z 752.2 (MH+).

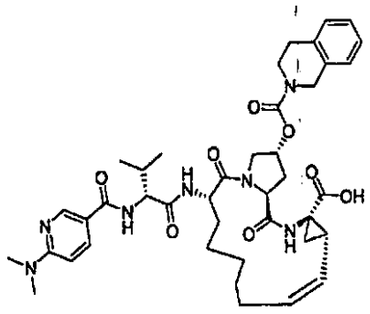
Ejemplo 2-20:



Compuesto AR00301338

Se sintetizó ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-14-(3-metil-2-[(pirazina-2-carbonil)-amino]-butirilamino}-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00301338) siguiendo los mismos procedimientos descritos en el Ejemplo 2-19, excepto que se utilizó 2,5-dioxo-pirrolidin-1-il-éster para reemplazar el éster N-a-Boc-L-valina-N-hidroxisuccinamida. MS m/e 730.3 (MH^++1).

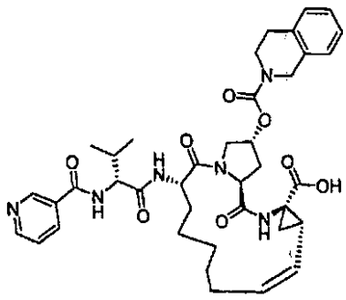
Ejemplo 2-21:



Compuesto AR00304072

Se sintetizó ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-14-{2-[(6-dimetilamino-piridina-3-carbonil)-amino]-3-metil-butirilamino}-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00304072) siguiendo los mismos procedimientos descritos en el Ejemplo 2-19, excepto que se utilizó ácido 2-[(6-dimetilamino-piridina-3-carbonil)-amino]-3-metil-butírico}-2,5-dioxo-pirrolidin-1-il éster para reemplazar el éster N-a-Boc-L-valina-N-hidroxisuccinamida. ^{1}H NMR (CD_3OD 500 MHz) δ 8.69 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.37-8.39 (m, 1H), 8.14-8.21 (m, 2H), 7.07-7.18 (m, 5H), 5.63 (q, 1H), 5.36-5.42 (m, 2H), 4.49-4.56 (m, 3H), 4.42-4.45 (m, 1H), 4.31-4.32 (m, 1H), 3.92-3.95 (m, 1H), 3.65-3.72 (m, 2H), 2.85-2.91 (m, 2H), 2.33-2.55 (m, 4H), 1.93-2.03 (m, 3H), 1.61-1.68 (m, 3H), 1.27-1.52 (m, 12H), 0-86-0.96- (m, 8H). MS m/e 770.4 (M-1).

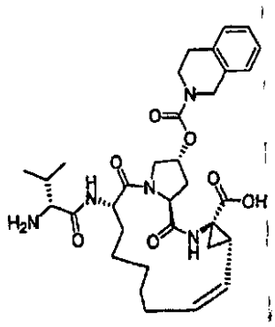
Ejemplo 2-22:



Compuesto AR00304073

Se sintetizó ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-14-(3-metil-2-[(piridina-3-carbonil)-amino]-butirilamino}-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00304073) siguiendo los mismos procedimientos descritos en el Ejemplo 2-19, excepto que se utilizó ácido 3-metil-2-[(piridina-3-carbonil)-amino]-butírico 2,5-dioxo-pirrolidin-1-il éster para reemplazar el éster N-a-Boc-L-valina-N-hidroxisuccinamida. MS m/e 729.2 (MH^++1).

Ejemplo 2-23:

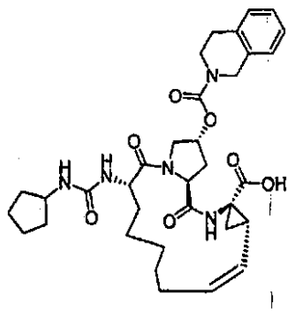


Compuesto AR00298990

Se preparó ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-(2-amino-3-metil-butirilamino)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-

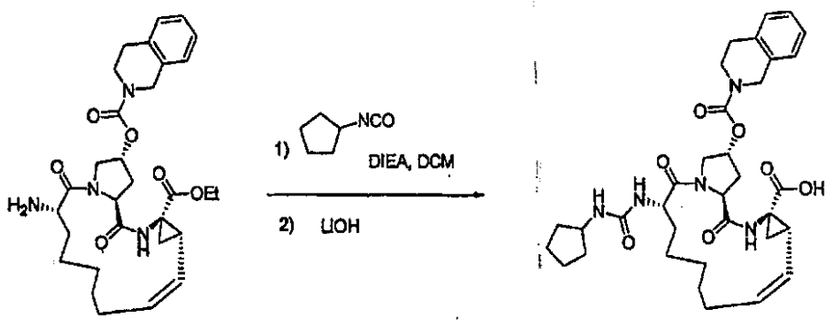
carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto 298990) siguiendo los mismos procedimientos que en la Etapa 1 del Ejemplo 2-1. MS m/e 624.2 (M^++1).

Ejemplo 2-24:



Compuesto AR00294378

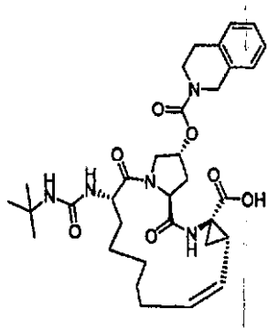
Síntesis de ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-(3-ciclopentil-ureido)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR294378)



Sal de hidrocloruro de etil éster de ácido 14-Amino-2,15-dioxo-18-(8-trifluorometil-3,4-dihidro-1H-

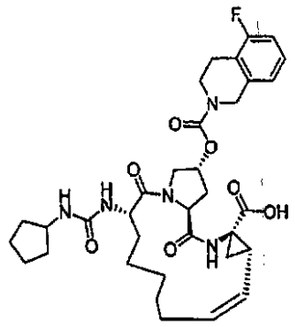
isoquinolina-2-carboniloxi)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (49 mg, 74 umol), diisopropiletilamina (29 mg, 222 umol) y ciclopentil isocianato (25 mg, 222 umol) se absorbieron en 375 ul de diclorometano y se agitaron a 19°C durante 1 hora. La reacción se cargó directamente sobre una columna rápida C18 y se eluyó con agua/acetonitrilo (10 a 100%) conteniendo 0.1% TFA para proporcionar el producto del título como un sólido blanco (42 mg, 77%). MS m/z 732.2 (MH+).

Ejemplo 2-25:



Compuesto AR00294377

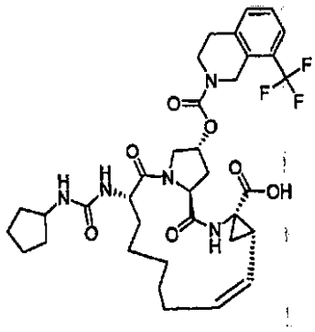
Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-(3-ter-butil-ureido)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00294377) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se utilizó 3-ter-butil-isocianato para reemplazar ciclopentil isocianato en los procedimientos del Ejemplo 2-24. MS m/e 624.1 (M^++1).



Compuesto AR00304077

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-(3-ciclopentil-ureido)-18-(5-fluoro-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00304077) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se utilizó 5-fluoro-1,2,3,4-tetrahidro-1H-isoquinolina para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-1H-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. MS m/e 654.2 (M^++1).

Ejemplo 2-27:

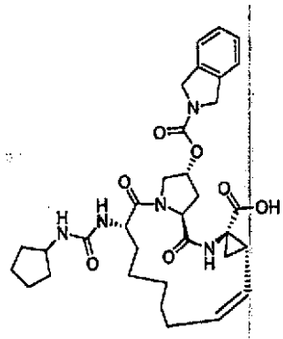


Compuesto AR00304078

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-(3-

ciclopentil-ureido)-2,15-dioxo-18-(8-trifluorometil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00304078) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se utilizó 8-trifluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-1H-isoquinolina para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-1H-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. MS m/e 704.1 (M^++1).

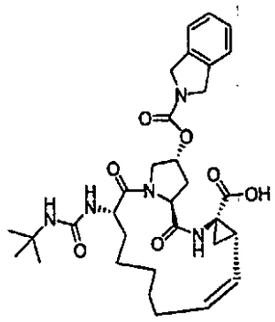
Ejemplo 2-28:



Compuesto AR00304079

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-(3-ciclopentil-ureido)-18-(1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00304079) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se utilizó 2,3-dihidro-1H-isoindolo para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. MS m/e 622.2 (M^++1).

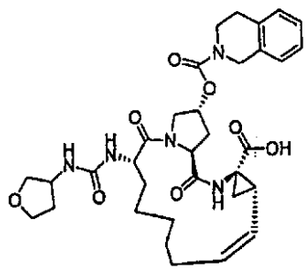
Ejemplo 2-29:



Compuesto AR00320078

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-(3-ter-butil-ureido)-18-(1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00320078) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se utilizó 2,3-dihidro-1H-isoindolo para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2 y que se utilizó ter-butil-isocianato para reemplazar ciclopentil isocianato en los procedimientos del Ejemplo 2-24. MS m/e 610.1 (M^++1).

Ejemplo 2-30:

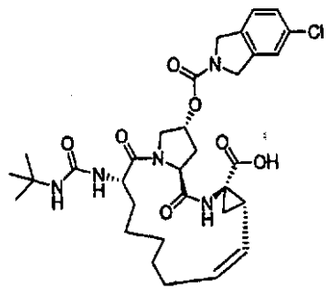


Compuesto AR00320221

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-18-(3,4-

dihidro-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-14-[3-tetrahidro-furan-3-il)ureido]-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00320221) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se utilizó 3-isocianato-tetrahidro-furan para reemplazar ciclopentil isocianato en los procedimientos del Ejemplo 2-24. MS m/e 638.2 (M^++1).

Ejemplo 2-31:

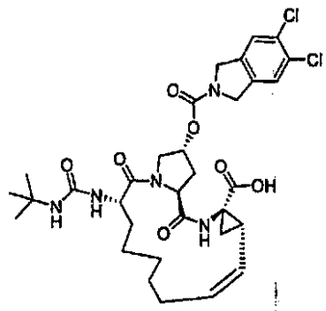


Compuesto AR00320449

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-(3-ter-butil-ureido)-18-(5-cloro-1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00320449) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se utilizó 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindolo para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2 y que se utilizó ter-butil-isocianato para reemplazar ciclopentil isocianato en los procedimientos del Ejemplo 2-24. ^{1}H NMR (500 MHz

CD_3OD) δ 7.34 (s, 1H), 7.28-7.25 (m, 2H), 7.24 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 5.51 (m, 2H), 5.40 (s, 1H), 4.73-4.60 (m, 3H), 4.53 (t, 1H), 4.38 (d, 1H), 4.28 (d, 1H), 3.98 (dd, 1H), 2.43 (m, 2H), 2.38-2.30 (m, 1H), 2.12-2.00 (m, 2H), 1.81-1.70 (m, 1H), 1.64-1.56 (m, 3H), 1.48-1.20 (m, 8H), 1.18 (s, 9H). MS m/e 644.0 (M^+), 645.9 (M^++2).

Ejemplo 2-32:

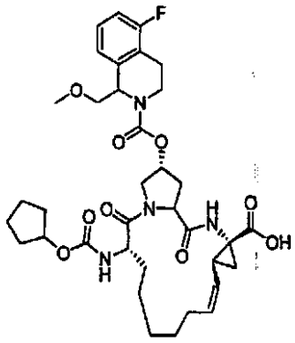


Compuesto AR00320450

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-(3-ter-butil-ureido)-18-(5,6-dicloro-1,3-dihidro-isoindolo-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00320450) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se utilizó 5,6-dicloro-2,3-dihidro-1H-isoindolo para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2 y que se utilizó ter-butil-isocianato para reemplazar ciclopentil isocianato en los procedimientos del Ejemplo 2-24. ^1H NMR (500 MHz CD_3OD) δ 7.50 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 5.56 (q, 1H), 5.42-5.38

(m, 2H), 4.72-4.61 (m, 4H), 4.55 (t, 1H), 4.34 (dd, 1H), 4.28 (d, 1H), 3.92 (dd, 1H), 2.45-2.32 (m, 2H), 2.32-2.18 (m, 1H), 2.08-2.00 (m, 1H), 1.75-1.68 (m, 1H), 1.63-1.54 (m, 3H), 1.50-1.22 (m, 8H), 1.18 (s, 9H). MS m/e 678.0 (M^+), 680.0 (M^++2).

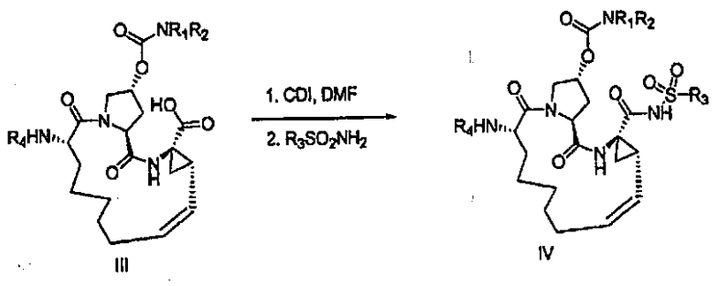
Ejemplo 2-33:



Compuesto AR00365381

Se sintetizó el ácido (1S,4R,6S,14S,18R)-14-ciclopentiloxicarbonilamino-18-(5-fluoro-1-metoximetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico (Compuesto AR00365381) de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se utilizó cloruro 5-fluoro-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolinio para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. MS (APCI-): m/z 697.4 (M-1).

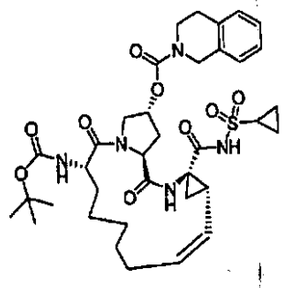
3. Preparación de Compuestos con la Estructura General IV



III IV

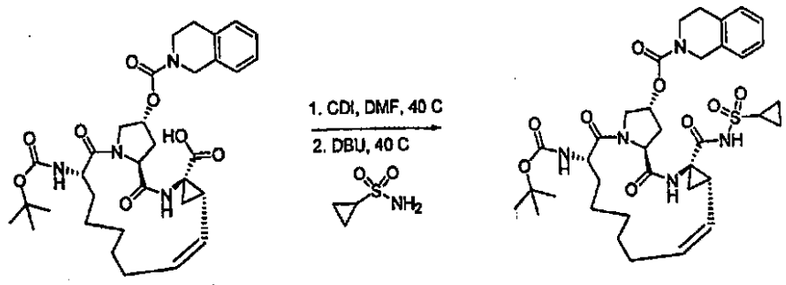
Los compuestos con estructura general IV se prepararon de acuerdo con el esquema mostrado arriba (1. Khan et al, Bioorg. & Med. Chem. Lett., 1997, 7(23), 3017-3022. 2. Solicitud Internacional PCT/US02/39926, WO 03/053349).

Ejemplo 3-1:



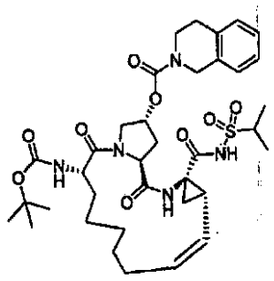
Compuesto AR00261408

Síntesis de (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (AR00261408)



El compuesto # 101 de ácido macrocíclico (7 mg, 0.011 mmol) se disolvió en 0.1 ml de DMF, seguido por la adición de CDI (1.8 mg, 0.011 mmol). La mezcla se agitó en un baño de aceite a 40 C durante 1 h. Entonces se agregó a la reacción ciclopropilsulfonamida (2.0 mg, 0.017 mmol), seguido por DBU (1.7 mg, 0.011 mmol). La reacción se agitó a 40 C durante la noche. Después de 14h, LCMS mostró la reacción completa. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se dividió entre 2 ml de EA y 2 ml de 5% de HCl (ac). La capa orgánica se lavó con agua, bicarb (2 ml ea), entonces se secó (Na_2SO_4). El crudo se hirvió al vacío sobre Biotage 12M (eluyente = DCM:MeOH 20:1), dando AR00261408 (4.2 mg, 52 %) ^1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz):δ 0.80-2.10 (m, 25H), 2.20-2.27 (m, 1H), 2.37-2.59 (m, 3H), 2.84 (m, 1H), 3.60-3.70 (m, 1H), 3.82-3.90 (m, 1H), 4.20-4.30 (m, 2H), 4.45-4.70 (m, 5H), 4.95-5.05 (m, 2H), 5.30-5.48 (M, 2H), 5.74 (m, 1H), 6.74 (m, 1H), 7.0-7.23 (m, 4H). MS m/e 728.0 (M^++H).

Ejemplo 3-2:

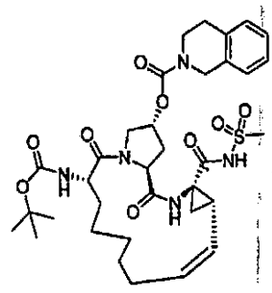


Compuesto AR00261407

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-

2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-4-(propano-2-sulfonilaminocarbonil)-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00261407) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-1, excepto que se utilizó isopropil sulfonamida para reemplazar ciclopropil sulfonamida en la etapa de acoplamiento. MS m/e 728.4 (M-1).

Ejemplo 3-3:

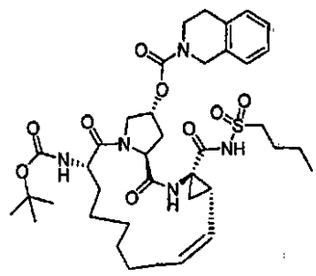


Compuesto AR00254906

(1S, 4R, 6S, 14S,18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-metanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00254906) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-1, excepto que metil sulfonamida se utilizó para reemplazar ciclopropil sulfonamida en la etapa de acoplamiento. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 1.20-1.52 (m, 16H), 1.54-1.98 (m, 5H), 2.20-2.30 (m, 1H), 2.38-2.46 (m, 1H), 2.47-2.59 (m, 3H), 2.84 (m, 1H), 3.18 (s, 3H), 3.56-3.70

(m, 1H), 3.82-3.90 (m, 1H), 4.22-4.33 (m, 2H), 4.47-4.69 (m, 4H), 4.90-5.10 (m, 2H), 5.47 (brs, 1H), 5.74 (m, 1H), 6.74 (m, 1H), 7.03-7.23 (m, 4H). MS m/e 701.9 (M^+), 602.2 (grupo MH^+-Boc original).

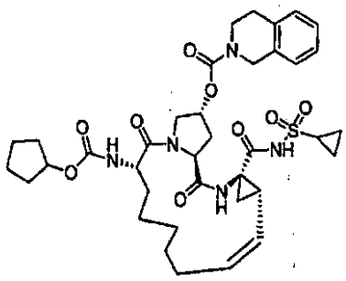
Ejemplo 3-4:



Compuesto AR00261409

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 4-(butano-1-sulfonilaminocarbonil)-14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00261409) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-1, excepto que n-butil sulfonamida se utilizó para reemplazar ciclopropil sulfonamida en la etapa de acoplamiento. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 0.80-1.03 (m, 7H), 1.20-2.10 (m, 22H), 2.20-2.60 (m, 4H), 2.84 (m, 1H), 3.20 (m, 1H), 3.44 (m, 1H), 3.65 (m, 1H), 3.80-3.95 (m, 1H), 4.20-4.34 (m, 2H), 4.50-4.65 (m, 4H), 4.95-5.05.(m, 1H), 5.30-5.39 (m, 1H), 5.44-5.49 (m, 1H), 5.74 (m, 1H), 6.74 (m, 1H), 7.0-7.23 (m, 4H). MS m/e 743.3 (M^+, APCI-).

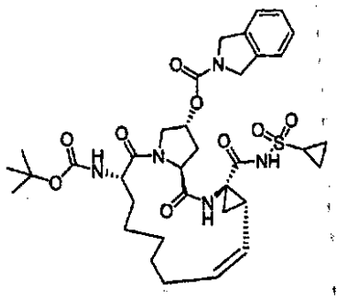
Ejemplo 3-5:



Compuesto AR00282131

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-ciclopentiloxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00282131) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 2-1 y 3-1. MS m/e 738.4 (M-1).

Ejemplo 3-6:

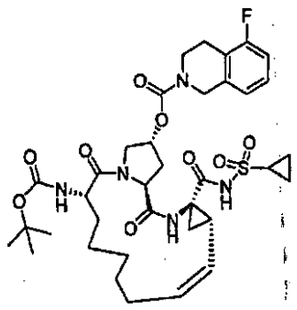


Compuesto AR00294381

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00294381) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos

descritos en los Ejemplos 1-5 y 3-1. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500MHz): δ 0.89-2.08 (m, 25H), 2.21-2.28 (m, 11H), 2.41-2.49 (m, 1H), 2.51-2.61 (m, 2H), 2.91 (m, 1H), 3.83 (m, 1H), 4.21 (m, 1H), 4.40 (d, *J*= 11.7 Hz, 1H), 4.53-4.80 (m, 5H), 4.95-5.04 (m, 2H), 5.47 (brs, 1H), 5.72 (m, 1H), 6.77 (m, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.23-7.31 (m, 3H). MS m/e 712.3 (APCI-, M-H).

Ejemplo 3-7:

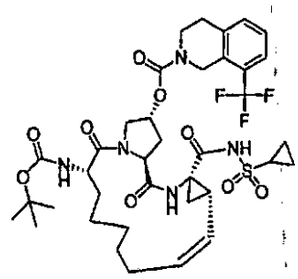


Compuesto AR00298996

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-Fluoro-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00298996) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1 excepto que 5-Fluoro-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 10.05 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.84-6.73 (m, 2H), 6.70 (s, 1H), 5.65 (q, 1H), 5.40 (s, 1H), 4.59 (m, 2H), 4.54-4.40 (m, 3H), 4.30-4.10 (m,

2H), 3.82-3.74 (m, 1H), 3.72-3.51 (m, 2H), 2.92-2.68 (m, 3H), 2.55-2.30 (m, 3H), 2.21-2.15 (m, 1H), 2.00-1.60 (m, 3H), 1.40-0.75 (m, 18H). MS: m/e 746.0 (M^+).

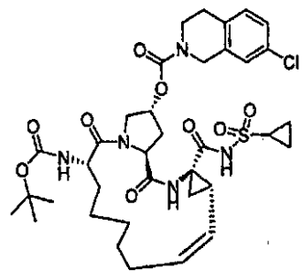
Ejemplo 3-8:



Compuesto AR00298997

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-S-Trifluorometil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00298997) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que 8-trifluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. ^{1}HNMR (500 MHz, CD_3OD): δ 7.55 (dd, 1H), 7.42 (dd, 1H), 7.35 (t, 1H), 5.71-5.61 (m, 1H), 5.40 (m, 1H), 4.60 (s, 1H), 4.52 (m, 1H), 4.42 (m, 1H), 4.15 (m, 1H), 3.91 (m, 1H), 3.78-3.62 (m, 2H), 3.00-2.82 (m, 3H), 2.58-2.52 (m, 3H.), 2.51-2.32 (m, 2H), 1.86-1.56 (m, 3H), 1.41 (m, 2H), 1.32-1.21 (m, 5H), 1.04-0.98 (m, 14H). MS: m/e 795.9 (M^+).

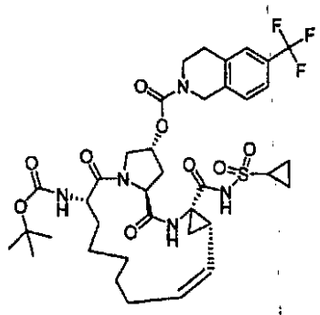
Ejemplo 3-9:



Compuesto AR00301746

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-7-Cloro-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00301746) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que 7-cloro-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 10.10 (s, 1H), 7.08 (d, 1H), 7.02-6.96 (m, 2H), 6.60 (d, 1H), 5.64 (q, 1H), 5.40 (s,1H), 4.92-4.41 (m, 2H), 4.55-4.40 (m, 3H), 4.28-4.12 (m, 2H), 3.82-3.75 (m, 1H), 3.65-3.46 (m, 3H), 2.88-2.80 (m, 1H), 2.78-2.56 (m, 2H), 2.52-2.42 (m 1H), 2.38-2.30 (m, 1H), 2.21-2.12 (q, 1H), 1.82-1.74 (m, 2H), 1.45-1.12 (m, 16H), 1.10-0.98 (m, 2H), 0.90-0.75 (m, 2H). MS m/e 761.9 (M^+)

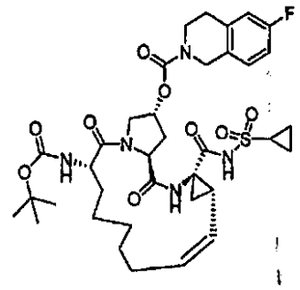
Ejemplo 3-10:



Compuesto AR00301747

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-6-Trifluorometil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00301747) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que 6-trifluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 7.44 (m, 2H), 7.38-7.30 (m, 1H), 7.28-7.24 (m, 1H), 5.65 (q, 1H), 5.40 (m, 1H), 5.08 (m, 1H), 4.56 (brs, 2H), 4.60-4.50 (m, 1H), 4.48 (m, 1H), 4.15 (d, 1H), 3.88 (d, 1H), 3.75-3.67 (m, 2H), 2.93-2.82 (m, 3H), 2.66-2.54 (m, 1H), 2.52-2.44 (m, 1H), 2.42-2.40 (m, 2H), 1.91-1.76 (m, 2H), 1.74-1.70 (dd, 1H), 1.64-1.58 (m, 1H), 1.54-1.36 (m, 4H), 1.34-1.25 (m, 12H), 1.50-1.20 (m, 2H), 1.00-0.70 (m, 1H), 0.52-0.34 (m, 1H). MS: m/e 795.9 (M^+)

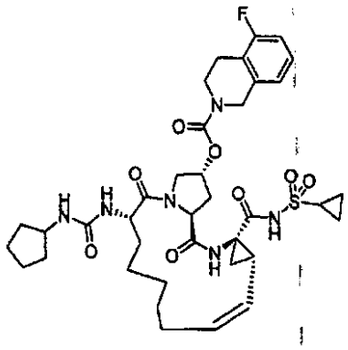
Ejemplo 3-11:



Compuesto AR00301751

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-6-Fluoro-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00301751) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que 6-fluoro-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 7.21-7.02 (m, 1H), 6.92 (m, 2H), 6.92 (m, 2H), 5.68 (q, 1H), 5.40 (m, 1H), 5.08 (t, 1H),4.58 (m, 2H), 4.45 (m, 1H), 4.12 (d, 1H), 3.88 (d, 1H), 3.78-3.60 (m, 3H), 2.86-2.72 (m, 3H), 2.71-2.61 (m, 1H), 2.52-2.42 (m, 1 H), 2.41-2.34 (m, 1H), 1.88-1.76 (m, 2H), 1.74-1.70 (m, 1H), 1.64-1.58 (m, 1H), 1.56-1.38 (m, 2H), 1.37-1.24 (m, 14H), 1.13-1.04 (m, 2H), 1.02-0.89 (m, 1H), 0.88-0.82 (m, 1H). MS: m/e 746.0 (M^+). MS m/e 757.2 (M^++1).

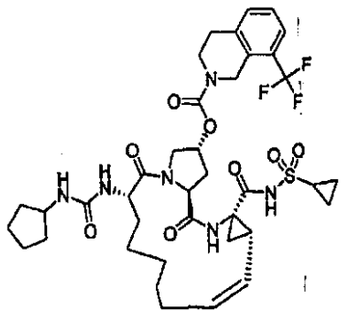
Ejemplo 3-12:



Compuesto AR00304080

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-S-Fluoro-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-(3-ciclopentil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00304080) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que 5-fluoro-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2.

Ejemplo 3-13:

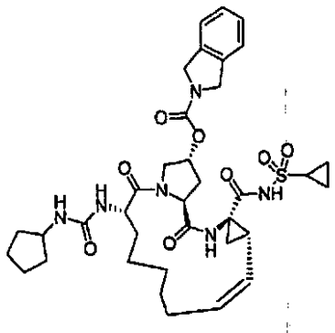


Compuesto AR00304081

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-S-Trifluorometil-3,4-

dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-(3-ciclopentil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00304081) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que 8-trifluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. MS m/e 807.2 (M++1).

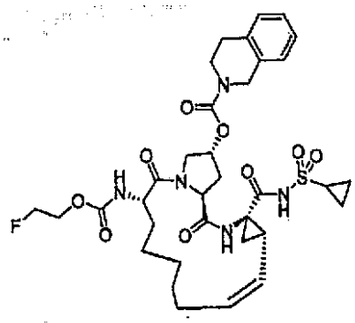
Ejemplo 3-14:



Compuesto AR00304082

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-(3-ciclopentil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00304082) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto 2,3-Dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. MS m/e 725.2 (M^++1).

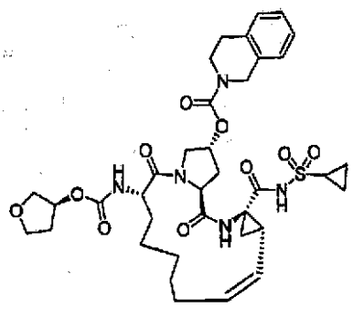
Ejemplo 3-15:



Compuesto AR00304161

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-14-(2-fluoro-etoxicarbonilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00304161) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3 - 1, excepto que 2-fluoroethanol se utilizó para formar el reactivo de cloroformato en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1, en lugar de ciclopentanol. MS m/e 718.1 (M^++1).

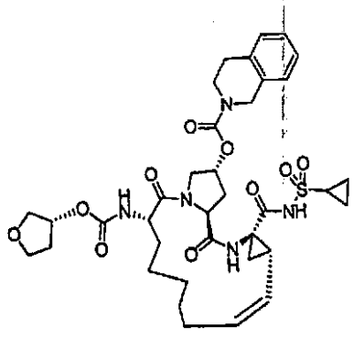
Ejemplo 3-16:



Compuesto AR00304162

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(tetrahidro-furan-3-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00304162) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que tetrahidro-furan-3S-ol se utilizó para formar el reactivo de cloroformato en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1, en lugar de ciclopentanol. MS m/e 742.1 (M^++1).

Ejemplo 3-17:

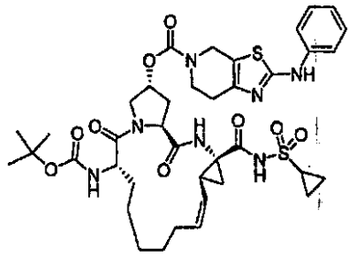


Compuesto AR00304163

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(tetrahidro-furan-3R-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00304163) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que tetrahidro-furan-3R-ol se utilizó para formar el reactivo de cloroformato en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1, en lugar de

ciclopentanol. . ^{1}H NMR (d^6-Benceno, 500 MHz): δ 10.53 (s, 1H), 6.78-6.96 (m, 4H), 5.83-5.90 (m, 1 H), 5.66 (q, 1 H), 5.18-5.21 (m, 1 H), 5.13 (brs, 1 H), 5.04 (brs, 1 H), 4.41-4.87 (m, 3 H), 3.85-4.05 (m, 4 H), 3.67-3.74 (m, 1 H), 3.46-3.53 (m, 3 H), 3.23-3.34 (m, 1 H), 2.80-2.85 (m, 1 H), 2.34-2.59 (m, 4 H), 1.84-1.99 (m, 4 H), 0.98-1.60 (m, 14 H), 0.42-0.47 (m, 1 H), 0.27-0.32 (m, 1 H). MS m/e 741.2 (M-1).

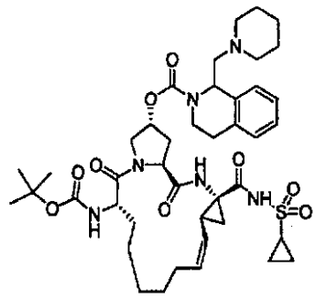
Ejemplo 3-18:



Compuesto AR00311814

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-2-Fenilamino-6,7-dihidro-4H-tiazol[5,4-c]-5-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00311814) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que fenil-(4,5,6,7-tetrahidro-tiazol[5,4-c]piridin-2-il)-amina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. MS m/e 826.2 (M$^+$+1).

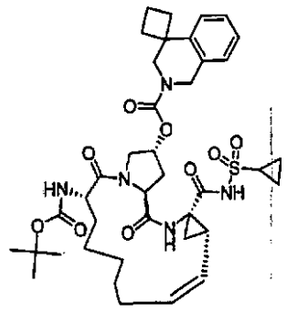
Ejemplo 3-19:



Compuesto AR00311815

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1-Piperidin-1-ilmetil-3,4-dihidro-IH-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00311815) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3- 1, excepto que 1-Piperidin-1-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.94 (d, 1H), 7.59 (s, IH), 7.31 - 7.23 (m, 3H), 7.22 - 7.15 (m, 2H), 5.74-5.64 (m, 2H), 5.47 (br s, 1H), 5.06 (t, 1H), 4.54 (dt, 1H), 4.40 - 4.17 (m, 4H), 4.11 - 4.04 (m, 1H), 3.96 - 3.88 (m, 1H), 3.75 - 3.40 (m, SH),3.14 - 2.32 (m, 7H), 2.05 (dd, 1H), 1.99 - 1.68 (m, 5H), 1.65 - 0.95 (m, 24H); MS (POS ESI) m/z 825.4 (M^+).

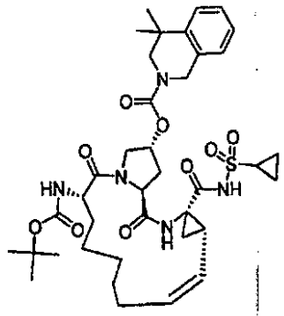
Ejemplo 3-20:



Compuesto AR00312024

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4,4-Espirociclobutil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00312024) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que 4,4-espirociclobutil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. ^{1}H NMR (400 MHZ, CD_3OD) δ 7.54-7.60 (m, 1H), 7.26 (dd, 1H), 6.97-7.21 (m, 1H), 5.66 (dd, 1H), 5.37-5.48 (m, 1H), 5.11 (dd, 1H), 4.58 (s, 2H), 4.39 (t, 3H), 4.11-4.26 (m, 1H), 3.77-3.96 (m, 1H), 3.87 (t, 3H), 3.60-3.70 (m, 1H), 2.83-2.93 (m, 1H), 2.23-2.68 (m, 6H), 1.70-2.23 (m, 7H), 1.18-1.69 (m, 18H), 0.81-1.12 (M, 3H). MS m/z 767.9 (M^++1)

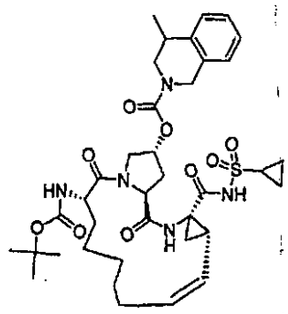
Ejemplo 3-21:



Compuesto AR00312025

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4,4-Dimetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00312025) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que 4,4-dimetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. ^{1}H NMR (400 MHz, CD3OD) δ 7.31-7.40 (m, 1H), 6.97-7.23 (m, 3H), 5.67 (dd, 1H), 5.34-5.49 (m, 1H), 5.09 (dd, 1H), 4.64 (s, 1H), 4.50-4.61 (m, 1H), 4.33-4.44 (m, 3H), 4.11-4.24 (m, 1.0), 3.82-3.95 (m, 3H), 3.36-3.55 (m, 2H), 2.84-2.94 (m, 1H), 2.25-2.69 (m, 4H), 1.68-2.24 (m, 4H), 1.15-1.68 (m, 23H), 0.81-1.15 (m, 3H). MS m/z 756.0 (M^++1)

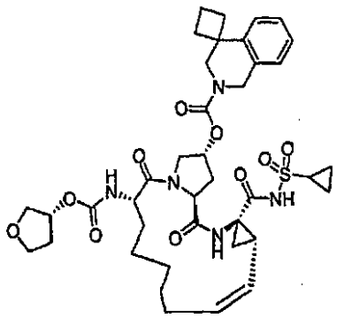
Ejemplo 3-22:



Compuesto AR00312026

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-Metil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboxylic ácido 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00312026) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que 4-metil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. ^{1}H NMR(400 MHz, CD_3OD)δ 7.76 (s, 1H), 6.98-7.24 (m, 3H, 5.67 (dd, 1H), 5.2-5.51 (m, 1H), 5.04-5.15 (dd, 1H), 4.28-4.63 (m, 5H), 4.10-4.24 (m, 1H), 3.81-3.96 (m, 3H), 3.37-3.78 (m, 2H), 2.83-3.06 (m, 2H),2.54-2.71 (m, 1H), 2.25-2.54 (m, 3H), 1.69-1.94 (m, 3H), 1.16-1.69 (m, 20H), 0.81-1.15 (3H). MS m/z 742.0 (M^++1)

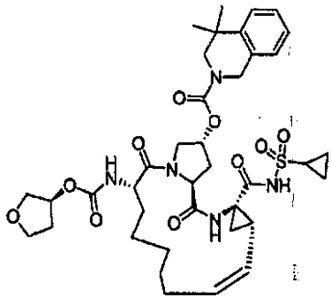
Ejemplo 3-23:



Compuesto AR00314635

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4,4-Espirociclobutil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(tetrahidro-faran-3-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00314635) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que 4,4-espirociclobutil-I,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2, y tetrahidro-furan-3R-ol se utilizó para reemplazar ciclopentanol en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformato. ^{1}H NMR(500 MHz, CD_2Cl_2) δ 10.24-10.29 (s, 1H), 7.49-7.55 (m, 1H), 7.24 (dd, 1H), 7.14 (dd, 1H), 7.04 (dd, 1H), 6.81 (d 1H), 5.71 (dd, 1H), 4.95 (dd, 1H), 4.90 (bs, 1H), 4.48-4.59 (m, 3H), 4.17-4.30 (m, 2H), 3.51-3.74 (m, 3H), 3.51-3.72 (6H), 2.80-2.86 (m, 1H), 2.36-2.54 (m, 3H), 2.10-2.33 (m, 4H), 1.80-2.10 (m, 6H), 1.24-1.80 (m, 7H), 0.65-1.24 (m, 10H). MS m/z 741.2 (M^++1)

Ejemplo 3-24:

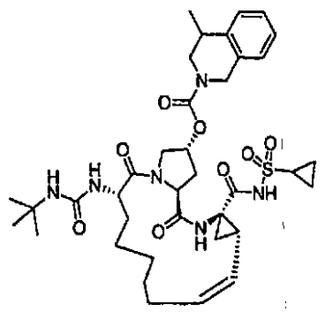


Compuesto AR00314654

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4,4-Dimetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(tetrahidro-furan-3S-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00314654) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que 4,4-dimetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2, y tetrahidro-furan-3S-ol se utilizó para reemplazar ciclopentanol en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformato. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_2Cl_2)δ 8.51-8.64 (bs, 1H), 7.26-7.36 (m, 1H),7.09-7.19 (m, 2H), 6.98-7.08 (m,1H), 5.70 (dd, 1H), 4.95 (dd, 1H), 4.83 (d, 1H), 4.44-4.72 (m, 3H), 4.17-4.30 (m, 2H), 3.25- 3.91 (m-9H), 2.80-2.86 (m, 1H), 2.35-2.55 (m, 4H), 2.13-2.34 (m, 4H), 1.91-2.07 (m, 2H), 1.80-1.90 (m, 2H), 1.66-1.80 (m, 2H),

1.51-1.63 (m, 2H), 1.30-1.51 (m, 2H), 0.96-1.15 (m, 3H), 0.65-0.95 (m, 9H). MS m/z 770:1 (M^++1)

Ejemplo 3-25:

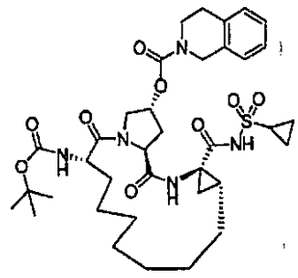


Compuesto AR00314656

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-Metil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-(3-ter-butil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00314656) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que 4-metil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2, y t-butil isocianato se utilizó para reemplazar ciclopentil isocianato en el Ejemplo 2-24. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_2Cl_2)δ 7.60-7.72 (m, 1H), 7.06-7.48 (m, 4H), 5.73 (dd, 1H), 5.39-5.48(m 1H), 5.18-5.27 (bs 1H), 4.98 (dd, 1H), 4.79-4.90 (bs, 1H), 4.30-4.72 (m, 4H), 3.40-3.77 (m, 5H), 2.97 (d, 1H), 2.83-2.90 (m, 1H), 2.37-2.58 (m, 3H), 2.17-2.30 (dt, 1H), 2.22-2.35(dt, 1H), 1.97-2.07 (m, 1H), 1.82-1.95 (m, 2H),

1.68-1.79 (m, 1H), 1.55-1.66 (m, 2H), 1.05-1.55 (m, 15H), 0.83-0.98 (m, 3H). MS m/z 741.2 (M^++1)

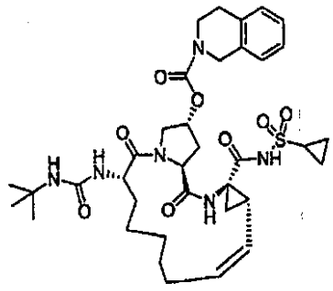
Ejemplo 3-26:



Compuesto AR00314719

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-tertbutoxycarbonylarnino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-18-il éster (Compuesto AR00314719) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-22 y 3-1. MS m/e 630.2 (M^++1-100).

Ejemplo 3-27:

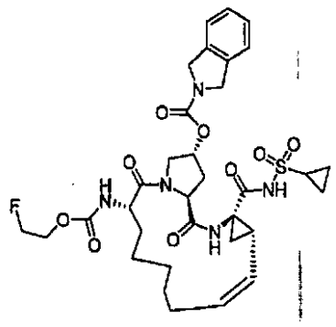


Compuesto AR00320001

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-

2-ácido carboxílico 14-(3-ter-butil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320001) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que t-butil isocianato se utilizó para reemplazar ciclopentil isocianato en el Ejemplo 2-24. MS m/e 725.7 (M-1).

Ejemplo 3-28:

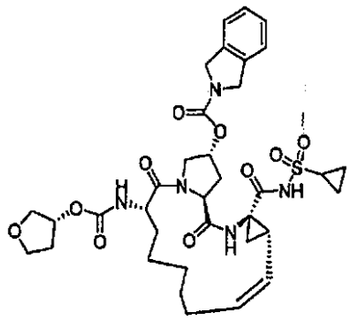


Compuesto AR00320073

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-14-(2-fluoro-etoxicarbonilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320073) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que 2,3-dihidro-1 H-isoindol se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2, y 2-fluoroetanol se utilizó para reemplazar ciclopentanol en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 para formar el reactivo de

cloroformato. MS m/e 704.0 (M^++1).

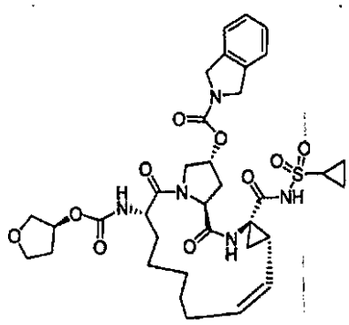
Ejemplo 3-29:



Compuesto AR00320079

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(tetrahidro-furan-3-iloxicarbonilamino)3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320079) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que 2,3-dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2, y tetrahidro-furan-3R-ol se utilizó para reemplazar ciclopentanol en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformato. MS m/e 728.1 (M^++1).

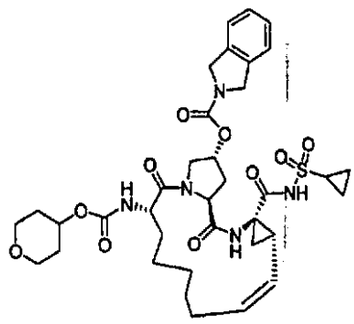
Ejemplo 3-30:



Compuesto AR00320080

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-Dihidro-ísoindole-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(tetrahidro-furan-3S-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320080) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que 2,3-dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2, y tetrahidro-furan-3S-ol se utilizó para reemplazar ciclopentanol en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformato. MS m/e 728.1 (M^++1).

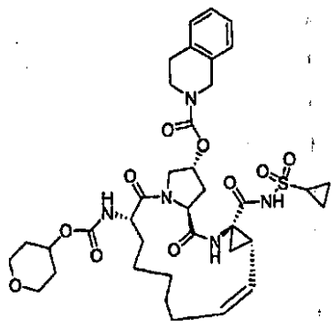
Ejemplo 3-31:



Compuesto AR00320081

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(tetrahidro-piran-4-iloxicarbonilamino)3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320081) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3- 1, excepto que 2,3-dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2, y tetrahidro-piran-4-ol se utilizó para reemplazar ciclopentanol en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformato. MS m/e 742.1 (M^++1).

Ejemplo 3-32:

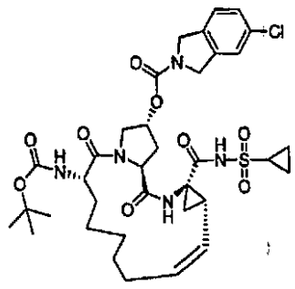


Compuesto AR00320082

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(tetrahidro-piran-4-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4} ^{6}]nonadec-7-en- 18-il éster (Compuesto AR00320082) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos

descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3- 1, excepto que tetrahidro-piran-4-ol se utilizó para reemplazar ciclopentanol en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformato. MS m/e 756.1 (M^++1).

Ejemplo 3-33:

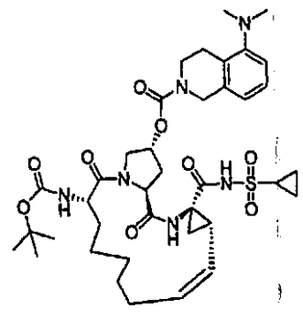


Compuesto AR00320119

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-Cloro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-tertbutoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320119) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD):8 7.36 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.12-7.20 (m, 1H), 6.64 (br s, 1 H), 5.72-5.64 (m, 1 H), 5.41 (s, 1 H), S. 14-5.04 (m, 1 H), 4.80-4.62(m, 2H), 4.61-4.56 (4 1H), 4.54-4.48 (m, 1H), 4.10 (d, 1H), 3.85 (d, 1H), 2.90 (m, 1H), 2.65 (br s, 1H), 2.54-2.48

(m, 1H), 2.46-2.32 (m, 2H), 1.91-1.72 (m, 2H), 1.64-1.56 (m, 2H), 1.56-1.21 (m, 8H), 1.18 (s, 9H), 1.12-1.05 (m, 1H) 1.00 (m, 1H), 0.94-0.82 (m, 2H). MS m/e 747.9 (M^+)

Ejemplo 3-34:

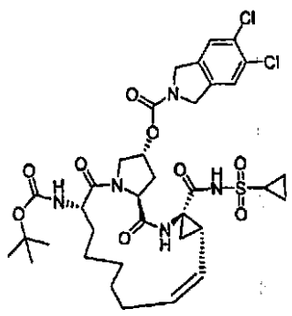


Compuesto AR00320120

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-Dimetilamino-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320120) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que dimetil-(1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-5-il)-amina (Ejemplo 1-25a) se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$):δ 10.08 (s, 1H), 7.13-7.05(m, 1H), 6.88-6.81 (d, 1H), 6.77 (d, 1H), 6.68 (d, 1H), 6.61-6.53 (s, 1H, 5.71-5.60 (q, 1H), 5.40 (s, 1H), 5.00-4.88 (m, 2H), 4.55-4.38 (m, 3H), 4.24-4.16 (m, 2H), 3.88-3.77 (d, 1H, 3.64-3.41 (m, 3H, 2.91-2.69 (m, 3H), 2.61 (s, 6H), 2.53-2.41 (m, 2H), 2.40-

2.39 (m, 1H), 2.22-2.11 (m, 1H), 1.89-1.72 (m, 1H), 1.61-1.22 (m, 10H), 1.18 (s, 9H), 1.09-0.97.(m, 2H), 0.91-0.76 (m, 2H). MS: 771.1 (M^+), 772.1 (M^++1), 773.1 (M^++2)

Ejemplo 3-35:

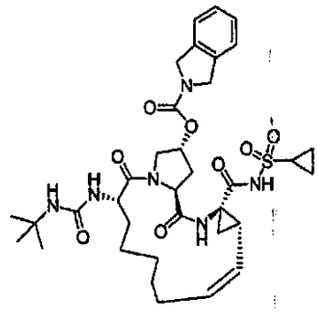


Compuesto AR00320121

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5,6-Dicloro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-tertbutoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320121) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que 5,6-Dicloro-2,3 dihidro- 1 H-isoindol se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. ^{1} NMR (500 MHz, CD_3OD):δ 7.52 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 6.61 (br s, 1H), 5.72-5.65 (q, 1H), 5.40 (s, 1H), 5.08 (t 1H), 4.78-4.62 (m, 3H), 4.63-4.57 (t, 1H), 4.50 (d, 1H), 4.20 (d, 1H), 3.65 (d, 1H), 2.90 (m, 1H), 2.55 (m, 1H), 2.52-2.45 (m, 1H), 2.46-2.31 (m, 2H), 1.91-1.75 (m, 3H), 1.67-1.60 (m, 1H),1.58-1.25 (m, 8H), 1.18 (S, 9H),1.12-1.05 (m, 2H), 1.04-0.81 (m, 2H).

MS: m/e 781.9 (M^+)

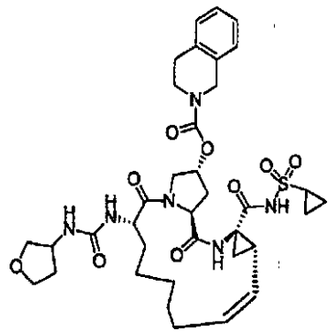
Ejemplo 3-36:



Compuesto AR00320220

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-(3-ter-butil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320220) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que 2,3-Dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina.en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2, y que t-butil isocianato se utilizó para reemplazar ciclopentil isocianato en el Ejemplo 2-24. MS m/e 713.1 (M^++1).

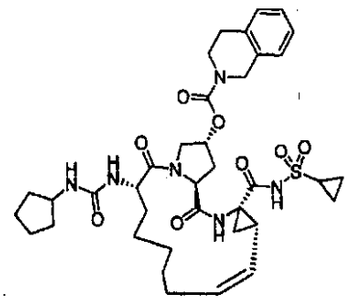
Ejemplo 3-37:



Compuesto AR00320222

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-[3-(tetrahidro-furan-3-il)-ureido]-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320222) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que 3-Isocianato-tetrahidro-furan se utilizó para reemplazar ciclopentil isocianato en el Ejemplo 2-24. MS m/e 740.8 (M^++1).

Ejemplo 3-38:

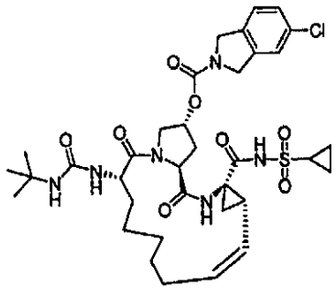


Compuesto AR00320403

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-

2-ácido carboxílico 14-(3-ciclopentil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320403) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2,2-24 y 3-1. MS m/e 739.2 (M^++1).

Ejemplo 3-39:

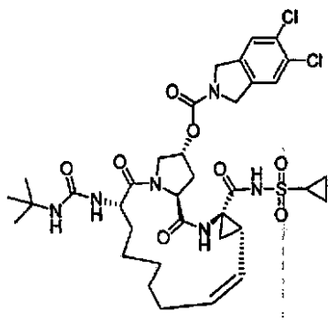


Compuesto AR00320446

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-Cloro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-(3-tertbutil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec,-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320446) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2,2-24 y 3-1, excepto que 5-cloro-2,3-Dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2, y que t-butil isocianato se utilizó para reemplazar ciclopentil isocianato en el Ejemplo 2-24. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD):δ 7.35 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.02 (s,

1H), 7.18 (s, 1H), 5.65-5.72 (q, 1H), 5.45 (s, 1H), 5.06 (t, 1H), 4.74-4.60 (m, 4H), 4.56 (t, 1H), 4.46(m, 1H), 4.22 (d, 1H), 3.87-3.91 (dd, 1H), 2.86-2.94 (m, 1H), 2.65-2.54 (m, 1H), 2.52-2.54 (m, 1H), 2.42-2.34 (m, 2H), 1.92-1.83 (m, 1H), 1.78-1.70 (m, 2H), 1.62-1.56 (m, 1H), 1.54-3.92 (m, 4H), 1.39-1.23 (m, 7H), 1.12 (s, 9H), 1.02-0.98 (m, 1H), 0.94-0.86 (m, 1H). MS: m/e 747.1 (M^+), 749.1 (M^++2)

Ejemplo 3-40:

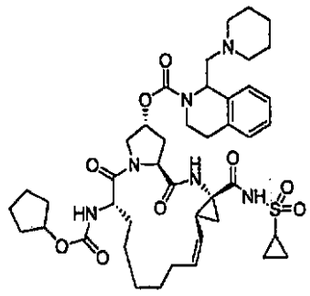


Compuesto AR00320447

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5,6-Dicloro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-(3-tertbutil-ureido)-4-cyclopropanesulfonylaininocarbonyl-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320447) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que 5,6-Dicloro-2,3-Dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2, y que t-butil isocianato se utilizó para reemplazar ciclopentil isocianato en el Ejemplo 2-24. MS: m/e 781.1

(M^+). 783.1 (M^++2)

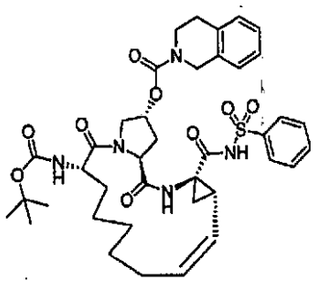
Ejemplo 3-41:



Compuesto AR00320506

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1-Piperidin-1-ilmetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-cyclopentiloxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4-6}]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320506) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que 1-Piperidin-1-ilmetil- 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. MS (POS ESI) m/z 837.4 (M^+).

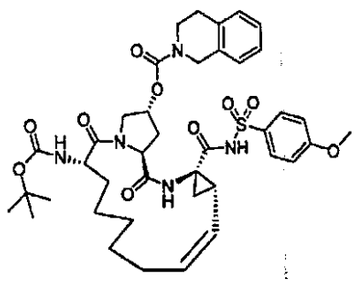
Ejemplo 3-42:



Compuesto AR00320547

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 4-bencenosulfonilaminocarbonil-14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320547) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que bencenosulfonamida se utilizó para reemplazar ciclopropilsulfonamida en la etapa de acoplamiento del Ejemplo 3-1. MS m/e 762.3 (M-1).

Ejemplo 3-43:

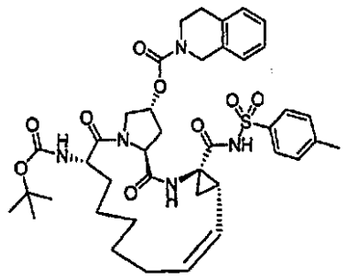


Compuesto AR00320548

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-tertbutoxicarbonilamino-4-(4-metoxi-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320548) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que 4-metoxibencenosulfonamida se utilizó para reemplazar ciclopropilsulfonamida en la etapa de acoplamiento del

Ejemplo 3-1. MS m/e 792.3 (M-1).

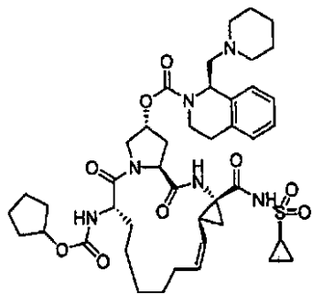
Ejemplo 3-44:



Compuesto AR00320549

(1S, 4R, 69,14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2- ácido carboxílico 14-tertbutoxicarbonilamino-2,15-dioxo-4-(tolueno-4-sulfonilaminocarbonil)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320549) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que 4-metil-bencenosulfonamida se utilizó para reemplazar ciclopropilsulfonamida en la etapa de acoplamiento del Ejemplo 3-1- MS m/e 776.3 (M^++1).

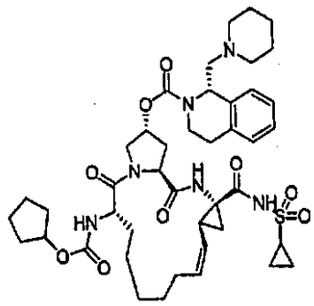
Ejemplo 3-45:



Compuesto AR00320556

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1-Piperidin-1R-ilmetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2 ácido carboxílico 14-cyclopentiloxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320556) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que 1-Piperidin-1R-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.99 (br s, 1H), 7.34-7.13 (m, 6H), 5.75 - 5.65 (m, 2H), 5.44 (br s, 1H), 5.06 (t, 1H), 4.60 (t, 1H), 4.51 (d, 1H), 4.44 - 4.16 (m, 2H), 4.12 -3.97 (m, 2H), 3.86 (d, 1H), 3.75 - 3.38 (m, 2H), 3.07 (t, 2H), 2.96 - 2.86 (m, 1H), 2.78 (d, 1H), 2.66 (br s, 1H), 2.56 - 2.26 (m,3H), 2.06 (d, 1H), 1.99 - 1.66 (m, 10H), 1.65 - 1.21 (m, 18H), 1.15 - 0.95 (m, 3H); MS (POS ESI) m/z 837.4 (M^+).

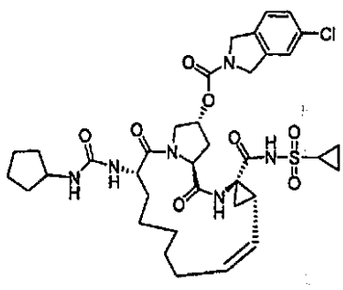
Ejemplo 3-46:



Compuesto AR00320557

(1S, 4R, 6S, 14S, ISR)-1-Piperidin-1S-ilmetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-ciclopentiloxycarbonylaniino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320557) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que 1-Piperidin-1S-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.32 - 7.14 (m, 6H), 6.87 (br s, 1H), 5.72 - 5.60 (m, 2H), 5.47 - 5.39 (m, 1H), 5.11 (br s, 1H), 4.58 (t 1H) 4.53 - 3.86 (m-8H), 3.67 - 3.40 (m, 2H), 3.08 - 2.85 (m, 1H), 2.78 (d, 1H), 2.65 - 2.24 (m, 4H), 2.10 - 1.22 (m, 27H), 1.19 (dt, 1H), 1.10 - 1.02 (m, 2H), 1.01 - 0.93 (m, 1H), 0.89 (q, 1H); MS (POS ESI) m/z 837.4 (M^+).

Ejemplo 3-47:

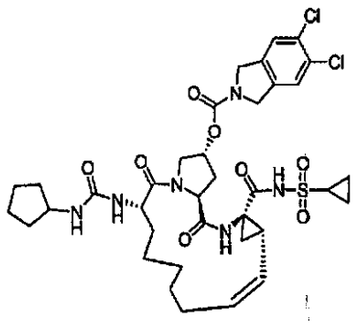


Compuesto AR00320574

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-Cloro-1,3-dihidro-

isoindol-2-ácido carboxílico 14-(3-ciclopentil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il estar (Compuesto AR00320574) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que 5-cloro-2,3-Dihidro- 1 H-isoindol se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. MS: m/e 759.1 (M^+), 761.1 (M^++2)

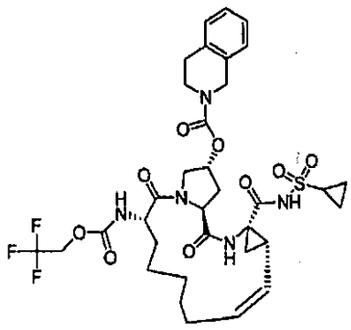
Ejemplo 3-48:



Compuesto AR00320575

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5,6-Dicloro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-(3-ciclopentil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320575) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-24 y 3- 1, excepto que 5,6-dicloro-2,3-Dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2. MS: m/e 793.1 (M^+)

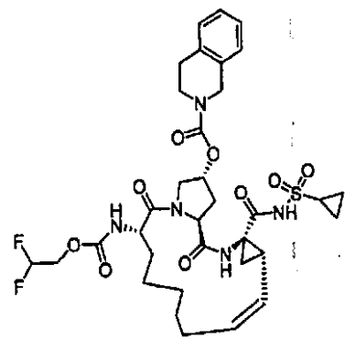
Ejemplo 3-49:



Compuesto AR00320578

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(2,2,2-trifluoro-etoxicarbonilamino)3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320578) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que 2,2,2-trifluoro-etanol se utilizó para reemplazar ciclopentanol en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformato. MS m/e 754.0 (M^++1).

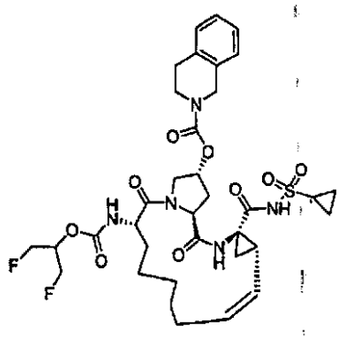
Ejemplo 3-50:



Compuesto AR00320579

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-14-(2,2-difluoro-etoxicarbonilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320579) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que 2,2-Difluoro-etanol se utilizó para reemplazar ciclopentanol en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformato. MS m/e 736.0 (M^++1).

Ejemplo 3-51:

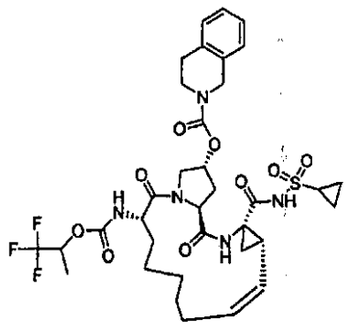


Compuesto AR00320580

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-14-(2-fluoro-1-fluorometil-etoxicarbonilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320580) se sintetizó de acuerdo conlos procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que 1,3-Difluoro-propan-2-ol se utilizó para reemplazar ciclopentanol en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 para formar el reactivo de

cloroformato. MS m/e 750.1 (M^++1).

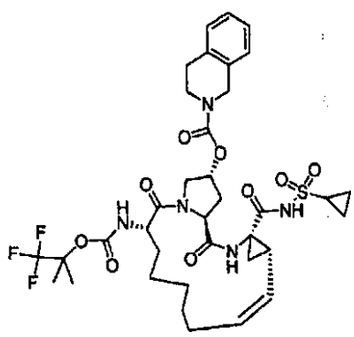
Ejemplo 3-52:



Compuesto AR00320581

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(2,2,2-trifluoro-1-metil-etoxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320581) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos1-2, 2-1 y 3-1, excepto que 1,1,1-Trifluoro-propan-2-ol se utilizó para reemplazar ciclopentanol en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformato MS m/e 768.1 (M^++1).

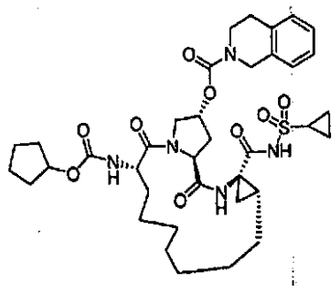
Ejemplo 3-53:



Compuesto AR00320582

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetil-etoxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00320582) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que 1,1,1-Trifluoro-2-metil-propan-2-ol se utilizó para reemplazar ciclopentanol en la Etapa 2 del Ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformato. MS m/e 782.1 (M^++1).

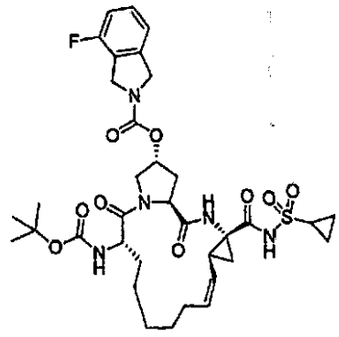
Ejemplo 3-54:



Compuesto AR00324375

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-cyclopentiloxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-18-il éster (Compuesto AR00324375) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-22, 2-1 y 3-1. MS m/e 740.5 (M^++1).

Ejemplo 3-55



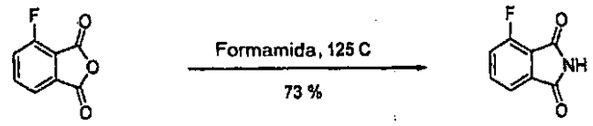
Compuesto AR00334191

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-Fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334191) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que en la Etapa 4 del Ejemplo 1-2, 4-Fluoro-2,3 -dihidro-1H-isoindol se utilizó en sustitución de 1,2,3,4-Tetrahidro-isoquinolina. ^{1}H NMR (500 MHz, d_6-acetona) δ 10.70 (br s, 1 H), 8.34 (d, 1H), 7.39 - 7.33 (m, 1 H), 7.20 (d, 1 H), 7.10 - 7.02 (m, 2 H), 6.13 (d, 1 H), 5.70 (q, 1 H), 5.44 (br s, 1 H), 4.99 (t, 1H), 4.78 - 4.59 (m, 5 H), 4.18 - 4.08 (m, 1 H), 3.88 - 3.81 (m, 1 H), 2.86 - 2.78 (m, 3 H), 2.71 - 2.60 (m, 1 H), 2.52 - 2.35 (m, 3 H), 1.92 - 1.81 (m, 2 H), 1.75 (t, 1 H), 1.61-1.14 (m, 17 H), 1.04 - 0.95 (m, 2 H); - APCI MS m/z 730.4 (M-1).

Ejemplo 3-55a

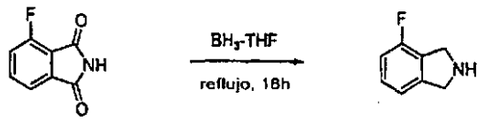
4-Fluoro-2,3-dihidro-1H-isoindol utilizado en el Ejemplo 3-55 se preparó en las siguientes dos etapas:

Etapa 1:



El mejor resultado ocurre cuando el material de inicio se corre a 0.5 M en formamida y se calienta hasta 125°C durante 1 a 5 h dependiendo de la graduación. El material de inicio no es soluble en formamida hasta que la temperatura is > 60 °C. Al terminar la reacción como se menciona por LC/MS (apcineg), el calor se retira y se agrega 3 veces el volumen de la reacción de agua. Después la reacción se deja enfriar a temperatura ambiente y se agita hasta que se ha formado un precipitado amarillo pálido. El producto sólido amarillo se filtra y se lava con agua antes de secarse durante la noche para dar rendimientos entre 70 - 77 %.

Etapa 2:

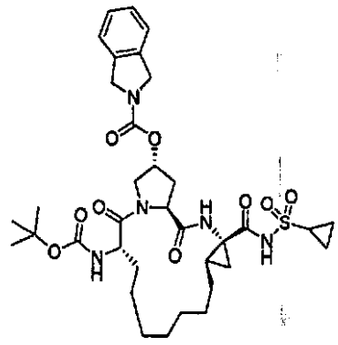


Al material de inicio en un matráz de fondo redondo se agregaron 4 equivalentes de 1 M BH_3-THF a gotas utilizando

un embudo de adición para formar una solución dorada que al calentarse y agitarse se volvió de color cobre. La reacción se calentó entonces a reflujodurante 18 h.

La reacción se enfrió entonces a temperatura ambiente (rt) y después a 0 °C en un baño de hielo. Se agregaron a gotas 4 equivalentes de MeOH y se retiró el baño de hielo de manera que la reacción templada puede calentarse a temperatura ambiente. El color de la reacción se volvió oscura durante este proceso de calentamiento. Después se agregaron a gotas 6 N HCl a temperatura ambiente hasta que el papel de pH mostró que la reacción era acídica y la reacción se refluyó (63 °C) durante 1 h...La reacción se enfrió entonces a temperatura ambiente. En este punto la reacción se concentró y se lavó con Et_2O (2x) y DCM (2x). La capa acuosa se llevó entonces a un pH = 1 1 con pellets de NaOH. Se agregó más agua y la capa acuosa se extrajo con eter (4x). Los extractos convinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para dar un producto de aceite de color canela ligero, que se utilizó directamente. La recuperación de masa es siempre ligeramente mayor que la teórica, pero el material se utiliza crudo como este da > 80 % de rendimiento en la siguiente etapa.

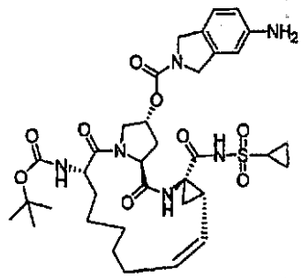
Ejemplo 3-56



Compuesto AR00333833

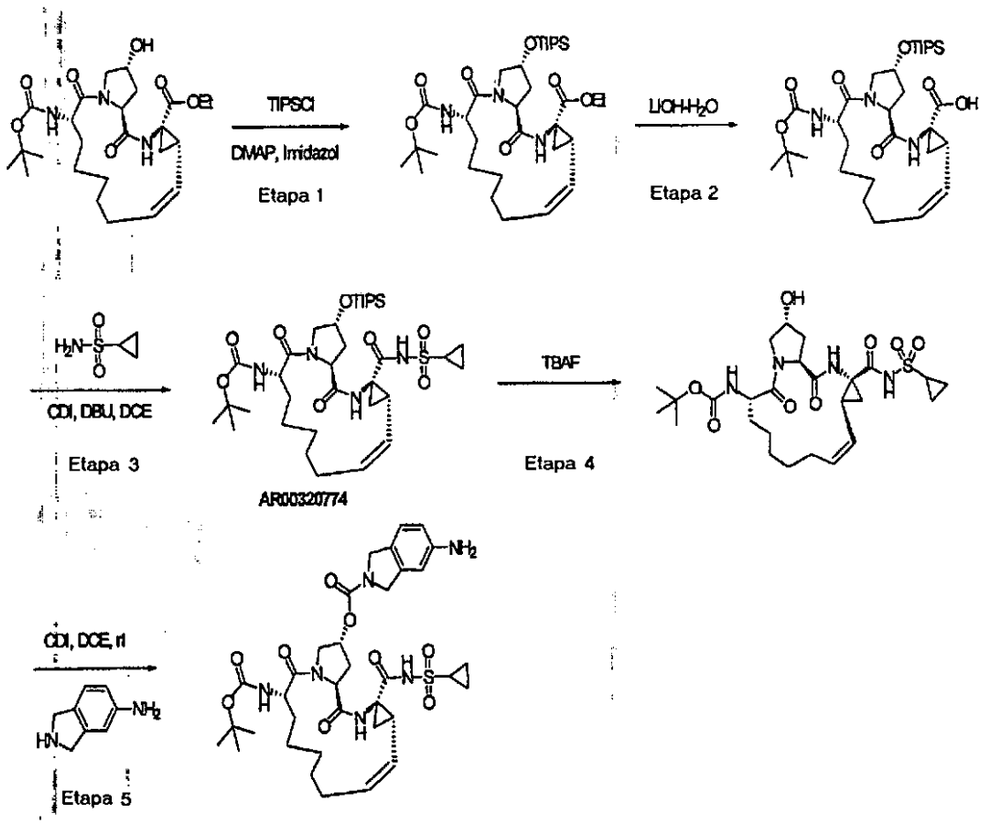
(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-18-il éster (Compuesto AR00333833) se sintetizó de acuerdo con los Ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que en el Ejemplo análogo etapas 1-2, 2,3-Dihidro-1H-isoindol se utilizó en la Etapa 4 en su lugar, y el producto de metatesis de cierre de anillo 10 de la etapa 3 del Ejemplo 1-2 se redujo adicionalmente con H_2 / $Rh-Al_2O_3$ antes de la siguiente etapa de acoplamiento de acuerdo con un procedimiento de la literatura (WO 0059929, p.p. 76-77). ^1H NMR (400 MHz, CD_3SOCD_3) δ 11.11 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 7.16-7.29 (m, 4H), 6.95 (d, 1H), 5.25 (bs, 1H), 4.50-4.60 (bs, 4H), 4.40 (dd, 1H), 4.23 (d, 1H), 3.93 (m, 1H), 3.68 (d, 1H, 2.92 (m, 1H), 2.32 (dd, 1H), 2.11 (m. 1H), 1.40-1.68 (m, 2H), 0.92-1.40 (m, 19H). MS m/z 717.0 (M+1).

Ejemplo 3-57



Compuesto AR00334286

(1S, 4R, 69,14S, 18R)-5-Amino-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334286) se sintetizó de acuerdo conlos procedimientos mostrados en el siguiente esquema.



Etapa 1. Síntesis de (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-ter-Butoxicarbonilamino-2,15-dioxo18-triisopropilsilaniloxy-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-ácido carboxílico etil éster. A una solución del intermediario de hidroximacrociclo libre (compuesto 10 del Ejemplo 1-2, 5.0 g, 10. 1 mmol) en DriSolve DCM (30 ml) se agregó imidazol (827 mg, 1.2 equiv) y TIPSCI (2.15 g, 1.1 equiv). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18h. TLC (5% MeOH-DCM) mostró considerable cantidad de SM aún restante. A esta mezcla de reacción se agregó más imidazol (410 mg), TIPSCI (1 g) y DMAP (121 mg). Después de agitarse

durante la noche, la mezcla de reacción mostró una pequeña cantidad de SM dejada. - La mezcla de reacción se lavó con agua (2 x 25 ml). La capa acuosa combinada se enjuagó con DCM (25 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron y concentraron para dar un aceite amarillo claro. El material crudo se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 2. Síntesis de (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-14-ter-Ácido butoxicarbonilamino-2,15-dioxo18-triisopropilsilaniloxi -3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-carboxílico. El éster SM de la Etapa 1 se disolvió primero en una mezcla de TBF (20 ml) y MeOH (20 ml). A esta mezcla se agregó entonces LiOH-H_20 (2.1 g, 50 mmol) en agua (10 ml) y se agitó durante 12 h a temperatura ambiente. LCMS mostró reacción completa. La mezcla de reacción se concentró hasta casi la sequedad. El residuo sólido se disolvió entonces en 50 ml de agua, se acidificó con 2N HCl, y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhídrido y se concentraron. El material crudo se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

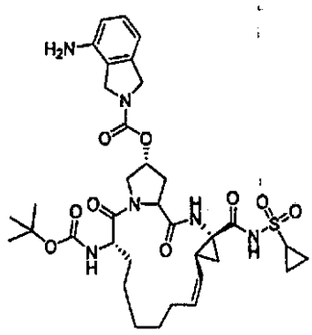
Etapa 3. Síntesis de (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-(4-Ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-18-triisopropilsilaniloxi-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$] nonadec-7-en-14-il) ácido carbámico ter-butil. El ácido SM de la Etapa 2 anterior se disolvió primero en 25 ml

DriSolvel,2-dicloroetano. A esta solución se agregó CDI (2.2 g, 13.8 mmol) en una porción y la reacción se agitó a 50°C durante 3h. Entonces ciclopropil sulfonamida (3.3 g, 27.5 mmol) se agregó a la reacción, seguido por DBU (4.2 g, 27.5 mmol), y la reacción se agitó a 50°C durante 4h. LCMS mostró reacción completa. Para avanzar gradualmente, la mezcla de reacción se lavó con agua (2 x 50 ml), y la capa orgánica se secó (Na_2SO_4 anhid.) y concentró. El material crudo se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 4. Síntesis de (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-(4-Ciclopropanosulfonilaminocarbonil-18-hidroxi-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-14-il)-ácido carbámico tertbutil éster. El producto crudo de la Etapa 3 anterior se disolvió primero en THF (40 ml). A esta solución se agregó entonces TBAF (3.6 g, 13.7 mmol, 1.5 equiv) y se agitó durante 2h a temperatura ambiente. TLC mostró reacción completa. La mezcla de reacción se concentró entonces hasta la sequedad, se redisolvió en EtOAc y se lavó con agua. La capa orgánica se secó (Na_2SO_4 anhíd.) y se concentró. Para purificación, el producto crudo se disolvió en DCM (50 ml) y se lavó con 3N Solución NaOH. La capa acuosa se neutralizó con 2N HCl y se extrajo con DCM (2 x 25 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron hasta dar un sólido blanco puro (2.4 g, 46%). MS m/z (APCI+) 469.1 (MH^+-Boc).

Etapa 5. Síntesis de (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 1,8*R*)-5-Amino-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334286). A una solución DCE del producto de la Etapa 4 anterior (19 mg, 33 μmol) se agregó CDI (7 mg, 1.3 equiv), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. LCMS indicó la reacción completa. 2,3-Dihidro-1H-isoindol-5-ilamina(18mg,4 equiv) se agregó entonces. Después de 4h a temperatura ambiente, LCMS mostró reacción completa. La mezcla de reacción se cargó directamente sobre gel de sílice y se eluyó con 1 a 5% de metanol/DCM. El producto puro se aisló como un sólido blanco. MS m/z (APCI+): 629.2 (MH^+-Boc).

Ejemplo 3-58

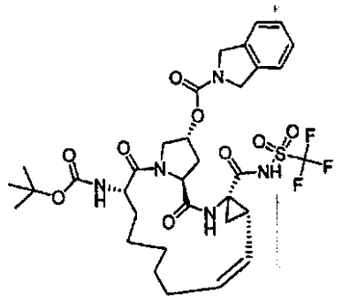


Compuesto AR00334385

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4-Amino-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-

triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334385) se sintetizó mediante un modo similar al descrito en el Ejemplo 3-57, - 2,3-Dihidro-1H-isoindol-5ilamina en la Etapa 5 con 2,3-Dihidro-1H-isoindol-4-ilamina en su lugar. También, la purificación del producto final se llevó a cabo en cromatografía de columna de fase inversa(eluyente = 5 a 100% acetonitrilo en agua), produciendo el producto final como un sólido espumoso beige. MS m/z (APCI-): 728.2 (M^+).

Ejemplo 3-59

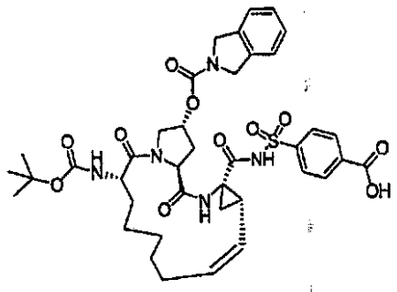


Compuesto AR00340479

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-4-trifluorometanosulfonilaminocarbonil-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$],nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00340479) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que trifluoro-metanosulfonamida se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. ^{1}H NMR (400 MHz, d^6-Acetona): δ 7.98 (brs, 1 H), 7.23-7.35 (m, 4 H), 6.13 (brd, 1 H), 5.70 (q, 1

H), 5.44 (brs 1 H), 4.98-5.02 (m, 1 H), 4.61-4.72 (m, 5 H), 4.49 (d, 1 H), 4.16-4.18 (m, 1 H), 3.87-3.90 (m, 1 H), 2.57-2.59 (m, 2 H), 2.38-2.51 (m, 2 H), 1.82-1.92 (m, 2 H), 1.72-1.79 (m, 2 H), 1.21-1.59 (m, 8 H), 1.21 (s, 9 H). MS m/z (APCI-): 741.1 (M^+)

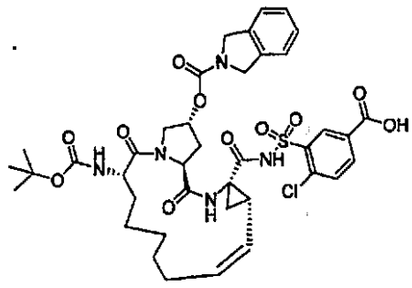
Ejemplo 3-60



Compuesto AR00365387

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-Isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-(4-carboxi-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00365387) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que ácido 4-sulfamoil-benzoico se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. MS m/z (APCI-): 792.3 (M-1).

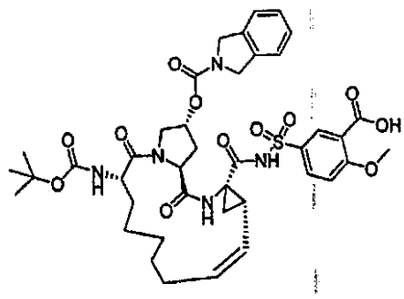
Ejemplo 3-61



Compuesto AR00365388

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-(5-carboxi-2-cloro-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00365388) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que ácido 4-cloro-3-sulfamoil-benzoico se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. MS m/z (APCI-): 826.2 (M-2).

Ejemplo 3-62

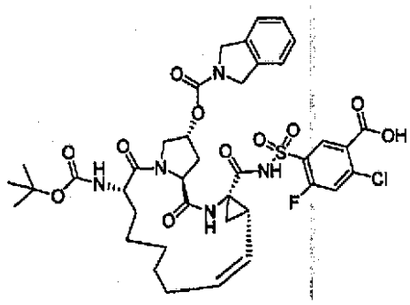


Compuesto AR00365425

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-(3-carboxi-4-metoxi-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-

triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00365425) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que ácido 2-metoxi-5-sulfamoil-benzoico se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. MS m/z (APCI-): 822.3 (M-1).

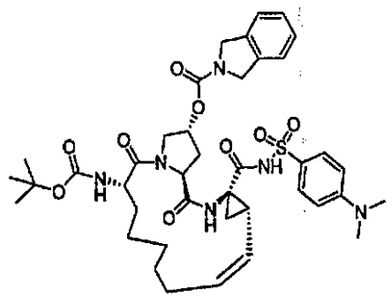
Ejemplo 3-63



Compuesto AR00365426

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-(5-carboxi-4-cloro-2-fluoro-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00365426) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que ácido 2-cloro-4-fluoro-5-sulfamoil-benzoico se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. MS m/z (APCI-): 844.2 (M-2).

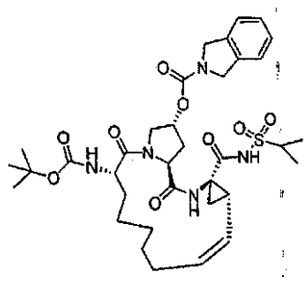
Ejemplo 3-64



Compuesto AR00365572

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-(4-dimetilamino-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00365572) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 4-dimetilaminobencenosulfonamida se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. MS m/z (APCI-): 791.3 (M-1).

Ejemplo 3-65

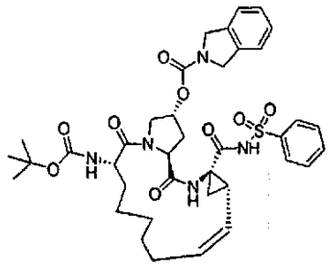


Compuesto AR00333801

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-4-(propano-2-sulfonilaminocarbonil)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto

AR00333801) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que ácido propano-2-sulfónico amida se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. MS m/z (APCI-): 714.4 (M-1).

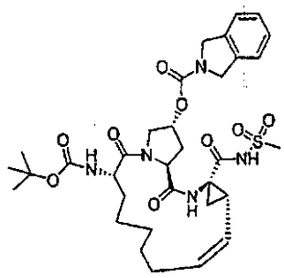
Ejemplo 3-66



Compuesto AR00333802

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 4-bencenosulfonilaminocarbonil-14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00333802) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que bencenosulfonamida se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. MS m/z (APCI-): 748.3 (M-1).

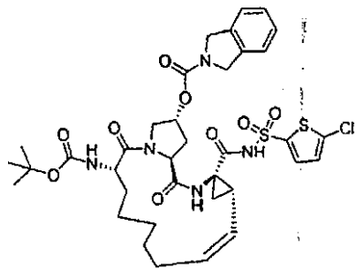
Ejemplo 3-67



Compuesto ARD00333803

(1*S*, 4*R*, 6*8*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-metanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il estar (Compuesto AR00333803) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que metanosulfonamida se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. MS m/z (APCI-): 686.4 (M-1).

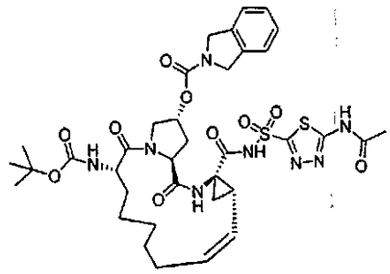
Ejemplo 3-68



Compuesto AR00334188

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*,18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-(5-cloro-tiofen-2-sulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334188) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que ácido 5-cloro-tiofen-2-sulfónico amida se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. MS i-m/z (APCI-): 788.3 (M-2).

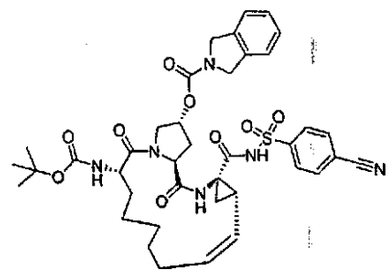
Ejemplo 3-69



Compuesto AR00334247

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 4-(5-acetilamino-[1,3,4]tiadiazol-2-sulfonilaminocarbonil)-14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334247) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que N-(5-Sulfamoil-[1,3,4]tiadiazol-2-il)-acetamida se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. ^{1}H NMR (400 MHz, d^6-Acetona): δ 7.24-7.31 (m, 4 H), 5.96 (brd, 1 H), 5.42 (brs 1 H), 5.28 (m, 1 H),5.15 (m, 1 H), 4.68 (m, 6 H), 4.49 (m, 1 H), 4.14 (m, 2 H), 2.60 (m, 1 H), 2.25-2.36 (m, 5 H), 1.70-2.19 (m, 8 H), 1.19-1.48 (m, 4 H), 1.30 (s, 9 H). MS m/z (APCI-): 813.3 (M-1).

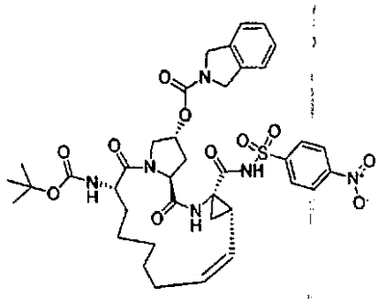
Ejemplo 3-70



Compuesto AR00334248

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-(4-ciano-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334248) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 4-ciano-bencenosulfonamida se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonainide. ^{1}H NMR (400 MHz, d^6 Acetona): δ 11.32 (brs, 1 H), 8.36 (brs, 1 H), 8.04-8.15 (m, 4 H), 7.22-7.35 (m, 4 H), 6.12 (brd, 1 H), 5.47 (brs 1 H), 5.28 (q, 1 H), 4.60-4.72 (m, 5 H), 4.48-4.54 (m, 2 H), 4.14-4.17 (m, 1 H), 3.86-3.90 (m, 1 H), 2.37-2.52 (m, 4 H), 1.72-1.85 (m, 2 H), 1.59-1.62 (m, 1 H), 1.20-1.55 (m, 8 H), 1.20 (s, 9 H). MS m/z (APCI-): 773.3 (M-1).

Ejemplo 3-71

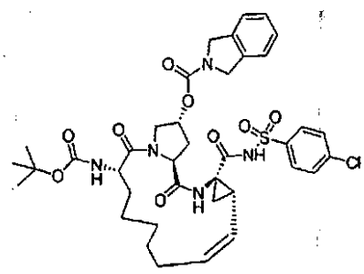


Compuesto AR00334249

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-(4-nitro-

bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334249) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, except que 4-nitro-bencenosulfonamida se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. ^{1}H NMR (400 MHz, d^6-Acetona): δ 11.39 (brs, 1 H), 8.46 (d, 2 H), 8.35 (brs, 1 H), 8.23 (d, 2 H), 7.23-7.36 (m, 4 H), 6.11 (brd, 1 H), 5.47 (brs 1 H), 5.23 (q, 1 H), 4.59-4.72 (m, 5 H), 4.49-4.54 (m, 2 H), 4.15 (m, 1 H), 3.86-3.90 (m, 1 H), 2.40-2.53 (m, 4 H), 1.72-1.85 (m, 2 H), 1.59-1.62 (m, 1 H), 1.20-1.56 (m, 8 H), 1.20 (s, 9 H). MS m/z (APCI-): 793.3 (M-1).

Ejemplo 3-72

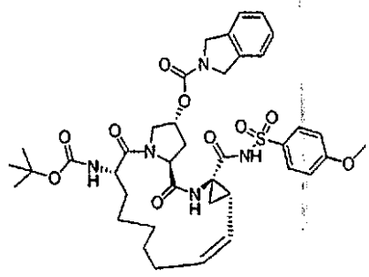


Compuesto AR00334250

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-(4-cloro-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il estar (Compuesto AR00334250) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 4-cloro-

bencenosulfonamida se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. ^{1}H NMR (400 MHz, d^6- Acetona): δ 11.16 (brs, 1 H), 8.34 (brs, 1 H), 7.96 (d, 2 H), 7.65 (d, 2 H), 7.22-7.36 (m, 4 H), 6.13 (brd, 1 H), 5.46 (brs 1 H), 5.27 (q, 1 H), 4.59-4.71 (m, 5 H), 4.48-4.54 (m, 2 H), 4.14-4.18 (m, 1 H), 3.87-3.89 (m, 1 H), 2.35-2.52 (m, 4H) 1.75-1.85 (m, 2 H), 1.58-1.61 (m, 1 H), 1.20-1.53 (m, 8 H), 1.20 (s, 9 H). MS m/z (APCI-): 782.3 (M-2).

Ejemplo 3-73

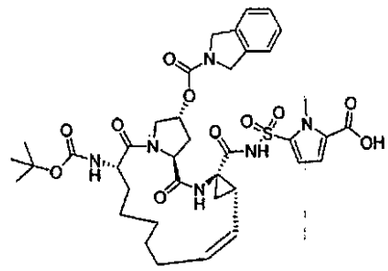


Compuesto AR00334341

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-(4-metoxi-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334341) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 4-metoxi-bencenosulfonamida se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. ^{1}H NMR (400 MHz, d^6- Acetona): δ 8.26 (brs, 1 H), 7.84 (d, 2 H), 7.19-7.32 (m, 4 H), 7.05 (d, 2 H), 6.08 (brd, 1 H), 5.43 (brs 1 H), 5.25 (q, 1 H), 4.55-

4.67 (m, 5 H), 4.48 (q, 2 H), 4.10-4.14 (m, 1 H), 3.87 (s, 3 H), 3.82-3.87 (m, 1H), 2.29-2.47 (m, 4 H), 1.74-1.84 (m, 2 H), 1.51-1.55 (m, 1 H), 1.37-1.47 (m, 4 H), 1.20-1.32 (m, 5 H), 1.117 (s, 9 H). MS m/z (APCI-): 779.1 (M-1).

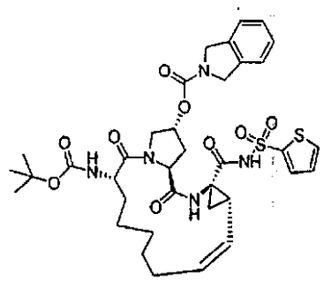
Ejemplo 3-74



Compuesto AR00364266

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18R)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-(5-carboxi-1-metil-1H-pirrol-2-salfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compusto AR00364266) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 1-metil-5-sulfamoil-1H-pirrol-2-ácido carboxilico se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. ^{1}H NMR (400 MHz, d^6-Acetona: δ 10.84 (brs, 1 H), 8.27 (brs, 1 H), 7.59 (d, 1 H), 7.24-7.35 (m, 4 H), 7.18 (d, 1 H), 6.10 (brd, 1 H), 5.50 (br, 1 H), 5.46 (m 1 H), 5.36 (q, 1 H), 4.59-4.71 (m, 6 H), 4.48 (d, 1 H), 4.13-4.17 (m, 1 H), 4.00 (s, 3 H), 3.85-3.89 (m, 1H), 2.35-2.59 (m, 4 H), 1.71-1.90 (m, 2 H), 1.62-1.65 (m, 1 H), 1.20-1.51 (m 8 H), 1.20 (s, 9 H). MS m/z (APCI-): 795.4 (M-1).

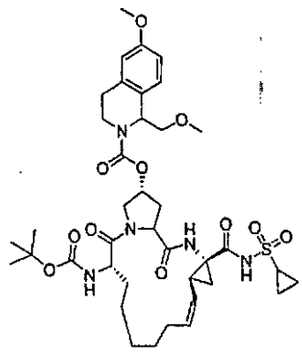
Ejemplo 3-75



Compuesto AR00365427

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-4-(tiofen-2-sulfonilaminocarbonil)-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00365427) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que ácido tiofen-2-sulfónico amida se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. MS m/z (APCI-): 754.4 (M-1).

Ejemplo 3-76

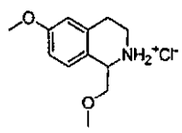


Compuesto AR00334339

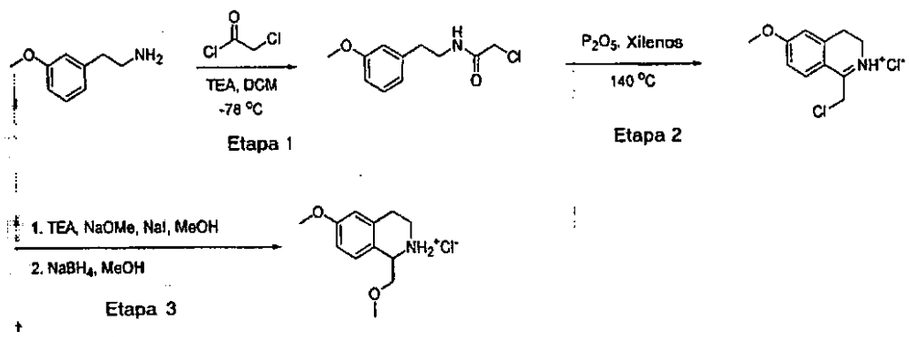
(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-6-Metoxi-1-metoximetil-3,4-

dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334339) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 6-metoxi-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina (para síntesis ver el Ejemplo 3-76a) se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol. MS m/z (APCI-): 800.5 (M-1).

Ejemplo 3-76a



La síntesis de Cloruro de 6-metoxi-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolinio se representa en el siguiente esquema:



Etapa 1: Síntesis de 2-Cloro-N-[2-(3-metoxi-fenil)-etil]-acetamida. La amina, 2-(3-Metoxi-fenil)-etilamina, se absorbió como una solución 0.6 M en DCM, seguida por la adición de TEA (2 equiv.). La mezcla se enfrió

entonces en un baño de IPA/ hielo seco. Cuando la temperatura de la reacción alcanzó - 60°C, se agregó una solución de cloroacetilcloruro en DCM (2.6 M) se agregó gota a gota a fin de mantener la temperatura por abajo de - 60°C. Después de completar la adición, la reacción se agitó a -60°C durante 1 h. La reacción se calentó entonces a -20°C y se filtró sobre papel filtro GF para retirar algo del TEA - sal de HCl. El filtrado se calentó el resto del camino a temperatura ambiente y se transfirió a un embudo de separación en donde se lavó con 1 N HCl (2x) y salmuera. La capa orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró para dar un sólido púrpura oscuro. Este producto crudo se utilizó directamente en la siguiente Etapa sin purificación adicional.

Etapa 2: Síntesis de Cloruro de 1-clorometil-6-metoxi-3,4-dihidro-isoquinolinio. Dos equiv. de P_2O_5 (12.9 g) se hirvió en xilenos (1 80 ml) como una solución 0.25 M. El producto crudo de la Etapa 1 anterior también se hirvió primero en xilenos (45 ml) para hacer una solución 0.5 M, y se agregó entonces gota a gota a través de un embudo de adición a la solución P_2O_5. La mezcla se agitó y se calentó a reflujo durante 1h. La reacción se enfrió entonces a temperatura ambiente y los xilenos se decantaron en este punto. El matraz se colocó entonces en un baño de hielo y se agitó mientras en el hielo, agua, EtOAc, y finalmente se

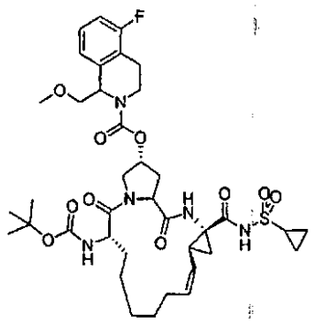
agregó NAGH 4 M cuidadosamente hasta el pH >12. La reacción se mantuvo a < 25°C hasta que se alcanzó el pH = 12. La reacción se extrajo entonces con EtOAc (3x). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO4 y se concentraron para dar una solución oscura. Esta se enfrió en un baño de hielo mientras se agregaban 400 ml de Et_2O frío seguido por 100 ml de HCI/ Et_2O frío. Se formó un precipitado y se filtró aparte, lavándolo con Et_2O. El sólido se colocó inmediatamente en alto vacío durante 2h para dar el producto objetivo como un sólido espumoso coloreado. Este producto crudo se utilizó directamente en la siguiente Etapa sin purificación adicional.

Etapa 3: Síntesis de Cloruro de 6-metoxi-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolinio. El producto crudo de la Etapa 2 anterior se agregó en una porción a TEA (5 equiv.) y NaI (0. 1 equiv.) en MeOH a 0°C. A continuación, 2.2 equiv. de NaOMe se agregó y la reacción homogénea se volvió turbia. La reacción se agitó entonces a 0°C durante 1 h. LC/MS mostró la imina completamente libre de base.

La reacción se enfrió entonces de nuevo a 0°C en un baño de hielo y se agregó cuidadosamente $NaBH_4$ (1.5 equiv.). La reacción se calentó entonces temperatura ambiente de nuevo y se agitó durante 2h. Después la reacción alcasnzó la terminación como se monitoreo por LC/MS, se concentró, se

trató con 1 N NAOH y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó sobre MgSO4 y se concentró. El residuo resultante se absorbió en MeOH y se enfrió en un baño de hielo. Se burbujeó gas de HCl a través de él durante 10 min. La mezcla de reacción se concentró y re-disolvió en MeOH. Después de concentrar una segunda vez la reacción se puso en el alto vacío durante la noche. El material crudo se trituró entonces con EtOAc (3x) para dar el producto como un sólido espumoso café al asentarse durante la noche el el alto vacío. Este producto crudo se utilizó directamente en la siguiente Etapa sin purificación adicional. MS m/z (POSESI): 208.1 (MH).

Ejemplo 3-77

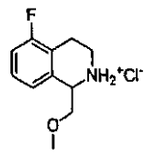


Compuesto AR00365193

(1*S*, 4*R*, 6S,14S, 18R)-5-Fluoro-1-metoximetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00365193) se sintetizó de acuerdo con los

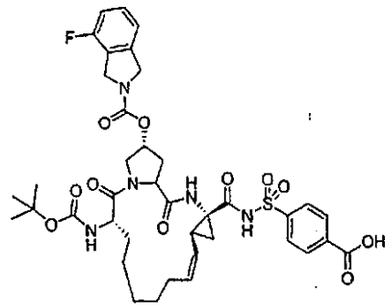
procedimientos descritos en el Ejemplo 3-76, excepto que cloruro de 5-fluoro-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolinio (para síntesis ver Ejemplo 3-77a) se utilizó para reemplazar cloruro de 6-metoxi-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolinio. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.99 - 8.91 (m, 1H), 7.23 - 7.15 (m, 1H), 7.13 - 6.99 (m, 2H), 6.99 - 6.90 (m, 1H), 5.68 (q, 1H), 5.41 (br s, 1H), 5.35 - 5.21 (m, 1H), 5.06 (t, 1H), 4.60 -4.31 (m, 3H), 4.30 - 4.05 (m, 3H), 3.96 - 3.81 (m, 1H), 3.80 - 3.56 (m, 3H), 3.35 (d, 3H), 2.98 ÷ 2.30 (m, 9H), 1.91 - 1.68 (m, 4H), 1.64 - 0.95 (m, 16H); MS (APCI-) m/z 788.3 (M-1),

Ejemplo 3-77a



La síntesis de cloruro 5-fluoro-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolinio se llevó a cabo en una manera similar como la representada en el Ejemplo 3-76a, excepto que en la Etapa 1, 2-(2-Fluoro-fenil)-etilamina se utilizó para reemplazar 2-(3-Metoxi-fenil)-etilamina.

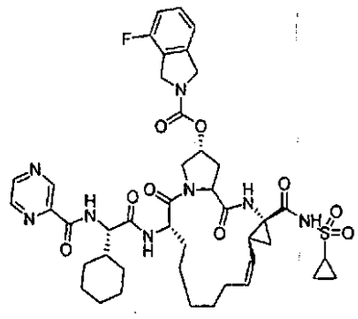
Ejemplo 3-78



Compuesto AR00365438

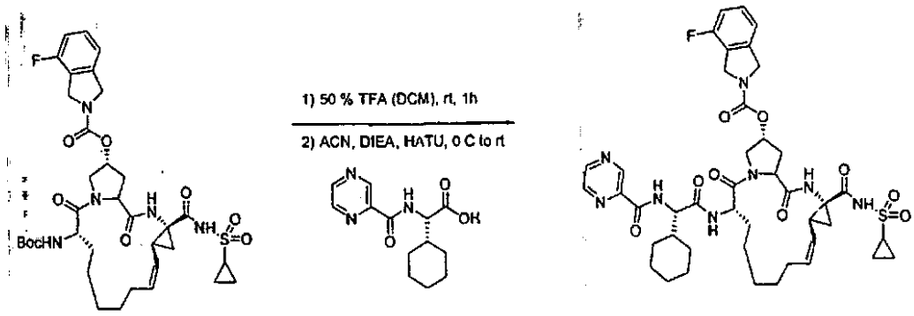
(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4-Fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-(4-carboxi-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en- 1 8-il éster (Compuesto AR00365438) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-55, excepto que ácido 4-sulfamoil-benzoico se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida. ^{1}H-N MR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.92 (d, 1H), 8.25 - 8.19 (m, 1H), 8.15 (d, 2H), 8.04 (d, 2H), 7.36 - 7.27 (m, 1H), 7.14 (d, 1H), 7.05 - 6.95 (m, 2H), 5.42 (br s, 1H), 5.26 (q, 1H), 4.82 - 4.50 (m, 8H), 4,10 - 4.00 (m, 1H), 3.85 (d, 1H), 3.75 - 3.69 (m, 1H), 2.60 - 2.39 (m, 4H), 2.26 (p, 2H), 1.89 - 1.84 (m, 1H), 1.81 - 1.05 (m, 15H); MS (APCI-): m/z 810.2 (M-1).

Ejemplo 3-79



Compuesto AR00340303

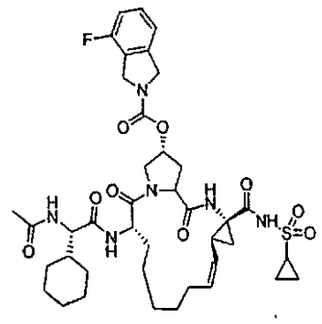
Síntesis de (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4-Fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-{2-ciclohexil-2-[(pirazin-2-carbonil)-amino]-acetilamino}-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00340303).



El material de inicio (AR00334191, Ejemplo 3-55, 10 mg, 13.7 µmol) se disolvió en 1 ml de 50% TFA (DCM) y se agitó a temperatura ambiente durante 1h. La mezcla de reacción se concentró entonces hasta la sequedad, se absorbió en acetonitrilo y se concentró de nuevo. Se repitió el proceso anterior una vez más para retirar cualquier exceso de

TFA. El residuo sólido resultantese disolvió entonces en DCE (137 µl), se enfrió a 0°C en un baño de hielo, seguido por la adición del aminoácido, ácido ciclohexil-[(pirazin-2-carbonil)-amino]-acético (1.05 equiv.), HATU (10 mg) y DIEA (4 gotas). La mezcla se dejó calentar ligeramente a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. Para avanzar gradualmente, la mezcla de reacción se cargó directamente en una columna C-18 y se purificó con cromatografía de columna de fase inversa, dándo el compuesto objetivo como un sólido blanco. MS (APCI-): m/z 876.1 (M-1).

Ejemplo 3-80

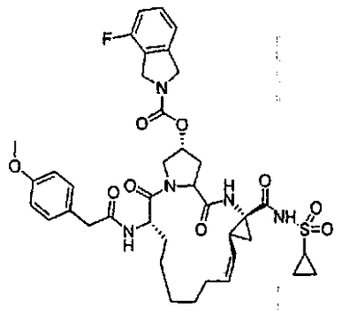


Compuesto AR00340122

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4-Fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-(2-acetilamino-2-ciclohexil-acetilamino)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00340122) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-79, excepto que ácido acetilaminocicloliexil-acético se utilizó para

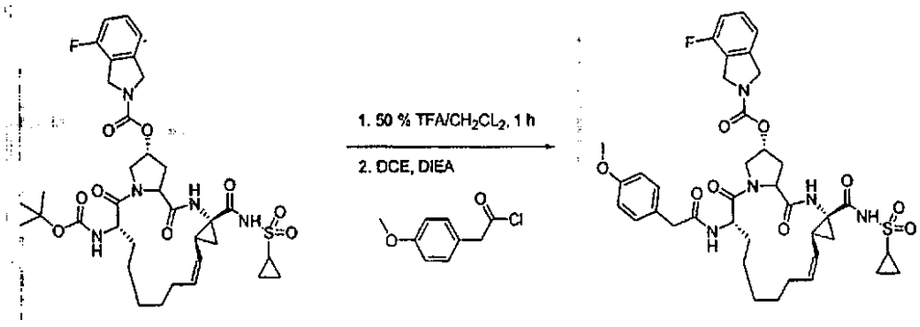
reemplazar ácido ciclohexil-[(pirazin-2-carbonil)-amino]-acético. MS (APCI-): m/z 811.3 (M-1).

Ejemplo 3-81



Compuesto AR00340156

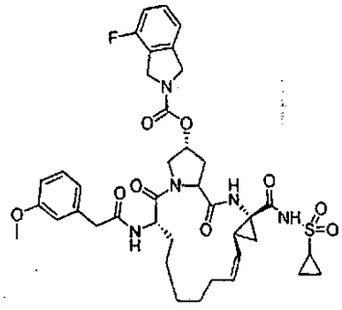
Síntesis de (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4-Fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-14-[2-(4-metoxi-fenil)-acetilamino]-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$] nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00340156).



El material de inicio (AR00334191, Ejemplo 3-55, 10 mg, 13.7 µmol) se disolvió en 1 ml de 50% TFA (DCM) y se agitó a temperatura ambiente durante 1h. La mezcla de reacción se concentró entonces hasta la sequedad, se absorbió

en acetonitrilo y se concentró de nuevo. Se repitió el proceso anterior una vez más para retirar cualquier exceso de TFA. El residuo sólido resultante se disolvió entonces en DCE (137 µl), seguido por la adición del cloruro de ácido, Cloruro (4-metoxi-fenil)-acetil (2 gotas) y DIEA (4 gotas). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de terminada, la reacción se cargó directamente en una columna C-18 y se purificó con cromatografía de columna de fase inversa. El compuesto se purifió adicionalmenye en cromatografía de gel de sílice de fase normal (eluyente = 40% EtOAc/hexanes con 1% de ácido fórmico) para dar el compuesto objetivo como un sólido blanco. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.33 (p, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.05 -6.92 (m, 3H), 6.65 (dd, 2H), 5.68 (q, 1H), 5.40 (br s, 1H), 5.09 (t, 1H), 4.78 - 4.46 (M, 7H), 4.43 - 4.24 (m, 2H), 3.89 - 3.80 (m, 1H), 3.68 (d, 3H), 3.21 (d, 1H), 2.69 - 2.57 (m, 1H), 2.52 - 2.30 (m, 5H), 2.06 - 0.80 (m, 15H); MS (APCI-): m/z 778.3 (M-1).

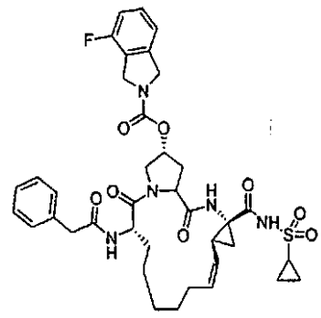
Ejemplo 3-82



Compuesto AR00340178

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4-Fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-14-[2-(3-metoxi-fenil)-acetilamino]-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il estar (Compuesto AR00340178) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-81, excepto que Cloruro de (3-metoxi-fenil)-acetil se utilizó para reemplazar Cloruro de (4-metoxi-fenil)-acetilo. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.32 (p, 1H), 7.14 (d, 1H), 7.05 - 6.92 (m, 3H), 6.76 - 6.58 (m, 2H), 5.68 (q, 1H), 5.41 (br s, 1H), 5.09 (t, 1H), 4.76 - 4.46 (m, 7H), 4.43 - 4.26 (m, 2H), 3.91 - 3.82 (m, 1H), 3.69 (d, 3H), 2.94 - 2.85 (m, 1H), 2.70 - 2.57 (m, 1H), 2.52 - 2.30 (m, 5H), 2.06 - 0.80 (m, 15H); MS (APCI-) m/z 778.3 (M-1).

Ejemplo 3-83

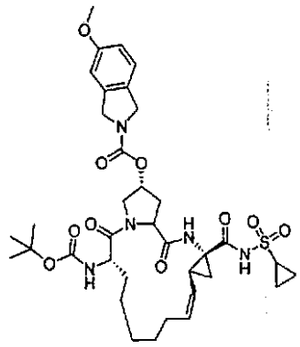


Compuesto AR00340188

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4-Fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-

fenilacetilamiNo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00340188) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-8 1, excepto que fenil-acetil cloruro se utilizó para reemplazar (4-metoxi-fenil)-acetil cloruro. MS (APCI-) m/z 748.4 (M-1).

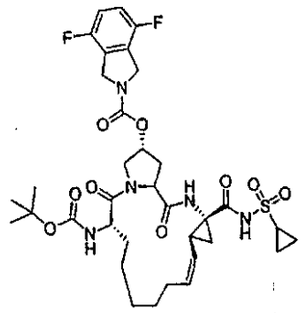
Ejemplo 3-84



Compuesto AR00334314

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-Metoxi-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334314) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 5-metoxi-2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado de manera similar como se describe en: JOC, Vol. 53, No. 22, 1988, pp.53815383) se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol. MS m/z (APCI-): 742.3 (M-1).

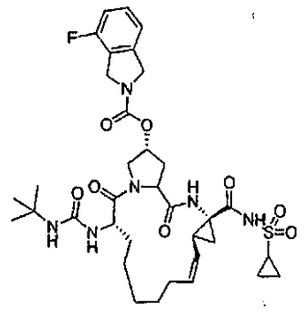
Ejemplo 3-85



Compuesto AR00334399

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4,7-Difluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334399) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 4,7-Difluoro-2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado de manera similar como se describe en: JOC, Vol. 53, No. 22, 1988, pp.5381-5383) se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.97 (s, 1H), 6.99 - 6.85 (m, 2H), 5.69 (q, 1H), 5.42 (br s, 1H), 5.07 (t, 1H), 4.83 - 4.57 (m, 6H), 4.51 (d, 1H), 4.13 - 4.02 (m, 1 H), 3.85 (t, 1H), 2.94 - 2.86 (m, 1H), 2.73 - 2.59 (m, 1H), 2.55-2.28 (m, 4H), 1.89- 1.70 (m, 3H), 1.65- 1.22 (m, 10H), 1.18-0.96 (m,10H),MS m/z (APCI-): 746.1 (M-1).

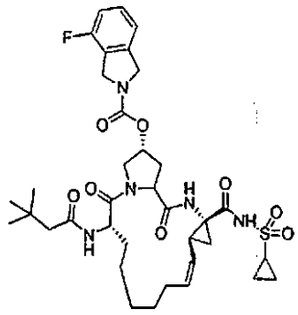
Ejemplo 3-86



Compuesto AR00338066

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4-Fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-(3-tertbutil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00338066)se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-36, excepto que 4-fluoro-2,3 - dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol. ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.38-7.28 (m, 1H), 7.13 (d, 1H), 7.01 (p, 1H), 5.69 (q, 1H), 5.45 (br s, 1H), 5.07 (t, 1H), 4.83 - 4.66 (m, 4H), 4.59 (q, 1 H), 4.49 (d, 1H), 4.37 - 4.17 (m, 2 H), 3.94 - 3.84 (m, 1 H), 3.72 (t, 1H), 2.95 - 2.87 (m, 1 H), 2.68 - 2.29 (m, 5 H), 2.09 - 1.22 (m, 11 H), 1.12 - 0.95 (m, 12H); MS (APCI-): m/z 729.3 (M-1).

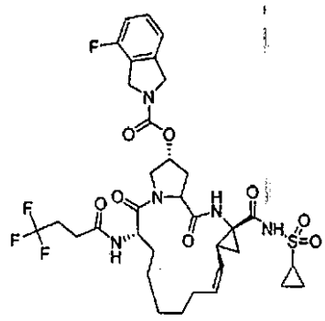
Ejemplo 3-87



CompuestoAR00338070

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4-Fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-14-(3,3-dimetil-butirilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00338070) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-81, excepto que 3,3-dimetil-butiril cloruro se utilizó para reemplazar (4-metoxi-fenil)-acetil cloruro. MS (APCI-) m/z 728.3 (M-1).

Ejemplo 3-88

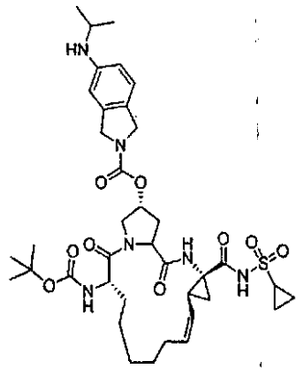


Compuesto AR00338071

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4-Fluoro-1,3-dihidro-

isoindol-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(4,4,4-trifluoro-butirilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00338071) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-81, excepto que 4,4,4-trifluoro-butiril cloruro se utilizó para reemplazar (4-metoxi-fenil)-acetil cloruro. MS (APCI-) m/z 754.3 (M-1).

Ejemplo 3-89

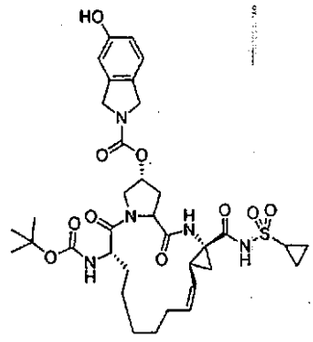


Compuesto AR00341649

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-Isopropilamino- 1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00341649) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que (2,3-Dihidro-1H-isoindol-5-il)-isopropil-amina (preparado de manera similar como se describe en: Org. Letters, 2003, Vol.

5, No. 6,793-796.) se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol. ^{1}H NNM (500 MHz, CD_3OD) δ 8.94 (br d, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.48 (d, 1H), 7.41 - 7.32 (m, 2H), 7.32 - 7.24 (m, 2H), 5.69 (q, 1H), 5.41 (br s, 1H), 5.07 (t, 1H), 4.82 - 4.66 (m, 3H), 4.60 (t, 1H), 4.52 (t, 1H), 4.08 (d, 1H), 3.85 (d, 1H), 3.80 - 3.68 (m, 1H), 2.94 - 2.87 (m, 1H), 2.71 - 2.59 (m, 1H), 2.55 - 2.45 (m, 1H), 2.45 - 2.30 (m, 3H), 1.88 - 1.69 (m, 3H), 1.61 (t, 1H), 1.58 - 0.94 (m, 25H); MS (APCI): m/z 770.1 (M-1).

Ejemplo 3-90

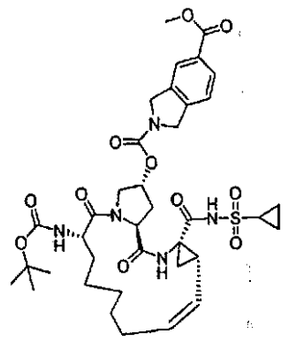


Compuesto AR00364936

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-Hidroxi-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il estar (Compuesto AR00364936) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 2,3-Diliydro-1H-isoindol-5-ol (preparado de manera similar como se describe

en: JOC, Vol. 53, No. 22, 1988, pp.5381-5383) se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol. MS m/z (APCI-): 728.2(M-1).

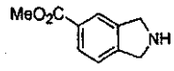
Ejemplo 3-91



Compuesto AR00365083

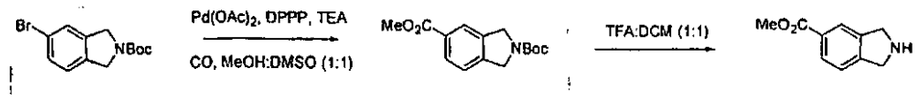
(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2,5-ácido dicarboxílico 2-(14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il) éster 5-metil éster (Compuesto AR00365083) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-57, excepto que 2,3-dihidro- 1H-isoindol-5-ácido carboxílico metil éster (preparado como se muestra en el Ejemplo 3-91a) se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol-5-ilamina en lugar de la Etapa 5. MS m/z (APCI+): 672.2 (MH^+-BOC).

Ejemplo 3-91a



2,3-Dihidro-1H-isoindol-5-ácido carboxílico metil

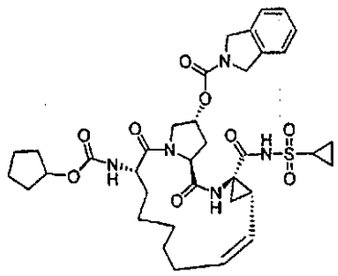
éster se sintetizó de acuerdo con el siguiente esquema:



Una mezcla de 5-bromo-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico ter-butil éster (200 mg, 0.67 mmol), Pd(OAc)2 (30 mg, 0.2 equiv), DPPP (55 mg, 0.2 equiv), TEA (0.93 ml, 10 equiv) y MeOH:DMSO (1:1, 4 ml) se agitó durante 16 h bajo CO (balón) a 80°C. LC-MS y TLC (20% EtOAc-Hexano) mostraron la terminación de la reacción. La mezcla de reacción se concentró para retirar MeOH y diluirla con EtOAc (10 ml), y se lavó con agua (2 x 25 ml). La capa orgánica se secó (Na_2SO_4), se concentró y se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice (eluyente = 20% EtOAc-Hexano), dándo 1,3-dihidro-isoindol-2,5-ácido dicarboxílico 2-ter-butil éster 5-metil éster puro (150 mg, 81%). MS (APCI+): m/z 178.1 (MW-Boc).

El producto anterior se retiró del grupo protector al tratalo con 50% TFA-DCM durante 1h a 0°C - temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró hasta la sequedad, se re-disolvió en DCM, y se neutralizó con solución NaHCO3 sat. La capa orgánica se separó, se secó y se concentró para dar el compuesto objetivo como una base libre, la cual se utilizó directamente en la siguiente Etapa de acoplamiento sin purificación adicional.

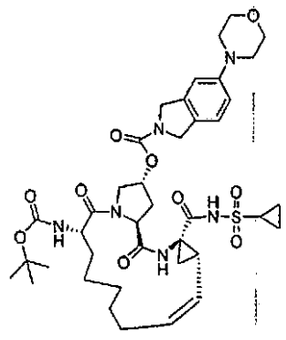
Ejemplo 3-92



Compuesto AR00333831

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ciclopentiloxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00333831) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-5, excepto que 2,3-dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en su lugar. ^{1}HNMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7.36-7.22 (m, 3H), 7.21-7.16 (m, 1H), 5.74-5.60 (m, 1H), 5.40 (s, 1H), 5.20-5.03 (m, 1H), 4.80-4.54 (m, 6H), 4.38-4.28 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 3.90-3.80 (m, 1H), 2.96-2.85 (m, 1H), 2.70-2.3 1 (m, 4H), 1.92-0.98 (m, 24 H). MS m/z (APCI-): 724.4 (M-1).

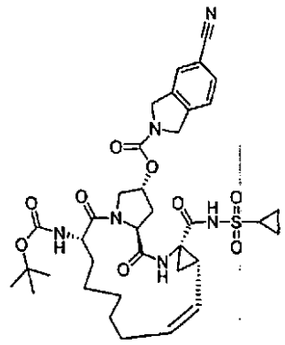
Ejemplo 3-93



Compuesto AR00340494

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-Morfolin-4-il-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3 .0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00340494) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 5-morfolin-4-il-2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado mediante un modo similar como se describe en: J. Org. Chem. **2000**, 65, 1144-1157) se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol. ^{1}HNMR (400 MHz, DMSO-d^6): δ 7.80-7.22 (m, 1H), 7.22-7.15 (m, 1H), 7.00-6.81 (m, 2H), 5.45-(m, 1H), 5.26 (m, 1H), 4.62-4.50 (m, 4H), 4.42 (m, 1H), 4.28-4.10 (m, 2H), 3.98 (m, 1H), 3.76 (m, 4H), 3.12 (m, 4H), 2.71-2.60 (m, 1H), 2.40-1.45 (m, 3H), 1.40-1.21 (m, 10H), 0.98-0.61 (m, 4H). MS m/z (APCI+):699.2 (MH^+-Boc).

Ejemplo 3-94

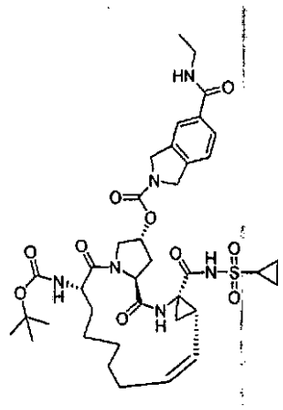


Compuesto AR00365082

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-Ciano-1,3-dihidro-

isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00365082) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 2,3-dihidro-1H-isoindol-5-carbonitrilo (preparado de manera similar como se describe en: J. Org. Chem. 1998, 63, 8224-8228) se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol. MS m/z (APCI+): 639.1 (MH^+-Boc).

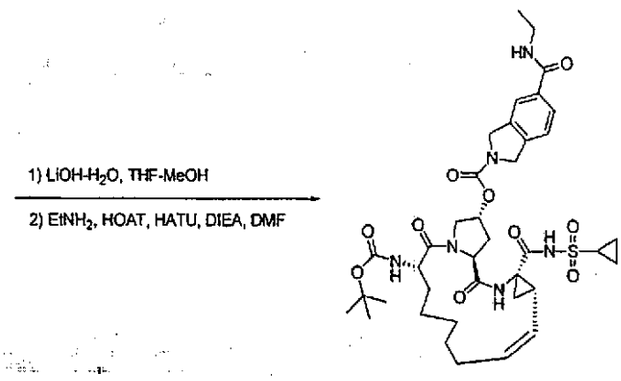
Ejemplo 3-95



Compuesto AR00365252

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-Etilcarbamoil-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00365252) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el siguiente esquema:

Compuesto Aroo365083

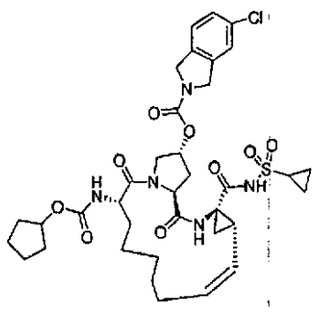


Compuesto AR00365083 (70 mg, 91 ptmol),del cual se describió la síntesis al principio de este documento, se disolvió en a THF: MeOH (2:1, 3 ml) se mezcló, seguido por la adición de 1 ml de solución acuosa de LiOH-$H_2$0. La reacción se agitó durante 1h a temperatura ambiente. LC-MS indicó la terminación de la hidrólisis, la reacción se dejó continuar por otros 30 min antes de concentrarse, se neutralizó con 0.1 N HCl y se extrajo con 5 ml de EtOAc. La capa orgánica se secó (Na_2SO_4), se concentró y purificó con cromatografía de columna de gel de sílice (eluyente = 5 - 7% MeOH-DCM) para dar el producto de hidrólisis como un sólido blanco. MS (APCI+): m/z 658.1 (MH^+-Boc).

El producto de la Etapa anterior (23 mg, 30 µmol) se disolvió primero en DMF anhídrido (2 ml), seguido por la adición de etilamina (3 equiv), HOAT (3 equiv), y HATU (3 equiv), y finalmente DIEA (6 equiv) se agregaron gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. LC-MS mostró la terminación de la reacción. La

mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (5 ml) y se lavó con agua (2 x 10 ml). La capa orgánica se secó, se concentró y el producto crudo se purificó por TLC preparatorio. MS (APCI+): 685.2 (MH+-Boc).

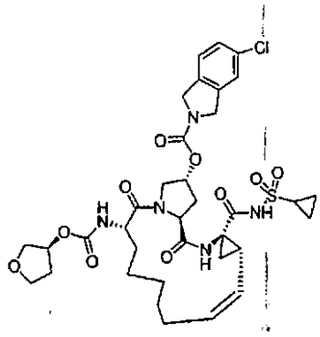
Ejemplo 3-96



Compuesto AR00334218

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-Cloro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ciclopentiloxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334218) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-5, excepto que 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en su lugar. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3CN) δ 7.55 (bs, 1H), 7.19-7.33 (m, 3H), 5.63-5.73 (m, 2H), 5.27-5.34 (m, 1H), 4.98 (t 1H), 4.52-4.72 (m, 5H), 4.48 (t, 1H), 4.34-4.44 (m, 1H), 4.06-4.15 (m, 1H), 2.77-2.90 (m, 2H), 2.54 (bs, 1H), 2.24-2.44 (m, 3H), 1.64-1.75 (m, 2H), 1.13-1.57 (m, 18H), 0.91-1.09 (m, 4H). MS m/z 759.9 (M+1).

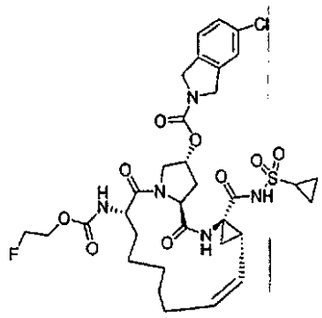
Ejemplo 3-97



Compuesto AR00334220

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-Cloro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(tetrahidro-furan-3-iloxicarbonilamino)3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334220) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-16, excepto que 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en su lugar. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3CN) δ 7.57 (bs, 1H), 7.20-7.34 (m, 3H), 5.87-5.93 (m, 1H), 5.65 (q, 1H), 5.31 (bs, 1H), 5.23-5.29 (m, 1H), 4.98 (t, 1H), 4.44-4.71 (m, 5H),4.29-4.39 (m, 1H), 4.07-4.18 (m, 1H), 3.70-3.87 (m, 4H), 3.61-3.70 (m, 1H), 3.44-3.55 (m, 2H), 3.30-3.42 (m, 1H), 2.76-2.89 (m, 2H), 2.54 (bs, 1H), 2.36-2.46 (m, 1H), 2.24-2.36 (m, 2H), 1.69-1.76 (m, 1H), 1.59-1.69 (m, 1H), 1.13-1.56 (m, 8H), 0.90- 1.10 (m, 4H). MS m/z 762.0 (M+1)

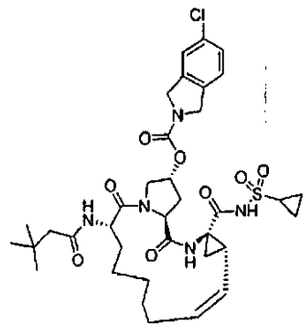
Ejemplo 3-98



Compuesto AR00334222

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-Cloro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-14-(2-fluoro-etoxicarbonilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334222) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-28, excepto que 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol en su lugar. ^{1}H NM (400 MHz, CD_3CN) δ 7.53 (bs, 1H), 7.20-7.33 (m, 3H), 5.93 (d, 1H), 5.67 (q, 1H), 5.32 (bs, 1H), 4.93-5.05 (m, 1H), 4.52-4.72 (m, 5H), 4.47 (t, 1H), 4.39 (t, 1H), 4.25-4.36 (m, 2H), 4.12-4.25 (m, 2H), 3.65-3.96 (m, 2H), 2.76-2.89 (m, 2H), 2.54 (bs, 1H), 2.22-2.44 (m, 3H), 1.67-1.76 (m, 1H), 1.13-1.60 (m, 10H), 0.91-1.13 (m, 4H).. MS m/z 737.9 (M+1)

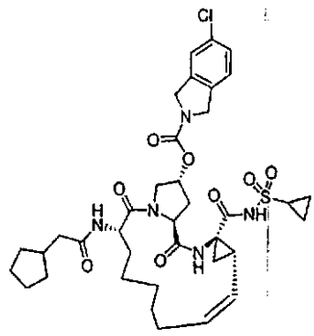
Ejemplo 3-99



Compuesto AR00334225

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-Cloro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-14-(3,3-dimetil-butirilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334225) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-81, excepto que 3,3-dimetil-butiril cloruro se utilizó para reemplazar (4-Metoxi-fenil)-acetil cloruro, y que 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 4-fluoro-2,3-dihidro-1H-isoindol en su lugar. ^{1}H NMR (400 MHZ, CD_3CN) δ 7.60 (bs, 1H), 7.15-7.33 (m, 3H), 6.54-6.65 (m, 1H), 5.63-5.73 (m, 1H), 5.33 (bs, 1H), 4.93-5.02 (m, 1H), 4.53-4.65 (m, 3H), 4.39-4.48 (m, 2H), 4.28-4.38 (m, 1H), 3.74-3.83 (m, 2H), 2.77-2.89 (m, 1H), 2.54 (bs, 1H), 2.23-2.44 (m, 3H), 1.68-1.91 (m, 4H), 1.12-1.54 (m, 11H), 0.91-1.11 (m, 4H), 0.76-0.90 (m, 9H). MS m/z 746.2 (M+1)

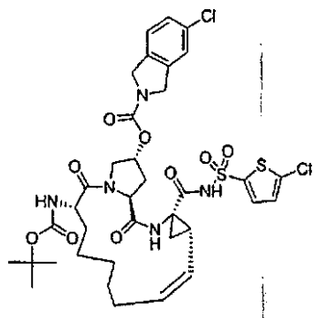
Ejemplo 3-100



Compuesto AR00334226

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-Cloro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-(2-ciclopentil-acetilamino)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00334226) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-8 1, excepto que ciclopentil-acetil cloruro se utilizó para reemplazar (4-Metoxi-fenil)-acetil cloruro, y que 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 4-fluoro-2,3-dihidro-1H-isoindol en su lugar. ^{1}HNMR(400MHz, $CDCl_3$) δ 10.85 (bs, 1H), 6.95-7.30 (m, 3H), 5.87-6.02 (m, 1H), 5.63-5.79 (m, 1H), 5.43-5.52 (m, 1H), 4.93-5.08 (m, 1H), 4.52-4.85 (m, 5H), 4.31-4.52 (m, 1H), 3.79-3.95 (m, 1H), 3.60-3.75 (m, 2H), 3.14 (q, 1H), 2.90 (bs, 1H), 2.37-2.63 (m, 3H), 2.14-2.29 (m, 1H),1.73-2.12 (m, 6H), 1.16-1.74 (m, 13H), 0.96-1.16 (m, 4H), 0.68-0.96 (m, 9H). MS m/z 758.2 (M+1).

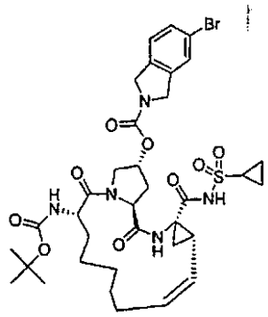
Ejemplo 3-101



Compuesto AR00340173

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-Cloro-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-(5-cloro-tiofen-2-sulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00340173) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que ácido 5-cloro-tiofen-2-sulfónico amida se utilizó para reemplazar ciclopropanosulfonamida, y que 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol en su lugar. ^{1}HNMR(400 MHZ, CD_3CN) δ 8.07 (d, 1H), 7.50 (d, 1H), 7.16-7.32 (m, 3H), 6.98 (d, 1H), 5.86 (bs, 1H), 5.27-5.39 (m, 2H), 4.81-4.92 (m, 1H), 4.58-4.64 (m, 2H), 4.51-4.58 (m, 2H), 4.44 (t, 1H), 4.33 (d, 1H), 4.10-4.20 (m, 1H), 3.73-3.81 (m, 1H), 2.47 (bs, 1H), 2.16-2.41 (m, 3H), 1.63-1.77 (m, 2H), 1.47-1.57 (m, 2H), 1.07-1.47 (m, 17H). MS m/z 724.1 (M+1-Boc)

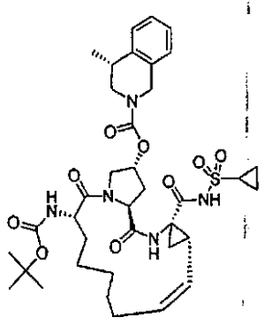
Ejemplo 3-102



Compuesto AR00340526

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-Bromo-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00340526) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 5-bromo-2,3-dihidro-1H-isoindol se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol en su lugar. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10.31 (bs, 1H), 7.36-7.44 (m, 1H), 6.99-7.32 (m, 3H), 5.70 (q, 1H), 5.42-5.49 (m, 1H), 5.06-5.13 (m, 1H), 4.99 (t, 1H), 4.52-4.78 (m, 5H), 4.32-4.44 (m, 1H), 4.16-4.27 (m, 1H), 3.78-3.89 (m, 1H), 3.33-3.42 (m, 1H), 2.85-2.94 (m, 1H), 2.40-2.64 (m, 3H), 2.20-2.32 (m, 1H),1.68-1.97 (m, 4H), 1.17-1.67 (m, 16H), 1.01-1.17 (m, 3H), 0.80-0.98 (m, 2H). MS in/z 694.0 (M+1-Boc).

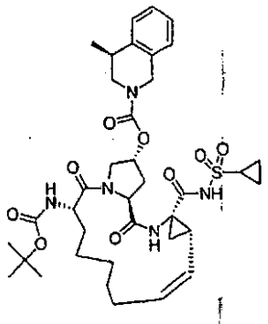
Ejemplo 3-103



Compuesto AR00333462

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4*R*-Metil-3,4-dihidro-1H-isquinolin-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00333462) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-1, excepto que 4*R*-metil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina (preparado de acuerdo con procedimientos similares como en el Ejemplo 1-17a, excepto que el material de inicio enantioméricamente puro se utilizó en lugar de uno racémico) se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en su lugar. MS m/z 642.2 (M+1-Boc).

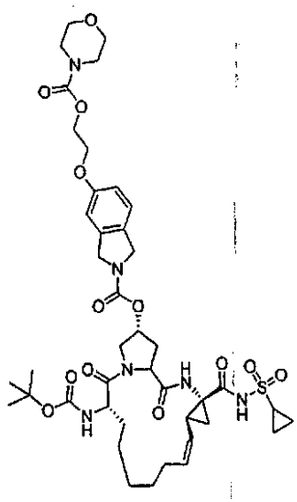
Ejemplo 3-104



Compuesto AR00333463

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4*S*-Metil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00333463) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en Exaniple 3-1, excepto que 4*S*-metil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina (preparado de acuerdo con procedimientos similares como en el Ejemplo 1-17a, excepto que el material de inicio enantioméricamente puro se utilizó en lugar de uno racémico) se utilizó para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en su lugar. MS m/z 642.2 (M+1-Boc).

Ejemplo 3-105

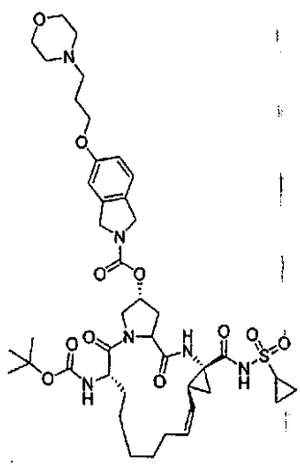


Compuesto AR00345032

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-[2-(Morfolin-4-carboniloxi)-etoxi]-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico

14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00345032) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que morfoline-4-ácido carboxílico 2-(2,3-dihidro-1H-isoindol-5-iloxi)-etil éster (preparado de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, No. 26, 5771, método de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 685-688) se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol en su lugar. MS (APCI-): m/z 885.4 (M-1).

Ejemplo 3-106

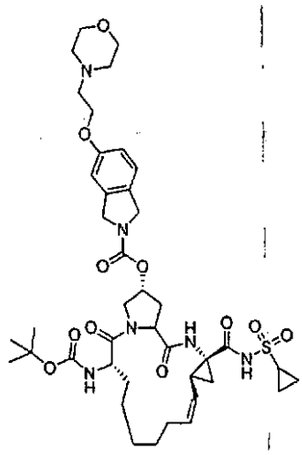


Compuesto AR00345075

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-(3-Morfolin-4-il-propoxi)-1,3-dihidro-isoindol-2- ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-

dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00345075) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 5-(3-Morfolin-4-il-propoxi)-2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, No. 26, 5771, método de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 685-688) se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol en su lugar. MS (APCI-): m/z 855.6 (M-1).

Ejemplo 3-107

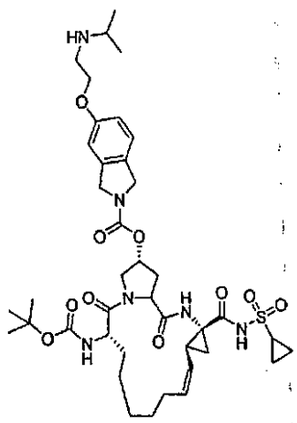


Compuesto AR00345090

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-(2-Morfolin-4-il-etoxi)-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.30.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00345090) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 5-(2-

Morfolin-4-il-etoxi)-2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, No. 26, 577 1, método de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 685-688) se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol en su lugar. MS (APCI-): m/z 841.5 (M-1).

Ejemplo 3-108

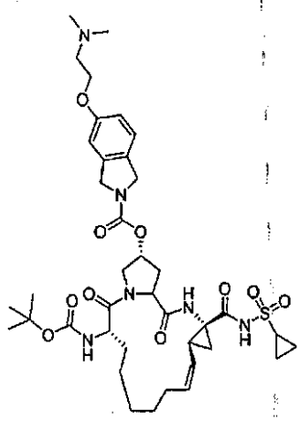


Compuesto AR00345094

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-(2-Isopropilamino-etoxi)-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00345094) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que [2-(2,3-Dihidro-1H-isoindol-5-iloxi)-etil-isopropil-amina (preparado de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, No. 26, 577 1, método de

preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 685-688) se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol en su lugar. MS (APCI-): m/z 813.5 (M-1).

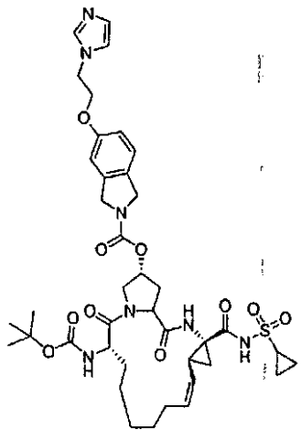
Ejemplo 3-109



Compuesto AR00345095

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-(2-Dimetilamino-etoxi)-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00345095) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que [2-(2,3-Dihidro-1H-isoindol-5-iloxi)-etil]-dimetil-amina (preparado de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, No. 26, 5771, método de preparación D, y en Bioorg. Med. Chein. Lett. 11 (2001) 685-688) se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol en su lugar. MS (APCI-): m/z 799.5 (M-1).

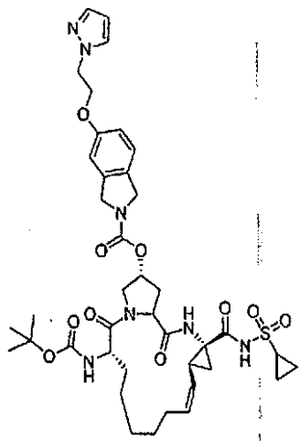
Ejemplo 3-110



Compuesto AR00345096

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-(2-Imidazol-1-il-etoxi)-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaZA-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00345096) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 5-(2-Imidazol-1-il-etoxi)2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, No. 26, 5771, método de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 1 1 (2001) 685-688) se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol en su lugar. MS (APCI-): m/z 822.5 (M-1).

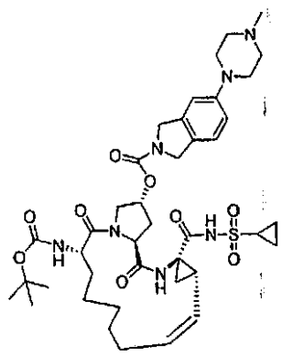
Ejemplo 3-111



Compuesto AR00364924

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-(2-PIrazol-1-il-etoxi)-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.04,6]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00364924) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 3-6, excepto que 5-(2-Pirazol-1-il-etoxi)2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, No. 26, 5771, método de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 685-688) se utilizó para reemplazar 2,3-dihidro-1H-isoindol en su lugar. MS (APCI-): m/z 742.1 [(M-100)+18].

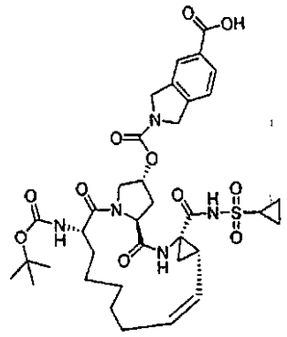
Ejemplo 3-112



Compuesto AR00340495

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-(4-Metil-piperazin-1-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-ÁCIDO carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00340495) se sintetizó mediante un modo similar al descrito en el Ejemplo 3-57, sustituyendo 2,3-Dihidro-1H-isoindol-5-ilamina en la Etapa 5 con 5-(4-Metil-piperazin-1-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado de manera similar como se describe en: J. Org. Chem. 2000, 65, 1144-1157) en su lugar. ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): 7.72-7.40 (m, 1H), 7.22-7.05 (m, 1H), 6.95-6.70 (m, 2H), 5.55-5.45 (m, 1H), 5.35-5.22 (m, 2H), 4.62-4.50 (m, 41-1), 4.40 (m, 1H), 4.30-4.08 (m, 2H), 4.0-3.89 (m, 1H), 3.10 (m, 3H), 2.65 (m, 1H), 2.42 (m, 3H), 2.33-2.20 (m, 6H), 1.85-1.50 (m, 5H), 1.42-1.0 (m, 14H), 0.82-0.55 (m, 4H). MS (APCI+): 712.3 (MH^+- Boc)

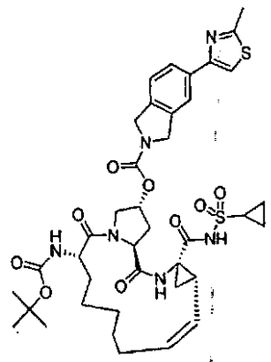
Ejemplo 3-113



Compuesto AR00365084

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-Dihidro-isoindol-2,5-ácido dicarboxílico 2-(14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il) éster (Compuesto AR00365084) se sintetizó de acuerdo con procedimientos similares descritos en el Ejemplo 3-91, excepto que el producto AR00365083 de ese ejemplo se hidrolizó adicionalmente con LiOH en una mezcla de THF-MeOH-H_2O para dar AR00365084. MS: 658 (M - Boc).

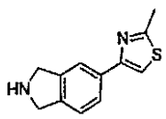
Ejemplo 3-114



Compuesto AR00364989

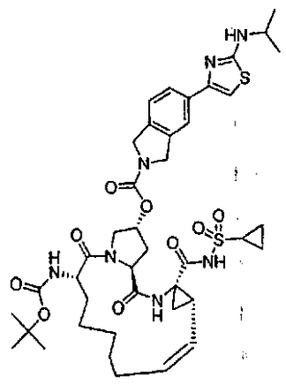
(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-(2-Metil-tiazol-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00364989) se sintetizó de manera similar como los descritos en el Ejemplo 3-57, sustituyendo 2,3-Dihidro-1H-isoindo-15-ilamina en la Etapa 5 con 5-(2-Metil-tiazol-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol en su lugar. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3COCD_3) δ 10.69 (bs, 1H) 8.32 (bs, 1H), 7.94 (d, 1H) 7.88 (d, 1H) 7.70 (d, 1H) 7.34 (dd, 1H) 6.08-6.16 (m, 1H), 5.69 (q, 1H) 5.45 (bs, 1H) 5.00 (t, 1H) 4.58-4.81 (m, 5H), 4.44-4.53 (m, 1H), 4.12-4.21 (m, 1H), 3.83-3.91 (m, 1H), 2.86-2.97 (m, 1H), 2.57-2.71 (m, 1H), 2.33-2.54 (m, 3H), 1.81-1.96 (m, 2H), 1.75 (dd, 1H) 1.17-1.63 (m, 20H), 1.06-1.17 (m, 1H), 0.94-1.06 (m, 2H). MS m/z 711.2 (M+I-100).

Ejemplo 3-114a



La síntesis de 5-(2-Metil-tiazol-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol se praparó siguiendo las etapas experimentales A a F en el Ejemplo 3-115a, utilizando tioacetamida en la Etapa E en su lugar.

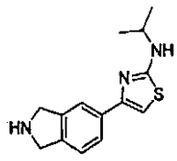
Ejemplo 3-115



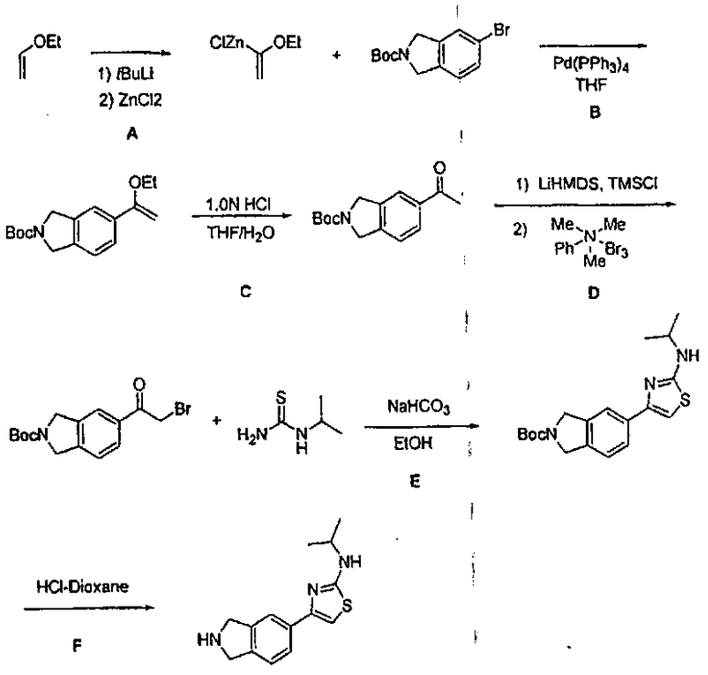
Compuesto AR00365019

(1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-(2-Isopropilamino-tiazol-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico 14-ter-butoxicarbonilainino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il éster (Compuesto AR00365019) se sintetizó mediante un modo similar al descrito en el Ejemplo 3-57, sustituyendo 2,3-Dihidro-1H-isoindol-5-ilamina en la Etapa 5 con [4-(2,3-Dihidro-1H-isoindol-5-il)-tiazol-2-il]-isopropil-amina en su lugar. ^{1}HNMR(400 MHz,CD_3COCD_3) δ 810.69(bs,1H),8.27-8.36(m, 1H), 7.28-7.50 (m, 2H) 7.01-7.20 (m, 1H), 6.08-6.15 (m, 1H), 5.70 (q, 1H) 4.45 (bs, 1H) 4.94-5.05 (m, 1H), 4.68-4.76 (m, 4H), 4.59-4.64 (m, 1H) 4.45-4.53 (m, 1H), 4.10-4.20 (m, 1H), 3.81-3.90 (m, 1H) 3.65-3.76 (m, 1H), 2.86-2.98 (m, 1H), 2.63 (bs, 1H), 2.32-2.54 (m, 3H), 1.80-1.94 (m, 2H), 1.70-1.79 (m, 1H) 1.05-1.65 (m, 19H) 0.95-1.05 (m, 2H). MS m/z 754.2 (M+1-100).

Ejemplo 3-115a



The síntesis de [4-(2,3-Dihidro-1H-isoindol-5-il)-tiazol-2-il]-isopropil-amina se representa en el siguiente esquema:



A. A una solución de 4 ml THF y 1 ml etil vinil éter a -78C, se agregó *t*-BuLi (0.79 ml, 1.34 mmol) a gotas. La solución se calentó a temperatura ambiente. y se agitó durante 30 minutos. Una solución 0.5 M de $ZnCl^2$ en THF (3.02 ml, 1.51 mmol) se agregó a gotas y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Esta mezcla se utilizó sin purificación adicional.

B. A la solución del bromuro de arilo (0.200 g, 0.67 mmol) y $Pd(PPh3)_4$ (39 mg, 0.33 mmol) disuelta en THF bajo N2 se canularon las especies de zinc de vinilo crudo de la Etapa A. La reacción se calentó at 50°C durante 36 horas, y después se filtró a través de un obturador de Al_2O_3 con ayuda de EtOAc y se concentró para dar un aceite el cual se utilizó sin purificación adicional.

C. El aceite crudo de la eta B se disolvió en THF (2 ml) y 1.0N HCl (2ml) y se agitó durante una hora. La reacción se tomo en EtOAc y se separó, y la capa orgánica se lavó con $NaHCO_3$ saturado y salmuera, y se secó sobre Na_2SO_4 y concentró a un aceite naranja. Este aceite se cromatografió con 5:1 hex:EtOAc para dar un sólido blanco (95 mg, 54%)

D. A una solución de 1.0 M LiHMDS (4.0 ml, 4.0 mmol) bajo N2 a -78C, se agregó TMSCl (3.38 ml, 26.6 mmol) a gotas. A esta solución se agregó la cetona de la Etapa C en 3 ml THF. La reacción se agitó a -78°C durante 30 minutos y se calento a 0°C. El PTTB (1.10g, 2.93 mmol) se agregó y la reacción se agitó durante 30 minutos a 0°C, se concentró a un sólido, y se tomo en EtOAc y agua. El orgánico se lavó con agua y salmuera, y se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró, y el aceite se purificó con 5:1 Hex:EtoAc para dar un sólido amarillo(0.64g, 71%).

E. Una mezcla de la bromocetona (75 mg, 0.22 mmol), Na_2CO_3 (37 mg, 0.44 mmol) y 1-isopropil

tiourea(26mg,22mmol)en EtOH se calentó a reflujo durante 30 minutos. La reacción se absorbió en EtOAc y se separaró, y la capa orgánica se lavó con, $NaHCO_3$ saturado y salmuera, y se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró a aceite amarillo. El aceite se purificó con 3:1 Hex:MTBE para dar un aceite claro (77 mg, 97%).

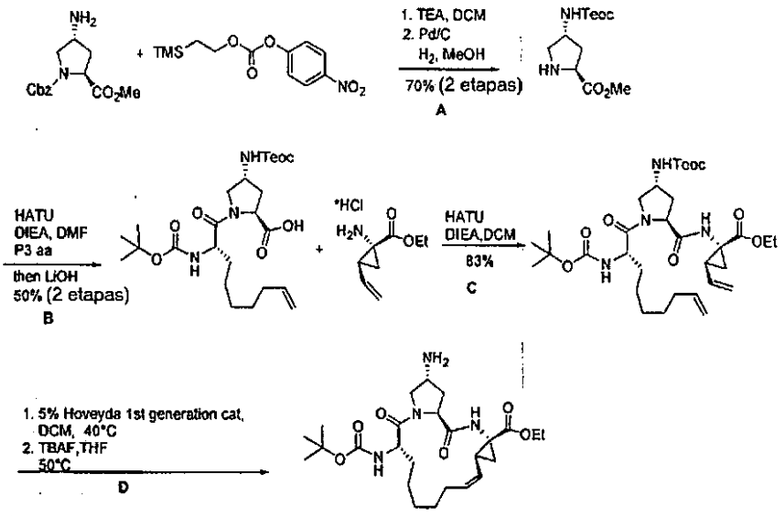
F. La Boc-amina de la Etapa E se agitó en 4N HCl/dioxano (2.0 ml) durante una hora y se concentró a un sólido blanco. Este sólido se absorbió en 0.1 N HCl y se lavó con DCM. La capa acuosa se basificó con 1.0 N NaOH y se extrajo con DCM, se secó, y se concentró y utilizo sin purificación adicional

4. Preparation del Intermediario de Aininoprolina Macrocíclica:

Ejemplo 4-1:

Síntesis de (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-amino-14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.04,]nonadec-7-eno-4-ácido carboxílico etil éster.

427



A. A una solución de hidrocloruro de (2S, 4R)-4-amino-1-[benciloxicarbonil]pirrolidina-2-metilcarboxilato (2.00 g, 2.34 mmol) en cloruro de metileno (25 ml) se agregó 2-(trimetil silil)etil*p*-nitrofenil carbonato(1.98 g, 6.99 nunol) y trietilarnine (1.81 ml, 13.34 mmol). La reacción se agitó durante 3 days, se colocó sobre gel de sílice y el producto se eluyó con 40% EtOAc/hexanos para dar un aceite incoloro. El aceite se disolvió en metanol (20 ml) y se agitó con 10% palladio sobre carbon bajo a balón de gas de hidrogen. Después de la agitación durante 4 h, la reacción se filtró y se concentró. El sólido resultante se disolvió en 1N HCl (75 ml) acuoso y se extrajo con cloruro de metileno (75 ml). La capa acuosa se hizo básica mediante la adición de hidróxido de sodio y de nuevo se extrajo con cloruro de metileno (100ml). Ambas extracciones orgánicas se

combinaron, se concentraron, y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía de gel de sílice eluyendo con 10% de metanol/ cloruro de metileno para dar un sólido cafe (1.29 g, 70%). LCMS=289(H+).

B Una solución de 4(R)-(2-trimetilsililetil carbonilamino)-pirrolidina-2(S)ácido carboxílico metil éster (1.29 g, 4.50 mmol), 2(S)-ter-butoxicarbonilamino-non-8-ácido enóico (1.22 g, 4.51 mmol), HATU (2.06 g, 5.41 mmol) y diisopropiletilamina (1. 18 ml, 6.76 mmol) en dimetilformamida (10 ml) se agitó durante la noche. La reacción se diluyó con etil acetate (150 ml), se lavó con 1N HCl acuoso (2 x 100 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró. La cromatografía de gel de sílice dió un aceite que se agitó con hidróxido de litio (0.28 g, 6.76 mmol) en metanol (5 ml) durante 2 h. La reacción se diluyó con cloruro de metileno y se lavó con 1N HCl acuoso, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para dar 1.2 g (49%) del product.

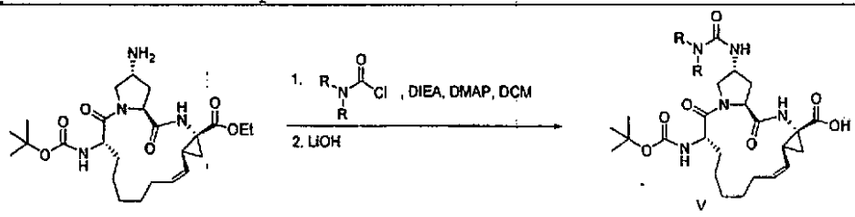
C A 1(R)-ter-butoxicarbonilamino-2(S)-vinil-ácido ciclopropanocarboxílico etil éster (0.70 g, 2.75 mmol) se agregó 4N solución HCl/diona (2.87 ml, 11.46 mmol). Después de agitar durante 2 h, la reacción se concentró para dar a sólido. A este sólido se agregó 1-(2(S)-ter-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4(R)-(2-trimetilsililetil carbonilamino)pirrolidina-2(S)-ácido carboxílico (1.21 g,

2.29 mmol), HATU (1.05 g, 2.75 mmol) y diisopropiletilamina (1.60 ml, 9.17 mmol) y cloruro de metileno (10 ml) y la reacción se agitó durante 18 h a temperatura ambiente. La reacción se colocó sobre gel de sílice y se eluyó con una solución de 50% etil acetate/hexanos para dar el producto como un aceite incoloro (1.27 g, 83%). 665(H+)

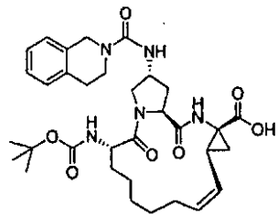
D Una solución de 1 - {[1-(2(S) -ter-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4(R)-(2-trimetilsililetil carbonilamino)-pirrolidina-2(S)-carbonil]-amino)-2(S)-vinil-ciclopropano-1-(R)-ácido carboxílico etil éster (1.27 g, 1.91 mmol) en cloruro de metlileno (195 ml) se desgasificó durante 1 h al burbujear N2 a través de la solución. Dicliloro(o-isopropoxifenil-metieno)(triciclohexilfosfina)ruthenio (II) (0.057 g, 0. 096 mmol) se agregó y la reacción se agitó a 40°C durante 16h. La reacción se concentró, se colocó sobre gel de sílice y se eluyó con 50% etil acetate/hexanes. El aceite resultante se trató con TBAF (1.0 M en THF, 2.87 ml) y se calentó a 50°C durante 4 h. La reacción se colocó sobre gel de sílice y se eluyó con 20% metanol/m cloruro de metieno para dar un sólido cafe(0.65 g, 69%). ^{1}H NMR ($CDCI_3$, 400 MHz): δ 1.06-1.66 (m, 17 H), 1.85-1.95 (m, 2H), 2.0-2.1 (m, 1H), 2.1-2,2 (m, 1H), 2.2-2.3 (m, 1 H), 2.65-2.75 (M, 1H), 3.40 (m, 1H), 3.73-3.83 (m, 2H), 4.08-4.19 (m, 2H), 4.56 (m, 1H), 4.78 (d, J=5.5 Hz, 1H), 5.20 (t, J=8.1 Hz, 1H), 5.34 (d, J=8.1 Hz, 1H), 5.47 (dt, J=4.5, 10.8 Hz, 1H), 7.08 (s, 1H).

493(H+).

5. Preparation de Compuestos con la Estructura General V

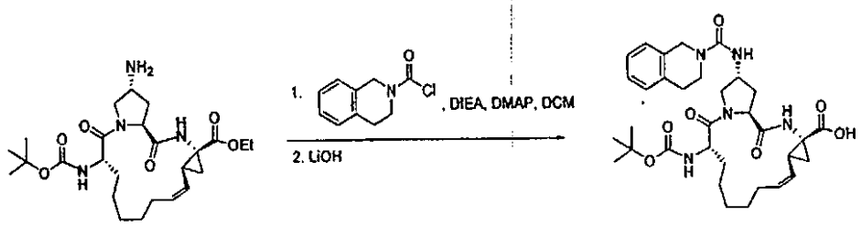


Ejemplo 5-I:



Compuesto AR00287262

Síntesis de (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-ter-butoxicarbonilamino-18-[(3,4-dibydro-1H-isoquinolina-2-carbonil)-amino]-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7ene-4-ácido carboxílico (Compuesto AR00287262)

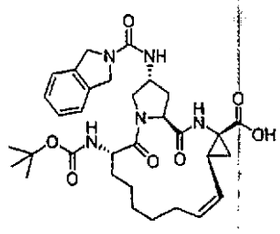


Una solución de 3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-cloruro de carbonilo (0.030 g, 0.152 mmol), (1S,4R,6S,14S, 18R)-18-amino-14-ter-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza.triciclo[14.3.0.0^{4,6}]nonadec-7-eno-4-ácido carboxílico

etlil éster (0.025 g, 0.050 mmol), DIEA (0.027 ml, 0. 1 53 mmol) y una cantidad catalítica de DMAP se agitaron juntos en cloruro de metileno (0.3 ml) durante 18h. La reacción se colocó sobre gel de sílice y el producto se eluyó con 40% acetona/hexanos y se aisló como un sólido blanco. El sólido se disolvió en metanol y se trató con hidróxido de litio (0.011 g, 0.254 mmol) y 1 gota de agua. Después de agitar durante 5 h, la reacción se diluyó con cloruro de metileno (30 ml), se lavo con 1N HCl acuoso (30 ml), salmuera (30 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para dar el compuesto de titulación como un sólido blanco. LCMS =624 (MH+).

El siguiente compuesto también se preparó utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 5-1, sustituyendo 1,3-dihidro-isoindol-2-cloruro de carbonilo for 3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-cloruro de carbonilo. LCMS=610 (H+)

Ejemplo 5-2:

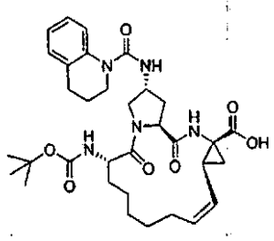


Compuesto AR00298980

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-ter-Butoxicarbonilamino-18-[(1,3-dihidro-isoindol-2carbonil)-amino]-2,15-dioxo-3,16-

diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-ene-4-ácido carboxílico (Compuesto AR00298980) se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 5-1, sustituyendo 3,4-Dihidro-1H-isoquinolina-2-cloruro de carbonilo con 1,3-Dihidro-isoindol-2-cloruro de carbonilo. MS m/c 608.2 (M-1).

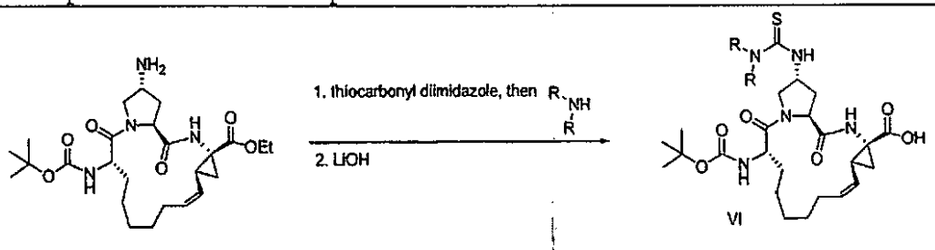
Ejemplo 5-3:



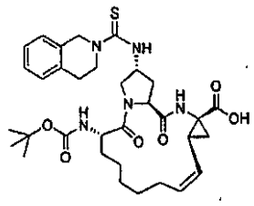
Compuesto AR00304160

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-ter-Butoxicarbonilamino-18-[(3,4-dihidro-2H-quinolina-1-carbonil)-amino]-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-eno-4-ácido carboxílico (Compuesto AR00304160) se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 5- 1, sustituyendo 3,4-Dihidro- 1 H-isoquinolina-2-cloruro de carbonilo con 3,4-Dihidro-2H-quinolina-1-cloruro de carbonilo. MS m/e 524.3 (M^++1-100).

6. Preparation de Compuestos con la Estructura General VI



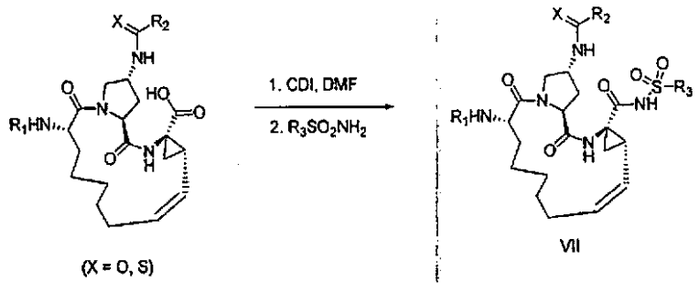
Ejemplo 6-1:



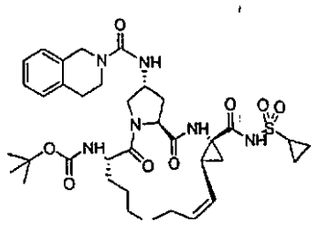
Compuesto AR00304010

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-ter-Butoxicarbonilamino-18-[(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carbotioil)-amino]-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-ene-4-ácido carboxílico (Compuesto AR00304010) se preparó utilizando el mismo procedimiento descrito en la Etapa 4 del ejemplo 1-2, excepto que carbonil diimidazol se sustituyo por tiocarbonil diimidazol. LCMS=640(H+). MS m/e 640.1 (M^++1).

7. Pneparation de los Compuestos con la Estructura General VII



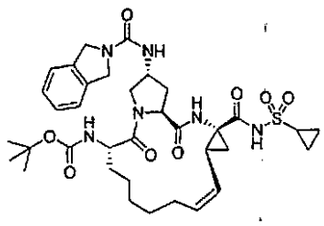
Ejemplo 7-1:



Compuesto AR00287266

La síntesis de (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-{4-Ciclopropanosulfonilaminocarbonil-18-[(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carbonil)-amino]-2,15-dioxo-3,16-diaza triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-14-il}-ácido carbámico ter-butil éster (Compuesto AR00287266) se preparó de acuerdo con los mismos procedimientos como se describió en el Ejemplo 3-1, iniciando desde el ácido preparado a partir de los procedimientos descritos en el Ejemplo 5-1. MS m/e 727.0 (M^++1).

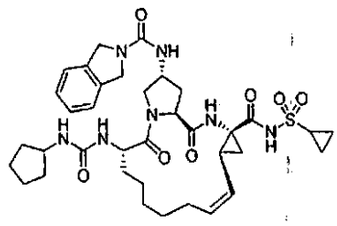
Ejemplo 7-2:



Compuesto AR00304008

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-{4-Ciclopropanosulfonilaminocarbonil-18-[(1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil)-amino]-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-14-il}-ácido carbámico ter-butil éster (Compuesto AR00304008) se preparó de acuerdo con los mismos procedimientos descritos en el Ejemplo 3-1, iniciando desde el ácido preparado a partir de los procedimientos descritos en el Ejemplo 5-2. MS m/e 613.2 (M^++1-100).

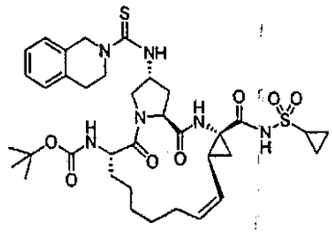
Ejemplo 7-3:



Ompuesto AR00304014

(1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-Dihidro-isoindol-2-ácido carboxílico [14-(3-ciclopentil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-18-il]-amida (Compuesto AR00304014) se preparó de acuerdo con los mismos procedimientos como se describe en el Ejemplo 2-24, iniciando desde el acilsulfonamida preparado a partir de los procedimientos descritos en el Ejemplo 7-4. MS m/e 724.2 (M^++1).

Ejemplo 7-4:



Compuesto AR00304012

(1S, 4R, 6S, 14S, ISR)-{4-Ciclopropanosulfonilaminocarbonil-18-[(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carbotioil)-amino]-2,15-dioxo-3,16-diaza-

triciclo[14.3.0.$0^{4,6}$]nonadec-7-en-14-il}-ácido carbámico ter-butil éster (Compuesto AR00304012) se preparó de acuerdo con los mismos procedimientos descritos en el Ejemplo 3-1, iniciando desde el ácido preparado a partir de los procedimientos descritos en el Ejemplo 6-1- MS m/e 743.0 (M^++1).

Ejemplo 8

Ensayo de proteasa NS3-NS4A

Formación del Colnplex NS3 con NS4A-2

Se diluyó NS3 de longitud total de *E. coli* or Baculovirus Recombinantes en 3.33 µM con amortiguador de enesayo y el material se transfirió a un tubo eppendorf y se colocó en baño de agua en un refrigerator a 4°C. Se agregó la cantidad apropiada de NS4A-2 a 8.3 mM en amortiguador de ensayo para igualar el volumen de NS3 2.1.1 (factor de conversión - 3.8 mg/272 µl de amortiguador de enesayo). El material se transfirió a un tubo eppendorf y se colocó en un baño de agua en un refrigerador a 4°C.

Después del equilibrio a 4°C, los volumenes iguales de las soluciones de NS3 y NS4A-2 se convinaron en un tubo eppendorf, se mezclaron suavemente con una pipeta manual, y la mezcla se incubó durante 15 minutos en el baño de agua a 4°C. Las concentraciones finales en la mezcla fueron 1.67 µM NS3, 4.15mM NS4A-2 (2485-veces de exceso molar de NS4A-2).

Después de 15 minutos a 4°C, el tubo eppendorf de

NS3/NS4A-2 se retiró y se colocó en un baño de agua a temperatura ambiente durante 10 minutos. NS 3/NS4A-2 se prorrateo a volumenes apropiados y se almacenó a -80°C (NS3 de *E. coli* se corrió a 2nM en el ensayo, se prorrateó a 25 µl. NS3 de BV se corrió a 3nM en el ensayo, se prorrateó a 30 µl).

Ensayo de inhibición de NS3

Etapa 2.2.5. Los compuestos muestra se disolvieron en 10 mM en DMSO después se diluyeron a 2.5mM (1:4) en DMSO. Típicamente, los compuestos se agregaron a una placa de ensayo a 2.5 mM de concentración, produciendo en la dilución una concentración de inicio de 50 microM en la curva de inhibición del ensayo. Los compuestos se diluyeron en serie en amortiguador de enesayo para proporcionar soluciones de prueba a menores.

Etapa 2.2.6. El NS3/NS4A-2 de *E coli* se diluyó a una provisión de 4nM NS3 (1:417.5 de 1.67 µM - 18 µl 1.67 µM de provisión + 7497 µl de amortiguador de enesayo).

The NS3/NS4A-2 de BV se diluyó a 6nM NS3 (1:278.3 de 1.67 µM de provisión - 24 µl 1.67 µM de provisión + 6655 µl de amortiguador de enesayo).

Etapa 2.2.7. Utilizando la pipeta manual multicanal y siendo cuidadoso para no introducir burbujas en la placa, se agregaron 50 µl de amortiguador de enesayo to los pozos A01-H01 de una placa de almacenamiento de polipropileno de 96

pozos negra Costar.

Etapa 2.2.8. Utilizando la pipeta manual multicanal y siendo cuidadoso para no introducir burbujas en la placa, se agregaron 50 µl de NS3/NS4A-2 diluido de la Etapa 2.2.6 a los pozos A02-H2 de la placa en la Etapa 2.2.7.

Etapa 2.2.9. Utilizando la pipeta manual multicanal y siendo cuidadoso para no introducir burbujas en la placa, se transfirieron 25 µl de los pozos en la placa de dilución de la droga en la Etapa 2.2.5 a los pozos correspondientes en la placa de ensayo en la Etapa 2.2.8. Se cambiaron las puntas sobre la pipeta multicanal para cada fila de compuestos transferidos.

Etapa 2.2.10. Utilizando la pipeta manual multicanal y siendo cuidadoso para no introducir burbujas en la placa, los pozos de la placa de ensayo en la Etapa 2.2.9 se mezclaron mediante aspiració y se distribuyeron 35 µl de los 75 µl en cada pozo cinco veces. Se cambiaron las puntas sobre la pipeta multicanal para cada fila de pozos mezclados.

Etapa 2.2.11. La placa se cubrió con una tapa de placa de poliestireno y la placa de la Etapa 2.2.10 conteniendo NS3 proteasa y los compuestos muestras se pre-incubaron 10 minutos a temperatura ambiente.

Aunque la placa de la etapa 2.2.11 se pre-incubó, el sustrato RETS1 se diluyó en un tube centrífugo de polipropileno de 15ml. El sustrato RETS1 se diluyó a 8 µl

(1:80.75 de 646 µM de provisión - 65 µl 646 µM de provisión + 5184 µl de amortiguador de enesayo).

Después la placa en la etapa 2.2.11 se pre-incubó, y utilizando el multicanal manual se agregaron 25 µl del sustrato a los pozos en la placa. Los contenidos de los pozos se mezclaron rápidamente, como en la Etapa 2.2.10, pero mezclando 65 µl de los 100 µl en los pozos.

La placa se leyó en modo cinético sobre el lector de placas de Molecular Devices SpectraMax Gemini XS. Graduación del Lector: Tiempo de Lectura: 30 minutos, Intervalo: 36 segundos, Lecturas: 51, Excitación λ: 335nm, Emisión λ: 495mn, corte:. 475 nm, Automix: fuera, Calibración: una vez, PMT: alto, Lecturas/pozo: 6, Vmax pts: 21 or 28/51 dependiendo de la longitud de la linealidad de la reacción.

Se determinaron los IC_{50}s utilizando cuatro ecuaciones de ajuste de la curva de parámetro y se convirtió a Ki's utilizando el siguiente Km's:

NS3 de *E. coli* de longitud total - 2.03 µM
NS3 de BV de longitud total - 1.74 µM

where $Ki = IC_{50}/(1+[S]/Km))$

<u>Cuantificación mediante ELISA de la proteína marcadora</u>

seleccionable, Neomycin fosfotransferasa II (NPTII) en el Replicon Sub-Genómico de HCV, GS4.3

The replicón sub-genómico HCV (I377/NS3-3', No. de acceso AJ242652), mantenido estable en celulas de hepatoma HuH-7 se crearon por Lohmann et al. Science 285: 110-113 (1999). El cultivo celular conteniendo el replicón containing cell culture, designado GS4.3, se obtuvo del Dr. Christoph Seeger del Institute for Cancer Research, Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, Pennsylvania.

Las células GS4.3 se mantuvieron a 37°C, 5%CO_2, en DMEM (Gibco 11965-092) complementado con L-glutamina 200 mM (100X) (Gibco25030-08), amino ácidos non-esenciales (NEAA)(Biowhittaker 13-114E), inactivado por calor (HI) Suero de Bovino Fetal(FBS)(Hyclone SH3007.03) y 750 µg/ml de geneticina (G418)(Gibco 10131-035). Las celulas se subdividieron 1:3 o 4 cada 2-3 días.

24 horas antes del ensayo, se recolectaron células GS4.3, se contaron y se colocaron en placas de 96 pozos (Costar 3585) a 7500 células/pozo en un medio de mantenimiento estándar de 100 µl (anterior) y se incubaron en las condiciones anteriores. Para iniciar el enesayo, se retiró el medio de cultivo, Las células se lavaron una vez con PBS (Gibco 10010-023) y se agregaron 90 µl del Medio de Ensayo (DMEM, L-glutamina, NEAA, 10% HI FBS, sin G418). Los inhibidores se hicieron como una reserva 10X en el Medio de

Ensayo, (diluciones de 3-veces de 10 µM hasta 56pM de concentración final, la concentración final DMSO 1 %), 10 µl se agregaron para duplicar los pozos, las placas se mecieron para mezclarse y se incubaron como antes durante 72h.

Un equipo NPTII ELISA se obtuvo de AGDIA, Inc. (Sistema de prueba de ELISA dirigido al Compuesto para Neomicina Fosfotransferasa II, PSP 73000/4800). Se siguieron las instrucciones del Fabricante con algunas modificaciones. El amortiguador de lisis 10X PEB-1 se preparó para incluir 500 µM PMSF (Sigma P7626, 50 mM de reserva en isopropanol). Después de 72h de incubation, las células se lavaron una vez con PBS y se agregaron 150 µl de PEB-1 con PMSF por pozo. Las placas se agitaron vigorozamente durante 15 minutos, a temperatura ambiente, después se congelaron a -70°C. Las placas se descongelaron, los lisados se mezclaron completamente y se aplicaron 100µl a una placa de Elisa NPTII. Se hizo una curva estándar. El lisado de las células de control tratadas con DMSO se agruparon, se diluyeron en serie con PEB-1 con PMSF, y se aplicó a los pozos por duplicado de la placa de ELISA, en un rango de la cantidad de lisado inicial de 150 µl-2.5µl. Además, se aplicaron 100 µl de amortiguador solo por duplicado como un modelo. Las placas se sellaron y se agitaron suavemente a temperatura ambiente durante 2h. Después de la incubación de captura, las placas se lavaron 5X 300µl con PBS-T (0.5% Tween-20, PBS-

T se suministró en el equipo ELISA). Para la detección, se hizo una dilution 1X del diluyente del conjugado de enzima MRS-2 (SX) en PBS-T, en el cual se agregaron 1:100 diluciones de los conjugados de enzima A y B, según las instrucciones. Las placas se liberaron e incubaron con agitación, se cubrieron, a temperatura ambiente, durante 2h. El lavado se repetió entonces y se agregaron 100 µl de sustrato de TMB a temperatura ambiente. Después de approximately 30 minutos de incubation (temperatura ambiente, agitation, cubierta), la reacción se detuvo con 50µl 3M de ácido sulfúrico. Las placas se leyeron a 450nm sobre un lector de placas de Molecular Devices Versarnax.

El efecto inhibidor se expresó como un porcentaje de la señal de control tratada con DMSO, y se calcularon las curvas de inhibición utilizando una ecuación de 4-parámetros: y=A+((B-A)/(1+((C/x)^D))), en donde C es la mitad de la actividad máxima o EC_{50}.

EJEMPLOS de ACTIVIDAD:

En donde:

A indica un IC50 o EC50, como se indica, de menos de 50 µM

B indica un IC50 o EC50, como se indica, de menos de 10 µM

C indica un IC50 o EC50, como se indica, de menos de 1 µM

y D indica un IC50 o EC50, como se indica, de menos de 0.1 µM

Tabla 2

Compuesto	NS3-NS4A	Replicon	Compuesto	NS3-NS4A	Replicon

	IC_{50}	EC_{50}		IC_{50}	EC_{50}
AR00220042	C	B	AR00301383	B	N/A
AR00220122	A	N/A	AR00301745	C	B
AR00226824	B	N/A	AR00301746	D	D
AR00226825	B	N/A	AR00301747	D	D
AR00247310	C	N/A	AR00301749	C	B
AR00248687	C	N/A	AR00301751	D	D
AR00248688	B	N/A	AR00304000	C	B
AR00248689	C	N/A	AR00304008	D	D
AR00254906	D	C	AR00304010	C	B
AR00261407	D	C	AR00304012	D	C
AR00261408	D	D	AR00304014	D	D
AR00261409	D	B	AR00304062	B	N/A
AR00282131	D	D	AR00304063	C	B
AR00287262	B	N/A	AR00304065	C	B
AR00287266	D	C	AR00304066	C	B
AR00291871	D	C	AR00304067	C	B
AR00291875	C	B	AR00304072	C	B
AR00294376	B	N/A	AR00304073	C	B
AR00294377	C	B	AR00304074	C	B
AR00294378	C	B	AR00304075	C	B
AR00294381	D	D	AR00304076	D	C
AR00294382	C	N/A	AR00304077	D	B
AR00294383	B	N/A	AR00304078	D	C

AR00294384	C	B	AR00304079	D	C
AR00294980	B	N/A	AR00304080	D	D
AR00298989	B	N/A	AR00304081	D	C
AR00298990	B	N/A	AR00304082	D	D
AR00298996	D	D	AR00304103	B	B
AR00298997	D	D	AR00304125	C	B
AR00301338	D	B	AR00304126	C	B
AR00304183	A	N/A	AR00304127	C	B
AR00311814	D	B	AR00304154	B	N/A
AR00311815	D	C	AR00304158	A	N/A
AR00312023	C	N/A	AR00304160	A	N/A
AR00312024	D	D	AR00304161	D	D
AR00312025	D	D	AR00304162	D	D
AR00312026	D	D	AR00304163	D	D
AR00314578	C	N/A	AR00320123	C	B
AR00314635	D	D	AR00320220	D	D
AR00314654	D	D	AR00320221	C	N/A
AR00314656	D	D	AR00320222	D	B
AR00314685	A	N/A	AR00320403	D	C
AR00314719	D	D	AR00320445	B	N/A
AR00315997	C	B	AR00320446	D	D
AR00315998	C	B	AR00320447	D	C
AR00315999	C	B	AR00320448	C	B
AR00320001	D	D	AR00320449	D	B

AR00320002	C	B	AR00320450	C	B
AR00320073	D	D	AR00320506	D	D
AR00320074	D	B	AR00320547	D	D
AR00320075	C	B	AR00320548	D	D
AR00320076	C	B	AR00320549	D	D
AR00320077	C	B	AR00320556	D	D
AR00320078	D	B	AR00320557	D	D
AR00320079	D	D	AR00320574	D	D
AR00320080	D	C	AR00320575	D	C
AR00320081	D	D	AR00320576	B	N/A
AR00320082	D	D	AR00320577	C	B
AR00320119	D	D	AR00320578	D	D
AR00320120	D	D	AR00320579	D	D
AR00320121	D	D	AR00320580	D	D
AR00320122	C	B	AR00320581	D	D
AR00324375	C	C	AR00320582	D	D
AR00334286	C	D	AR00320774	D	C
AR00334385	D	D	AR00333833	D	D
AR00365387	D	D	AR00334191	D	D
AR00365425	D	N/A	AR00340479	D	D
AR00365572	D	D	AR00365388	D	N/A
AR00333802	D	D	AR00365426	D	B
AR00334188	D	C	AR00333801	D	D
AR00334248	D	C	AR00333803	D	C

AR00334250	D	D	AR00334247	D	C
AR00364266	D	C	AR00334249	D	C
AR00334339	D	D	AR00334341	D	D
AR00365349	C	C	AR00365193	D	D
AR00340303	D	C	AR00333842	C	B
AR00340156	D	C	AR00365381	C	C
AR00340188	D	C	AR00340122	D	C
AR00334399	D	D	AR00340178	D	D
AR00338070	D	D	AR00334314	D	D
AR00341649	D	D	AR00338066	D	D
AR00333224	B	N/A	AR00338071	D	D
AR00333248	B	N/A	AR00364936	D	C
AR00333277	B	N/A	AR00333225	B	N/A
AR00365083	D	D	AR00333276	B	N/A
AR00340494	D	D	AR00365369	D	C
AR00365252	D	C	AR00333831	D	D
AR00334220	D	C	AR00365082	D	C
AR00334225	D	C	AR00334218	D	D
AR00340173	D	B	AR00334222	D	D
AR00333462	D	D	AR00334226	D	D
AR00333463	D	D	AR00340526	D	D
AR00345032	D	D	AR00345075	D	C
AR00345090	D	D	AR00345094	D	D
AR00345095	D	D	AR00345096	D	D

AR00364924	D	D	AR00371946	D	N/A
AR00371947	C	N/A	AR00371948	D	N/A
AR00340495	D	D	AR00365084	D	B
AR00364989	D	D	AR00365019	D	D

Ensayos de Especificidad

Cuando se evaluaron los compuestos en ensayos de especificidad, los compuestos de la Fórmula I se encontraron ser selectivos en que no muestran inhibición significativa en Catepsina B, Quimotripsina, Trombina o Leucocito Elastasa.

Ejemplo 9: Análisis farmacocinético de los compuestos

Métodos

Los compuestos se sintetizaron inicialmente y se probaron por su potencia (IC_{50}) en un esnayo de proteasa de NS3/4 fluorogénico y el sistema de replicon HCV en base a células como se describe en el Ejemplo 8 anterior. El análisis farmacocinético de plasma en *Rattus sp.* después de la IV adminisntración se utilizó entonces en conjunto con microsoma de hígado humano *in vitro* (HLM) y los estudios de estabilidad de hepatocito para dirigir el diseño de los compuestos metabólicamente estables de los compuestos con potencia <20 nM. Estos líderes se optimizaron entonces adicionalmente para las propiedades físicas como droga y se administraron en dosis orales en Rattus sp. para valorar las concentraciones en hígado, corazón y plasma.

Los compuestos se probaron para limpieza del hígado a través del tiempo después de una sola dósis oral de 3 mg/kg en ratas. Para cualquier compuesto encontrado que exhiba una concentración en hígado a 8 horas post-administración que sea al menos de 100 veces más de la concentración del compuesto efectivo para inhibir 50% de la inhibición máxima en el ensayo de replicon (replicon EC_{50}), se realizaron valoraciones toxicológicas adicionales en ratas utilizando dosis de hasta 30 mg/kg oralmente BID durante 7 días.

Los compuestos **AR294381, AR261408, AR333833 y AR334191** produjeron valores de replicon EC_{50} de aproximadamente 2 nM y exhibieron estabilidad *in vitro* en análisis de incubación de hepatocito en ratas, perros y humanos, cuyos datos predicirían bajas o moderadas proporciones de limpieza del hígado. Además, estos compuestps desplegaron un alto grado de selectividad contra un panel de otras serinas proteasas y sin ihnibición significativa de isoformas Cytochrome P450 o actividad de canal hERG a aún las concentraciones más altas probadas (10 µm).

Para los compuestos **AR294381, AR261408, AR333833 y AR334191**, una sola dosis oral de 30 mg/kg en *Rattus sp* produjo concentraciones en hígado a 24 horas post-dosis que fueron al menos 200 veces más de sus valores EC_{50} de replicon respectivos.

El compuesto **AR334191** produjo niveles en corazón y plasma de hasta 2 órdenes de magnitud inferior a, y correlacionados cinéticamente con las concentraciones en hígado en los mismos animales. A una dosis oral clínicamente más razonable (3 mg/kg), el compuesto **AR334191** produjo una concentración en hígado a 8 horas post dósis que fue más de 100 veces más del valor EC_{50} de replicon del compuesto. Después de la exposición al compuesto **AR334191** a una dosis de 30 mg/kg oralmente BID durante 7 días, no se observó mortalidad, cambio en el peso o anormalidades en químicas clínicas en los animales tratados.

Conclusión

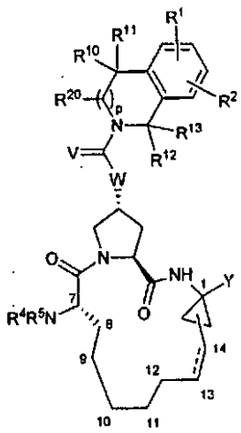
Se han desarrollado potentes inhibidores de moléculas pequeñas oralmente disponibles, metabólicamente estables, de la proteasa HCV NS3. A concentraciones modestas de dosis orales (3 mg/kg) estos compuestos despliegan altos niveles en hígado (100 veces más que sus valores EC_{50} de replicon respectivo) a 8 horas post-dosis. La exposición en plasma y corazón es hasta dos órdenes de magnitud por debajo de la observada en hígado y tales bajas concentraciones minimizan cualquier problema potencial toxicológico sistémico.

El compuesto **AR334191** no desplegó toxicidad en *Rattus sp*, cuando las dosis durante siete días a 30 mg/kg BID, proporcionan al menos un margen de seguridad de 10 veces

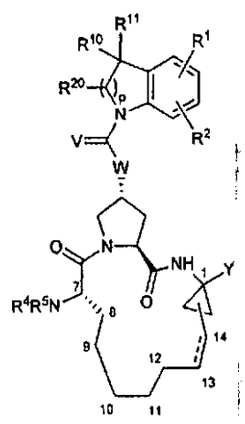
por arriba de la dosis presuntamente eficaz (3 mg/kg) que produce concentraciones en hígado de 100 veces en exceso del valor EC_{50} de replicon del compuesto.

REIVINDICACIONES

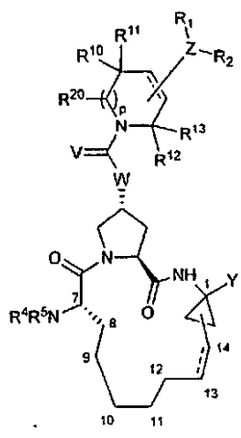
1.Un compuesto que tiene la fórmula I, VIII o IX:



I



VIII



IX

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, alquenilo C_{2-6}, alcoxi C_{1-6}, hidroxi-C_{1-6} alquilo, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro, tiazolil, $C(O)NR^6R^7$, NR^6R^7, $C(O)OR^8$, $NHC(O)R^8$, $OCH_nNR^6R^7$ u OCH_nR^9; en donde R^9 es imidazolil o pirazolil; dicho tiazolil en la definición de R^1 y R^2 se encuentra opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} o alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro;

(b) R^4 es H

(c) R^5 es $C(O)NR^6R^7$, $C(O)R^8$, $C(O)OR^8$, o $(CO)CHR^{21}NH(CO)R^{22}$;

452

(d) R^6 y R^7 son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10}, o R^6 y R^7 se toman conjuntamente con el nitrógeno al cual se encuentran unidos para formar indolinil, pirrolidinil, piperidinil, piperazinil, o morfolinil;

(e) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10} que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo o fenilo; o R^8 es alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; o R^8 es un anillo de tetrahidrofurano enlazado a lo largo de la posición C_3 o C_4 del anillo de tetrahidrofurano; o R^8 es un anillo de tetrahidropiranilo enlazado a través de la posición C_4 del anillo de tetrahidropiranilo;

(f) Y es una sulfonamida de la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$, en donde R^9 en la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$ es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10}, que se encuentran todos opcionalmente sustituidos de una a tres veces con halo o fenilo, o R^9 en la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$ es arilo $C_{6\ o\ 10}$ que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta tres de halo, ciano, nitro, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} o alcoxi C_{1-6}; o R^9 en la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$ es un alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 grupos fluoro; o R^9 en la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$ es un anillo heteroaromático opcionalmente sustituido hasta dos veces con halo, ciano, nitro, hidroxi, o alcoxi C_{1-6}; o Y es

un ácido carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(g) R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} o alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con hasta 5 fluoro; o R^{10} y R^{11} se toman conjuntamente con el carbono al cual se encuentran unidos para formar ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo;

(h) p = 0 o 1;

(i) R^{12} y R^{13} son cada uno independientemente H o $(CH_2)_nNR^6R^7$ o; o R^{12} y R^{13} son cada uno independientemente alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con $(CH_2)_nOR^8$;

(j) R^{20} es H;

(k) n = 1-4;

(l) V es O o S;

(m) W es O o NR^{15}, en donde R^{15} es H;

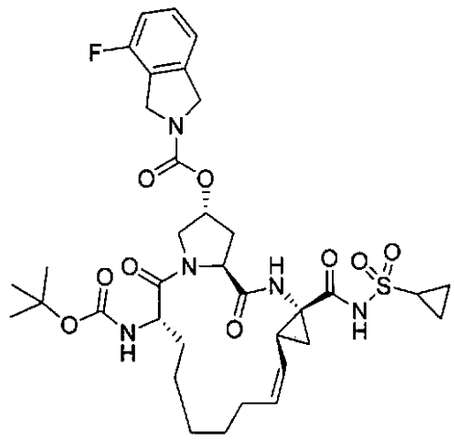
(n) la línea punteada representa un doble enlace opcional;

(o) R^{21} es alquilo C_{1-6} o cicloalquilo C_{3-7};

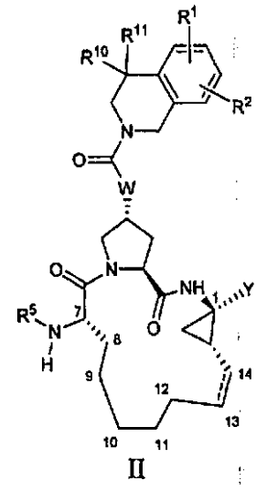
(p) R^{22} es alquilo C_{1-6}; y

(q) Z es un sistema de anillo arilo o heteroarilo fusionado o anexado;

con la condición de que el compuesto no sea



2. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula II:



II

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, o alcoxi C_{1-3};

(b) R^5 es $C(O)NR^6R^7$, $C(O)R^8$, o $C(O)OR^8$;

(c) R^6 y R^7 son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-6}, o cicloalquilo C_{3-7};

(d) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7},

alquilcicloalquilo C_{4-10} o 3-tetrahidrofurilo;

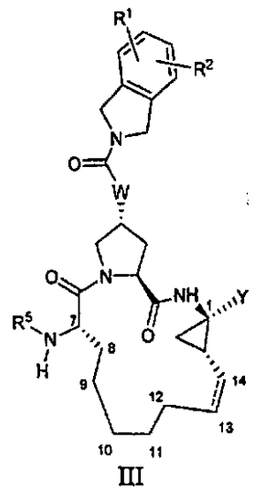
(e) Y es una sulfonamida de la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$, en donde R^9 es alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-7}, o fenilo que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta dos de halo, ciano, nitro, alquilo C_{1-3}, o alcoxi C_{1-3} o Y es un ácido carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(f) R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, o alquilo C_{1-3}, o R^{10} y R^{11} se toman conjuntamente con el carbono al cual se encuentran unidos para formar ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo;

(g) W es O o NH; y

(h) la línea punteada representa un enlace doble opcional.

3. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula general III:



III

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(b) R^5 es $C(O)NR^6R^7$, $C(O)R^8$, $C(O)OR^8$;

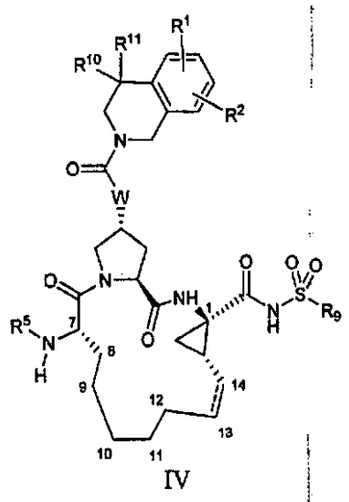
(c) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, alquilcicloalquilo C_{4-10} o 3-tetrahidrofurilo;

(d) Y es una sulfonamida de la fórmula $-C(O)NHS(O)_2R^9$, en donde R^9 es alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-7}, o fenilo que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta dos de halo, ciano, nitro, alquilo C_{1-3}, o alcoxi C_{1-3}; o Y es un ácido carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(e) W se selecciona de O o NH; y

(f) la línea punteada representa un enlace doble opcional.

4. Un compuesto que tiene la fórmula general IV:



IV

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(b) R^5 es $C(O)OR^8$, o $C(O)NHR^8$;

(c) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{5-6}, o 3-tetrahidrofurilo;

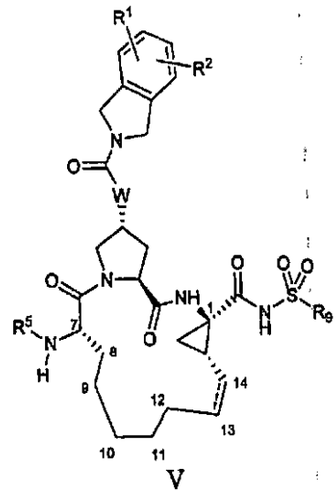
(d) R^9 es alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-4}, o fenilo que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta dos de halo, ciano, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(e) R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-3}, o R^{10} y R^{11} se toman conjuntamente con el carbono al cual se encuentran unidos para formar ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo;

(f) W se selecciona de O o NH; y

(g) la línea punteada representa un enlace doble opcional.

5. Un compuesto que tiene la fórmula general V:



V

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, halo, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(b) R^5 es $C(O)OR^8$, o $C(O)NHR^8$;

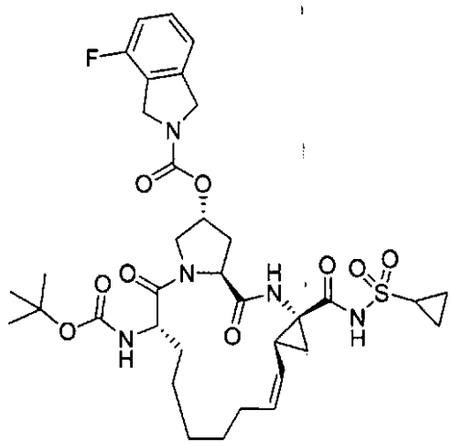
(c) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{5-6}, o 3-tetrahidrofurilo;

(d) R^9 es alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-5}, o fenilo que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta dos de halo, ciano, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

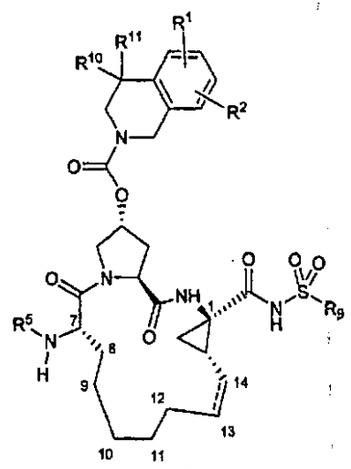
(e) W se selecciona de O o NH

(f) la línea punteada representa un enlace doble opcional.

con la condición de que el compuesto no sea



6. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula general VI:



VI

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, cloro, fluoro, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(b) R^5 es $C(O)OR^8$, o $C(O)NHR^8$;

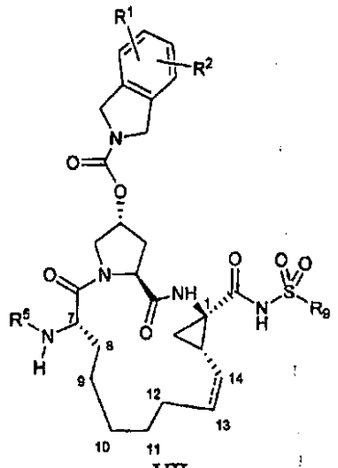
(c) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{5-6};

(d) R^9 es alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-4}, o fenilo que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta dos de halo, ciano, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(e) R^{10} y R^{11} son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-3}, o R^{10} y R^{11} se toman conjuntamente con el carbono al cual se encuentran unidos para formar ciclopropilo, ciclobutilo.

(f) la línea punteada representa un enlace doble opcional.

7. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula general VII:



VII

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en donde

(a) R^1 y R^2 son cada uno independientemente H, cloro, fluoro, ciano, hidroxi, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3};

(b) R^5 es $C(O)OR^8$, o $C(O)NHR^8$;

(c) R^8 es alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{5-6};

(d) R^9 es alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-4}, o fenilo que se encuentra opcionalmente sustituido por hasta dos de halo, ciano, alquilo C_{1-3}, alcoxi C_{1-3}; y

(e) la línea punteada representa un enlace doble opcional.

8. Una composición farmacéutica que comprende:

a) un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-7 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

b) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

TRADUCCION OFICIAL No. 2006-08-14-508

DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

TRASPASO

Legalización de un Traspaso de la invención llamada "Acidos Carboxílicos Macrocíclicos y Acilsulfonamidas como Inhibidores de Replicación del HCV", documento escrito en inglés y en español.

Estado de California

Secretario de Estado

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por Carolyn C. Tang
3. actuando como Notario Público, Estado de California
4. lleva el sello/estampilla de Carolyn C. Tang, Notario Público, Estado de California

CERTIFICADO

5. en Sacramento, California
6. el día 13 de junio de 2006
7. por el Subsecretario de Estado, Estado de California
8. No. 290451
9. Sello/Estampilla
   El Gran Sello del Estado de California
10. Firma: (ilegible)
    Secretario de Estado
    Por (firma: ilegible)

Certificado Notarial, documento también escrito en inglés y en español.

Carolyn C. Tang
Comisión # 1577517
Notario Público - California
Condado de San Mateo
Mi Comisión Expira el 9 de mayo de 2009

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 14 de agosto de 2006, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

462

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

177635

LA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 AGO 16 A 9:35

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

ASSIGNMENT

The undersign,

1. Lawrence M. Blatt

Domiciled in

1. 10 Shoreview, San Francisco, CA 94121

hereby state under oath to be sole and true inventor of

MACROCYCLIC CARBOXYLIC ACIDS AND ACYLSULFONAMIDES AS INHIBITORS OF HCV REPLICATION

State, as well that assign, without reservations or limitation, in favor of

INTERMUNE, INC.

A corporation organized and existing under the laws of

Delaware, USA

domiciled at

3280 Bayshore Boulevard
Brisbane, CA 94005

all rights inherent to said invention, and that the above mentioned corporation hereby is enabled to apply, in its name, for the corresponding patent in the Republic of Colombia.

Signature:

1. _____

TRASPASO

Los abajo firmados,

1. Lawrence M. Blatt

Domiciliado en

1. 10 Shoreview, San Francisco, CA 94121

declaramos bajo juramento ser únicos y verdaderos inventor de

Ácidos Carboxílicos macrocíclicos y acilsulfonamidas como inhibidores de replicació de HCV

Declaramos así mismo que cedemos y transferimos sin reserva ni limitación, a favor de

Intermune, Inc.

Una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes de

Delaware, U.S.A.

domiciliada en

3280 Bayshore Boulevard
Brisbane, CA 94005

todos los derechos inherentes a dicha invención y que la citada sociedad queda facultada para solicitar en su nombre la patente correspondiente en la República de Colombia

Firma:

1. _____

State of California

SECRETARY OF STATE

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. *Country: United States of America*
   This public document
2. *has been signed by Carolyn C. Tang*
3. *acting in the capacity of Notary Public, State of California*
4. *bears the seal/stamp of Carolyn C. Tang, Notary Public, State of California*

CERTIFIED

5. *At Sacramento, California*
6. *the 13th day of June 2006*
7. *by Deputy Secretary of State, State of California*
8. *No. 290451*
9. *Seal/Stamp:*

10. *Signature*

Bruce McPherson

Secretary of State

BY Jaime Winkel

NP-24 A (REV. 4-05)

OSP 05 90772

464

CERTIFICADO NOTARIAL

A los 8 dias del mes de Junio de 2006 compareció personalmente ante mí, Notario Público,

Lawrence H. Blatt

a quien doy fé de conocer y me consta que la persona descrita y firmante del documento que precede, declarando ante mí que otorga el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público

NOTARIAL CERTIFICATE

On this 08 day of JUNE 2006 personally appeared before me, a Notary Public,

LAWRENCE M. BLATT

to me known and known to me to be the person described in and who executed the foregoing document, and duly acknowledged to me that HE executed the same for the uses and purposes therein expressed.

Notary Public

Carolyn C. Tang

CAROLYN C. TANG
Commission # 1577517
Notary Public - California
San Mateo County
My Comm. Expires May 9, 2009

TRADUCCION OFICIAL No. 2006-08-14-507

DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

TRASPASO

Legalización de un Traspaso de la invención llamada "Acidos Carboxílicos Macrocíclicos y Acilsulfonamidas como Inhibidores de Replicación del HCV", documento escrito en inglés y en español.

Sello del Estado de Colorado

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por Peggy D. Hazzard
3. actuando como Notario Público, Estado de Colorado
4. lleva el sello/estampilla de Peggy D. Hazzard, Notario Público, Estado de Colorado

CERTIFICADO

5. en Denver, Colorado
6. este día 14 de junio de 2006
7. por Ginette Dennis, Secretario de Estado, Estado de Colorado
8. Certificado No. 118936
9. Sello/Estampilla
   Sello del Estado de Colorado
10. Firma: (ilegible)

Certificado Notarial, documento también escrito en inglés y en español.

Peggy D. Hazzard
Notario Público
Estado de Colorado

Mi Comisión Expira el 10/14/2008

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 14 de agosto de 2006, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

456

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

477636

LA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 BOD 6 A 9:35

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

ASSIGNMENT

The undersign,

1. Steven Mark Wenglowsky
2. Steven Wade Andrews
3. Yutong Jiang
4. April Layne Kennedy
5. Kevin Ronald Condroski
6. John Anthony Josey
7. Peter John Stengel
8. Machender R. Madduru
9. George Andrew Doherty
10. Benjamin T. Woodard (deceased) represented by Laura Woodard

Domiciled in

1. 3035 O'Neal Parkway, #35S, Boulder, CO 80301
2. 2020 Kentmore, Longmont, CO 80501
3. 1147 Button Rock Drive, Longmont, CO 80501
4. 1225 Emerson Street, #A, Denver, CO 80218
5. 13892 Fox Ridge Drive, Broomfield, CO 80020
6. 7173 Burgundy Drive, Longmont, CO 80503
7. 1525 Cambridge Drive, Longmont, CO 80503
8. 6125 Habitat Drive, Boulder, CO 80301
9. 1830 Keota Lane, Superior, CO 80027
10. 109 Eagle Court, Golden, CO 80403

hereby state under oath to be sole and true inventor of **MACROCYCLIC CARBOXYLIC ACIDS AND ACYLSULFONAMIDES AS INHIBITORS OF HCV REPLICATION**
State, as well that assign, without reservations or limitation, in favor of

ARRAY BIOPHARMA, INC.

A corporation organized and existing under the laws of **Delaware, USA**

domiciled at

3200 Walnut Street
Boulder, CO 80301

all rights inherent to said invention, and that the above mentioned corporation hereby is enabled to apply, in its name, for the corresponding patent in the Republic of Colombia.

Signature(s):

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. Laura Woodard

TRASPASO

Los abajo firmados,

1. Steven Mark Wenglowsky
2. Steven Wade Andrews
3. Yutong Jiang
4. April Layne Kennedy
5. Kevin Ronald Condroski
6. John Anthony Josey
7. Peter John Stengel
8. Machender R. Madduru
9. George Andrew Doherty
10. Benjamin T. Woodard

Domiciliado en

1. 3035 O'Neal Parkway, #35S, Boulder, CO 80301
2. 2020 Kentmore, Longmont, CO 80501
3. 1147 Button Rock Drive, Longmont, CO 80501
4. 1225 Emerson Street, # A, Denver, CO 80218
5. 13892 Fox Ridge Drive, Broomfield, CO 80020
6. 7173 Burgundy Drive, Longmont, CO 80503
7. 1525 Cambridge Drive, Longmont, CO 80503
8. 6125 Habitat Drive, Boulder, CO 80301
9. 1830 Keota Lane, Superior, CO 80027
10. 109 Eagle Court, Golden, CO 80403

declaramos bajo juramento ser únicos y verdaderos inventor de "Ácidos carboxílicos macrocíclicos y acilsulfonamidas como inhibidores de replicación del HCV"
Declaramos así mismo que cedemos y transferimos sin reserva ni limitación, a favor de

Array Biopharma, Inc.

Una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes de Delaware, USA

domiciliada en

3200 Walnut Street
Boulder, CO 80301

todos los derechos inherentes a dicha invención y que la citada sociedad queda facultada para solicitar en su nombre la patente correspondiente en la República de Colombia

Firma(s):

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____

APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 October 1961)

1. Country: United States of America
   This public document
2. has been signed by PEGGY D HAZZARD
3. acting in the capacity of Notary Public, State of Colorado
4. bears the seal/stamp of the PEGGY D HAZZARD, Notary Public, State of Colorado

CERTIFIED

5. at Denver, Colorado
6. this 14th day of June, 2006
6. By GINETTE DENNIS, Secretary of State, State of Colorado
7. Certificate Number 118936.
8. (OFFICIAL SEAL)
10. Signature:

Ginette Dennis

ABS

CERTIFICADO NOTARIAL

A los 20 días del mes de Abril de 2006, compareció personalmente ante mí, Notario Público, Laura Woodard

a quien doy fé de conocer y me consta que la persona descrita y firmante del documento que precede, declarando ante mí que otorga el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público

NOTARIAL CERTIFICATE

On this 20th day of April 2006 personally appeared before me, a Notary Public, Laura Woodard

to me known and known to me to be the person described in and who has executed the foregoing document, and She has duly acknowledged to me that She has executed the same for the uses and purposes therein expressed.

Notary Public

Peggy D. Hazzard

PEGGY D. HAZZARD
NOTARY PUBLIC
STATE OF COLORADO
My Commission Expires 10/14/2008

TRADUCCION OFICIAL No. 2006-08-14-506

DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

TRASPASO

Legalización de un Traspaso de la invención llamada "Acidos Carboxílicos Macrocíclicos y Acilsulfonamidas como Inhibidores de Replicación del HCV", documento escrito en inglés y en español.

Sello del Estado de Colorado

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por Jane F. Platt
3. actuando como Notario Público, Estado de Colorado
4. lleva el sello/estampilla de Jane F. Platt, Notario Público, Estado de Colorado

CERTIFICADO

5. en Denver, Colorado
6. este día 14 de junio de 2006
7. por Ginette Dennis, Secretario de Estado, Estado de Colorado
8. Certificado No. 118934
9. Sello/Estampilla
   Sello del Estado de Colorado
10. Firma: (ilegible)

TRADUCTORA OFICIAL
D.S. 2177/80 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

Certificado Notarial, documento también escrito en inglés y en español.

Jane F. Platt
Notario Público
Estado de Colorado

19

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

477639

CONSTATA QUE FIRMÓ EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 AGO 18 A 9:36

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

Sello del Estado de Colorado

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por T M Sorensen
3. actuando como Notario Público, Estado de Colorado
4. lleva el sello/estampilla de T M Sorensen, Notario Público, Estado de Colorado

Certificado

5. en Denver, Colorado
6. este día 14 de junio de 2006
7. por Ginette Dennis, Secretario de Estado, Estado de Colorado
8. No. 118937
9. Sello Oficial
   Sello del Estado de Colorado
10. Firma: (ilegible)

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/80 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

Certificado Notarial, documento escrito en inglés y en español.

(firma: ilegible)
Notario Público Expira el 4-22-07

T M Sorensen
Notario Público, Estado de Colorado

421

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

407640

CUMPLE LO QUE APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 AGO 10 A 9:37

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

Sello del Estado de Colorado

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por T M Sorensen
3. actuando como Notario Público, Estado de Colorado
4. lleva el sello/estampilla de T M Sorensen, Notario Público, Estado de Colorado
   Certificado
5. en Denver, Colorado
6. este día 14 de junio de 2006
7. por Ginette Dennis, Secretario de Estado, Estado de Colorado
8. No. 118938
9. Sello Oficial
   Sello del Estado de Colorado
10. Firma: (ilegible)

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 0177/89 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

Certificado Notarial, documento escrito en inglés y en español.

(firma: ilegible)
Notario Público Expira el 4-22-07

T M Sorensen
Notario Público, Estado de Colorado

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

4717042

CUTA ESTA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 AGO 16 A 9:37

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

Sello del Estado de Colorado

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por T M Sorensen
3. actuando como Notario Público, Estado de Colorado
4. lleva el sello/estampilla de T M Sorensen, Notario Público, Estado de Colorado
   Certificado
5. en Denver, Colorado
6. este día 14 de junio de 2006
7. por Ginette Dennis, Secretario de Estado, Estado de Colorado
8. No. 118939
8
9. Sello Oficial
   Sello del Estado de Colorado
10. Firma: (ilegible)

TRADUCTORA OFICIAL
RES: 2177/89 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

Certificado Notarial, documento escrito en inglés y en español.

(firma: ilegible)
Notario Público Expira el 4-22-07

T M Sorensen
Notario Público, Estado de Colorado

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

477646

QUIEN APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 AGO 16 A 9:38

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

Sello del Estado de Colorado

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por T M Sorensen
3. actuando como Notario Público, Estado de Colorado
4. lleva el sello/estampilla de T M Sorensen, Notario Público, Estado de Colorado
   Certificado
5. en Denver, Colorado
6. este día 14 de junio de 2006
7. por Ginette Dennis, Secretario de Estado, Estado de Colorado
8. No. 118940
9. Sello Oficial
   Sello del Estado de Colorado
10. Firma: (ilegible)

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/80 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

Certificado Notarial, documento escrito en inglés y en español.

(firma: ilegible)
Notario Público Expira el 4-22-07

T M Sorensen
Notario Público, Estado de Colorado

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

47650

COTA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 AGO 16 A 9:38

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

Sello del Estado de Colorado

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por T M Sorensen
3. actuando como Notario Público, Estado de Colorado
4. lleva el sello/estampilla de T M Sorensen, Notario Público, Estado de Colorado
   Certificado
5. en Denver, Colorado
6. este día 14 de junio de 2006
7. por Ginette Dennis, Secretario de Estado, Estado de Colorado
8. No. 118941
9. Sello Oficial
   Sello del Estado de Colorado
10. Firma: (ilegible)

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/80 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

Certificado Notarial, documento escrito en inglés y en español.

(firma: ilegible)
Notario Público Expira el 4-22-07

T M Sorensen
Notario Público, Estado de Colorado

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

dv 7653

LA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 AGO 4 A 9:39

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

Sello del Estado de Colorado

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por T M Sorensen
3. actuando como Notario Público, Estado de Colorado
4. lleva el sello/estampilla de T M Sorensen, Notario Público, Estado de Colorado
   Certificado
5. en Denver, Colorado
6. este día 14 de junio de 2006
7. por Ginette Dennis, Secretario de Estado, Estado de Colorado
8. No. 118942
9. Sello Oficial
   Sello del Estado de Colorado
10. Firma: (ilegible)

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/80 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

Certificado Notarial, documento escrito en inglés y en español.

(firma: ilegible)
Notario Público Expira el 4-22-07

T M Sorensen
Notario Público, Estado de Colorado

976

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

4776450

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 AGO 16 A 9:40

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

Sello del Estado de Colorado

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por T M Sorensen
3. actuando como Notario Público, Estado de Colorado
4. lleva el sello/estampilla de T M Sorensen, Notario Público, Estado de Colorado

Certificado

5. en Denver, Colorado
6. este día 14 de junio de 2006
7. por Ginette Dennis, Secretario de Estado, Estado de Colorado
8. No. 118943
9. Sello Oficial
   Sello del Estado de Colorado
10. Firma: (ilegible)

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/80 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

Certificado Notarial, documento escrito en inglés y en español.

(firma: ilegible)
Notario Público Expira el 4-22-07

T M Sorensen
Notario Público, Estado de Colorado

477

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

477655

ESTA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 AGO 08 A 9:40

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

Sello del Estado de Colorado

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por T M Sorensen
3. actuando como Notario Público, Estado de Colorado
4. lleva el sello/estampilla de T M Sorensen, Notario Público, Estado de Colorado
   Certificado
5. en Denver, Colorado
6. este día 14 de junio de 2006
7. por Ginette Dennis, Secretario de Estado, Estado de Colorado
8. No. 118935
9. Sello Oficial
   Sello del Estado de Colorado
10. Firma: (ilegible)

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

Certificado Notarial, documento escrito en inglés y en español.

(firma: ilegible)
Notario Público Expira el 4-22-07

T M Sorensen
Notario Público, Estado de Colorado

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 14 de agosto de 2006, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

478

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

477654

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 AGO 16 A 9:41

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

ASSIGNMENT

The undersign,

1. Steven Mark Wenglowsky
2. Steven Wade Andrews
3. Yutong Jiang
4. April Layne Kennedy
5. Kevin Ronald Condroski
6. John Anthony Josey
7. Peter John Stengel
8. Machender R. Madduru
9. George Andrew Doherty
10. Benjamin T. Woodard (deceased) represented by Laura Woodard

Domiciled in

1. 3035 O'Neal Parkway, #35S, Boulder, CO 80301
2. 2020 Kentmore, Longmont, CO 80501
3. 1147 Button Rock Drive, Longmont, CO 80501
4. 1225 Emerson Street, #A, Denver, CO 80218
5. 13892 Fox Ridge Drive, Broomfield, CO 80020
6. 7173 Burgundy Drive, Longmont, CO 80503
7. 1525 Cambridge Drive, Longmont, CO 80503
8. ~~6125 Habitat Drive, Boulder, CO 80301~~ 1842 Hauck St, Erie CO 80516 HER
9. 1830 Keota Lane, Superior, CO 80027
10. 109 Eagle Court, Golden, CO 80403

hereby state under oath to be sole and true inventor of **MACROCYCLIC CARBOXYLIC ACIDS AND ACYLSULFONAMIDES AS INHIBITORS OF HCV REPLICATION**

State, as well that assign, without reservations or limitation, in favor of

ARRAY BIOPHARMA, INC.

A corporation organized and existing under the laws of **Delaware, USA**

domiciled at

3200 Walnut Street
Boulder, CO 80301

all rights inherent to said invention, and that the above mentioned corporation hereby is enabled to apply, in its name, for the corresponding patent in the Republic of Colombia.

Signature(s):

1. _____
2. Steven W. Andr
3. _____
4. April Kennedy
5. _____
6. _____
7. Peter J. Stengel
8. Machender R. Madduru
9. _____
10. _____

TRASPASO

Los abajo firmados,

1. Steven Mark Wenglowsky
2. Steven Wade Andrews
3. Yutong Jiang
4. April Layne Kennedy
5. Kevin Ronald Condroski
6. John Anthony Josey
7. Peter John Stengel
8. Machender R. Madduru
9. George Andrew Doherty
10. Benjamin T. Woodard

Domiciliado en

1. 3035 O'Neal Parkway, #35S, Boulder, CO 80301
2. 2020 Kentmore, Longmont, CO 80501
3. 1147 Button Rock Drive, Longmont, CO 80501
4. 1225 Emerson Street, #A, Denver, CO 80218
5. 13892 Fox Ridge Drive, Broomfield, CO 80020
6. 7173 Burgundy Drive, Longmont, CO 80503
7. 1525 Cambridge Drive, Longmont, CO 80503
8. 1842 Hauck Street, Erie, CO 80516
9. 1830 Keota Lane, Superior, CO 80027
10. 109 Eagle Court, Golden, CO 80403

declaramos bajo juramento ser únicos y verdaderos inventor de Ácidos carboxílicos macrocíclicos y acilsulfonamidas como inhibidores de replicación del HCV

Declaramos así mismo que cedemos y transferimos sin reserva ni limitación, a favor de

Array Biopharma, Inc.

Una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes de Delaware, USA.

domiciliada en

3200 Walnut Street
Boulder, CO 80301

todos los derechos inherentes a dicha invención y que la citada sociedad queda facultada para solicitar en su nombre la patente correspondiente en la República de Colombia

Firma(s):

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____

APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 October 1961)

1. Country: United States of America
   This public document
2. has been signed by JANE F PLATT
3. acting in the capacity of Notary Public, State of Colorado
4. bears the seal/stamp of the JANE F PLATT, Notary Public, State of Colorado

CERTIFIED

5. at Denver, Colorado
6. this 14th day of June, 2006
6. By GINETTE DENNIS, Secretary of State, State of Colorado
7. Certificate Number 118934.
8. (OFFICIAL SEAL)
10. Signature:

Ginette Dennis

CERTIFICADO NOTARIAL

A los 14 días del mes de Abril de 2006, compareció personalmente ante mí, Notario Público,

Steven Mark Wenglowsky

a quien doy fé de conocer y me consta que la persona descrita y firmante del documento que precede, declarando ante mí que otorga el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público

NOTARIAL CERTIFICATE

On this 14th day of April 200 6 personally appeared before me, a Notary Public, Steven Mark Wenglowsky

to me known and known to me to be the person described in and who has executed the foregoing document, and he has duly acknowledged to me that he has executed the same for the uses and purposes therein expressed.

Notary Public Jane F Platt

My commission expires 10/13/07

JANE F. PLATT NOTARY PUBLIC STATE OF COLORADO

401

APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 October 1961)

1. Country: United States of America
   This public document
2. has been signed by T M SORENSEN
3. acting in the capacity of Notary Public, State of Colorado
4. bears the seal/stamp of the T M SORENSEN, Notary Public, State of Colorado

CERTIFIED

5. at Denver, Colorado
6. this 14th day of June, 2006
6. By GINETTE DENNIS, Secretary of State, State of Colorado
7. Certificate Number 118937.
8. (OFFICIAL SEAL)
10. Signature:

Ginette Dennis

CERTIFICADO NOTARIAL

A los 18 días del mes de Abril de 2006, compareció personalmente ante mí, Notario Público, Steven Wade Andrews

a quien doy fé de conocer y me consta que la persona descrita y firmante del documento que precede, declarando ante mí que otorga el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público

NOTARIAL CERTIFICATE

On this 18th day of April 2006 personally appeared before me, a Notary Public, Steven Wade Andrews

to me known and known to me to be the person described in and who has executed the foregoing document, and he has duly acknowledged to me that he has executed the same for the uses and purposes therein expressed.

Notary Public
T M Sorensen
Expires- 4-22-07

T M SORENSEN NOTARY PUBLIC STATE OF COLORADO

APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 October 1961)

1. Country: United States of America
This public document
2. has been signed by T M SORENSEN
3. acting in the capacity of Notary Public, State of Colorado
4. bears the seal/stamp of the T M SORENSEN, Notary Public, State of Colorado

CERTIFIED

5. at Denver, Colorado 6. this 14th day of June, 2006
6. By GINETTE DENNIS, Secretary of State, State of Colorado
7. Certificate Number 118938.
8. (OFFICIAL SEAL) 10. Signature:

Ginette Dennis

CERTIFICADO NOTARIAL

A los 18 días del mes de Abril de 200 6 compareció personalmente ante mí, Notario Público,

Yutong Jiang

a quien doy fé de conocer y me consta que la persona descrita y firmante del documento que precede, declarando ante mi que otorga el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público

NOTARIAL CERTIFICATE

On this 18th day of April 2006 personally appeared before me, a Notary Public, Yutong Jiang

to me known and known to me to be the person described in and who has executed the foregoing document, and he has duly acknowledged to me that he has executed the same for the uses and purposes therein expressed.

Notary Public
T M Sorensen
Expires 4-22-07

T M SORENSEN
NOTARY
PUBLIC
STATE OF COLORADO

APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 October 1961)

1. Country: United States of America
   This public document
2. has been signed by T M SORENSEN
3. acting in the capacity of Notary Public, State of Colorado
4. bears the seal/stamp of the T M SORENSEN, Notary Public, State of Colorado

CERTIFIED

5. at Denver, Colorado
6. this 14th day of June, 2006
6. By GINETTE DENNIS, Secretary of State, State of Colorado
7. Certificate Number 118939.
8. (OFFICIAL SEAL)
10. Signature:

Ginette Dennis

CERTIFICADO NOTARIAL

A los 19 días del mes de Abril de 2006, compareció personalmente ante mí, Notario Público,

April Layne Kennedy

a quien doy fé de conocer y me consta que la persona descrita y firmante del documento que precede, declarando ante mí que otorga el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público

NOTARIAL CERTIFICATE

On this 19th day of April 2006 personally appeared before me, a Notary Public, April Layne Kennedy

to me known and known to me to be the person described in and who has executed the foregoing document, and she has duly acknowledged to me that she has executed the same for the uses and purposes therein expressed.

Notary Public
Expires 4-22-07

T M SORENSEN
NOTARY
PUBLIC
STATE OF COLORADO

APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 October 1961)

1. Country: United States of America
This public document

2. has been signed by T M SORENSEN

3. acting in the capacity of Notary Public, State of Colorado

4. bears the seal/stamp of the T M SORENSEN, Notary Public, State of Colorado

CERTIFIED

5. at Denver, Colorado 6. this 14th day of June, 2006

6. By GINETTE DENNIS, Secretary of State, State of Colorado

7. Certificate Number 118940.

8. (OFFICIAL SEAL)

10. Signature:

Ginette Dennis

CERTIFICADO NOTARIAL

A los 18 dias del mes de Abril de 2006, compareció personalmente ante mí, Notario Público,

Kevin Ronald Condrocki

a quien doy fé de conocer y me consta que la persona descrita y firmante del documento que precede, declarando ante mí que otorga el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público

NOTARIAL CERTIFICATE

On this 18th day of April 2006 personally appeared before me, a Notary Public, Kevin Ronald Condrocki

to me known and known to me to be the person described in and who has executed the foregoing document, and he has duly acknowledged to me that he has executed the same for the uses and purposes therein expressed.

Notary Public
T M Sorensen
Expires 4-22-07

T M SORENSEN NOTARY PUBLIC STATE OF COLORADO

181

APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 October 1961)

1. Country: United States of America
   This public document
2. has been signed by T M SORENSEN
3. acting in the capacity of Notary Public, State of Colorado
4. bears the seal/stamp of the T M SORENSEN, Notary Public, State of Colorado

CERTIFIED

5. at Denver, Colorado
6. this 14th day of June, 2006
6. By GINETTE DENNIS, Secretary of State, State of Colorado
7. Certificate Number 118941.
8. (OFFICIAL SEAL)
10. Signature:

Ginette Dennis

CERTIFICADO NOTARIAL

A los 20 días del mes de Abril de 2006, compareció personalmente ante mí, Notario Público,

John Anthony Josey

a quien doy fé de conocer y me consta que la persona descrita y firmante del documento que precede, declarando ante mí que otorga el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público

NOTARIAL CERTIFICATE

On this 20th day of April 2006 personally appeared before me, a Notary Public,

John Anthony Josey

to me known and known to me to be the person described in and who has executed the foregoing document, and he has duly acknowledged to me that he has executed the same for the uses and purposes therein expressed.

Notary Public

Expires - 4-22-07

T M SORENSEN NOTARY PUBLIC STATE OF COLORADO

APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 October 1961)

1. Country: United States of America
   This public document
2. has been signed by T M SORENSEN
3. acting in the capacity of Notary Public, State of Colorado
4. bears the seal/stamp of the T M SORENSEN, Notary Public, State of Colorado

CERTIFIED

5. at Denver, Colorado
6. this 14th day of June, 2006
7. By GINETTE DENNIS, Secretary of State, State of Colorado
8. Certificate Number 118942.
9. (OFFICIAL SEAL)
10. Signature:

Ginette Dennis

CERTIFICADO NOTARIAL

A los 18 días del mes de Abril de 2006, compareció personalmente ante mí, Notario Público,

Peter John Stengel

a quien doy fé de conocer y me consta que la persona descrita y firmante del documento que precede, declarando ante mí que otorga el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público

NOTARIAL CERTIFICATE

On this 18th day of April 2006 personally appeared before me, a Notary Public, Peter John Stengel

to me known and known to me to be the person described in and who has executed the foregoing document, and he has duly acknowledged to me that he has executed the same for the uses and purposes therein expressed.

Notary Public

TM Sorensen
Expires 4-22-07

T M SORENSEN
NOTARY
PUBLIC
STATE OF COLORADO

APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 October 1961)

1. Country: United States of America
   This public document
2. has been signed by T M SORENSEN
3. acting in the capacity of Notary Public, State of Colorado
4. bears the seal/stamp of the T M SORENSEN, Notary Public, State of Colorado

CERTIFIED

5. at Denver, Colorado
6. this 14th day of June, 2006
6. By GINETTE DENNIS, Secretary of State, State of Colorado
7. Certificate Number 118943.
8. (OFFICIAL SEAL)
10. Signature:

Ginette Dennis

994

CERTIFICADO NOTARIAL

A los 18 días del mes de Abril de 2006, compareció personalmente ante mí, Notario Público,

Hachemder R. Haddou

a quien doy fé de conocer y me consta que la persona descrita y firmante del documento que precede, declarando ante mí que otorga el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público

NOTARIAL CERTIFICATE

On this 18th day of April 2006 personally appeared before me, a Notary Public, machemder R. maddou

to me known and known to me to be the person described in and who has executed the foregoing document, and he has duly acknowledged to me that he has executed the same for the uses and purposes therein expressed.

Notary Public
T M Sorensen
Expires 4-20-07

T M SORENSEN
NOTARY
PUBLIC
STATE OF COLORADO

APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 October 1961)

1. Country: United States of America
   This public document
2. has been signed by JANE F PLATT
3. acting in the capacity of Notary Public, State of Colorado
4. bears the seal/stamp of the JANE F PLATT, Notary Public, State of Colorado

CERTIFIED

5. at Denver, Colorado
6. this 14th day of June, 2006
6. By GINETTE DENNIS, Secretary of State, State of Colorado
7. Certificate Number 118935.
8. (OFFICIAL SEAL)
10. Signature:

Ginette Dennis

CERTIFICADO NOTARIAL

A los 14 días del mes de Abril de 2006, compareció personalmente ante mí, Notario Público,

George Andrew Doherty

a quien doy fé de conocer y me consta que la persona descrita y firmante del documento que precede, declarando ante mí que otorga el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público

NOTARIAL CERTIFICATE

On this 14th day of April 200 6 personally appeared before me, a Notary Public, George Andrew Doherty

to me known and known to me to be the person described in and who has executed the foregoing document, and he has duly acknowledged to me that he has executed the same for the uses and purposes therein expressed.

Notary Public Jane F Platt

My commission expires 10/13/07

JANE F. PLATT NOTARY PUBLIC STATE OF COLORADO

TRADUCCION OFICIAL No. 2006-08-08-4863
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

AFIDÁVIT DE NICOLE DUVAL BROWN

Yo, Nicole Duval Brown, soy Especialista en Patentes Internacionales para la firma Knobbe, Martens, Olson & Bear, LLP, donde he sido empleada desde agosto de 1999. Soy ciudadana de los Estados Unidos de América, y residente en 11795 Caminito Del Hoy, San Diego, California 92128, Estados Unidos de América.

Declaro que el documento adjunto es una copia fiel, correcta y completa del Acuerdo de Confidencialidad e Invenciones entre Benjamin T. Woodward ("Empleado") y Array BioPharma Inc. ("Compañía") que tiene fecha de vigencia del 29 de abril de 2002.

Firmado este día 28 de julio de 2006.

(firma: ilegible)
Firma

Estado de California)
) ss:
Condado de San Diego)

El 28 de julio de 2006, ante mí, Sheila Deschenes, un Notario Público, compareció personalmente Nicole D. Brown, a quien conozco personalmente (o quien me demostró con base en evidencia satisfactoria ser la persona cuyo

nombre está suscrito al instrumento adjunto, y reconoció ante mí que ella ejecutó el mismo como persona autorizada, y que por medio de su firma sobre el instrumento la persona, o la entidad en nombre de quien la persona actuó, ejecutó el instrumento.

TESTIFICA mi firma y sello oficial.

[SELLO]

(firma: ilegible)
Notario Público

Sheila Deschenes
Comisión # 1406854
Notario Público – California
Condado de San Diego
Mi Comisión Expira el 16 de abril de 2007

ACUERDO DE CONFIDENCIALIDAD E INVENCIONES

Este Acuerdo de Confidencialidad e Invenciones (este "Acuerdo"), por y entre Array BioPharma Inc., una sociedad de Delaware (la "Compañía"), y Benjamin T. Woodard, una persona ("Empleado"), se ejecuta para tener vigencia desde la "Fecha de Vigencia" indicada en la Sección 3(j) a continuación.

Como una condición para, y en contraprestación del empleo o empleo continuado del Empleado (según sea el caso) con la Compañía, y en contraprestación de acuerdos y arreglos mutuos contenidos en el presente y por otras contraprestaciones buenas y valiosas, el recibo y suficiencia de lo cual se reconoce por el presente, las partes acuerdan lo siguiente:

1. **Protección de Secretos Comerciales e Información Confidencial.**

(a) **Definición de "Información Confidencial."** Según se usa en este Acuerdo, el término "Información Confidencial" incluirá toda la información relacionada o que surja de los negocios de la Compañía, incluyendo, sin limitación, secretos comerciales, usados o desarrollados por la Compañía en relación con sus negocios; información relacionada con la manera y detalles de la operación, organización y manejo de la Compañía; información financiera y/o documentos y políticas no-públicas, procedimientos y otro material impreso o escrito generado o usado en relación con el negocio de la Compañía; planes y estrategias de los negocios de la Compañía; las identidades de los clientes de la Compañía y los representantes de los clientes individuales específicos con quien la Compañía trabaja y detalles de la relación de la Compañía con dichos clientes y representantes de los clientes. Las identidades de otras personas o compañías

utilizadas en el negocio y detalles de las relaciones de la Compañía con dichas personas o compañías; la naturaleza de costos y cargos hechos a los clientes de la Compañía: formas no públicas, contratos y otros documentos usados en el negocio de la Compañía; la naturaleza y contenido de programas de computador usados en el negocio de la Compañía, ya sea de propiedad de la Compañía o usados por la Compañía bajo licencia de un tercero; y/o otra información relacionada con el know-how, investigación, invenciones, propiedad intelectual, marcas, solicitudes de patente, patentes, procesos, diseños, especificaciones técnicas, métodos, conceptos, prospectos, clientes, empleados, contratistas, ganancias, productos, servicios, fórmulas, composiciones, máquinas, equipo, sistemas, y/o contratos futuros y ejecutados y otros arreglos de negocios. Según se usa en este Acuerdo, "Compañía" incluye cualquier subsidiaria o afiliada directa o indirecta de la Compañía.

Información Confidencial bajo este acuerdo no incluirá información que (i) el Empleado pueda demostrar que estaba en posesión del Empleado antes del empleo con la Compañía (a menos que dicha información sea traspasada a, o de otro modo se convierta en propiedad de, la Compañía o (ii) es ahora de dominio público, o después entre al dominio público sin ninguna infracción por parte del Empleado de las obligaciones bajo el presente o cualquier otra obligación de confidencialidad, o (iii) es obtenida legalmente de una fuente (fuera de la Compañía, sus afiliadas o representantes) de conformidad con los términos y condiciones, si hubiese, impuestos al Empleado por dicha fuente respecto al uso y revelación de la misma; siempre y cuando, sin embargo, que dicha fuente no estaba en el momento obligada por un acuerdo de confidencialidad con la Compañía o una de sus afiliadas o representantes. Información Confidencial no incluirá información genérica, conocimiento o habilidades que el Empleado pueda

haber aprendido o adquirido de manera razonable en el curso de un empleo similar o trabajo en otra parte en la técnica.

(b) **Restricciones sobre el Uso de Información Confidencial por parte del Empleado**. Excepto en relación con y en adelanto de los deberes oficiales del Empleado con y en nombre de la Compañía, el Empleado no usará, copiará, revelará, divulgará, transmitirá, traspasará, transferirá o de otro modo comunicará en ningún momento o manera Información Confidencial a ninguna persona o entidad, ya sea directa o indirectamente, sin el previo consentimiento escrito de la Compañía.

(c) **Reconocimiento**. El Empleado reconoce que durante el término de este Acuerdo, el Empleado tendrá acceso a Información Confidencial, toda la cual será accesible al Empleado únicamente en estricta confidencialidad; que la revelación no autorizada de Información Confidencial dañará el negocio de la Compañía; que la Información Confidencial será susceptible de aplicación de competitividad inmediata por un competidor de la Compañía; que el negocio de la Compañía depende sustancialmente del acceso a y la privacidad continuada de la Información Confidencial; que la Información Confidencial es única y propiedad de la Compañía y conocida únicamente por el Empleado, la Compañía y ciertos empleados y contratistas claves de la Compañía; y que el título, propiedad, posesión y control de la Información Confidencial permanecerá en todo momento con la Compañía. Por consiguiente, el Empleado reconoce que las restricciones contenidas en esta Sección 1 son razonables y necesarias para la protección del negocio de la Compañía.

(d) **Documentos y Otros Registros que Contienen Información Confidencial**. Todos los documentos u otros registros que contienen o aluden a Información Confidencial que son preparados por o suministrados al Empleado

durante el término de este Acuerdo o que llegan a ser posesión del Empleado en relación con el desempeño del Empleado de servicios para la Compañía son y permanecerán propiedad de la Compañía. El Empleado no copiará o usará ningún documento o Información Confidencial para ningún propósito que no se relacione directamente con el desempeño del Empleado de los servicios para la Compañía, ni el Empleado comerciará o de ninguna manera proporcionará o hará disponible a ninguna parte fuera de la Compañía ninguna Información Confidencial, excepto según sea previamente autorizado por escrito por la Compañía. A la terminación de este Acuerdo por cualquier razón y haciendo caso omiso de las circunstancias de dicha terminación o existencia de una disputa entre el Empleado y la Compañía después de o relacionada con la terminación del empleo del Empleado, o según solicitud de la Compañía, sus sucesores o cesionarios, el Empleado le entregará de inmediato a la Compañía o a quien se designe (y no mantendrá en posesión del Empleado o entregará a nadie más, incluyendo cualquier copia) cualquiera y todos los dispositivos, registros, datos, notas, reportes, propuestas, listas, correspondencia, especificaciones, dibujos, proyectos, bosquejos, materiales, equipo, otros documentos o propiedad, o reproducciones de cualquier ítem anteriormente mencionado que pertenezca a la Compañía, sus sucesores o cesionarios. No obstante cualquier otra disposición de este Acuerdo, este Acuerdo no le prohibirá al Empleado cumplir con cualquier citación u orden de un tribunal, siempre y cuando que antes de hacerlo el Empleado dé notificación escrita a la Compañía, en el lugar de negocios principal de la Compañía, del recibo del Empleado de dicha citación u orden del tribunal con anticipación al tiempo de comparecencia indicado en la citación u orden del tribunal.

(e) **Información Confidencial de Terceros**. El reconocimiento del Empleado de que la Compañía ha recibido y en el futuro recibirá de terceros información confidencial o de propiedad, y que la Compañía debe mantener la

confidencialidad de dicha información y usarla únicamente con fines apropiados. El Empleado no usará o revelará dicha información excepto según sea permitido por la Compañía o terceros a quien pertenezca la información.

(f) **Otros Acuerdos**. El Empleado le garantiza a la Compañía que, excepto según se ha identificado en el Anexo A adjunto al presente, el Empleado no está obligado por ningún acuerdo o cualquier otra relación de negocios previa o existente que entre en conflicto con o prevenga el pleno desempeño de cualquiera de las obligaciones del Empleado para con la Compañía. Durante el empleo del Empleado con la Compañía, el Empleado acuerda no usar o revelar de manera inapropiada información de propiedad o secretos comerciales a cualquier empleador anterior o concurrente, o a cualquier otra persona o entidad con quien el Empleado tenga un acuerdo o con quien el Empleado tenga el deber de mantener dicha información en confidencia. Dichas personas o entidades con quien el Empleado tenga dichos acuerdos o con quien el Empleado tenga dicho deber son identificados en el Anexo A.

2. <u>Invenciones</u>.

(a) **Revelación**. El Empleado acuerda revelar oportunamente a la Compañía los detalles completos de cualquiera y todas las ideas, procesos, marcas y marcas de servicio, datos técnicos, know-how, trabajos, invenciones, descubrimientos, mercadeo e ideas de negocios, y mejoras a cualquiera de los anteriores, incluyendo toda la información necesaria para permitir que la Compañía reproduzca cualquiera de los anteriores, (colectivamente llamados, "Invenciones"), que el Empleado conciba, desarrolle o cree solo o con la ayuda de otros durante el término del empleo del Empleado con la Compañía (ya sea concebido, desarrollado o creado durante las horas de trabajo regular o no) que:

(a) **Instrumentos Adicionales.** El Empleado ejecutará, reconocerá y entregará cualquier instrumento o documento adicional que la Compañía considere necesario para llevar a cabo las intenciones de este Acuerdo, incluyendo dichos instrumentos según la ley de cualquier jurisdicción requiera, ahora vigente o después promulgada, que pudiese afectar los derechos de propiedad de la Compañía relacionados con los derechos y obligaciones creados por este Acuerdo. El Empleado además acuerda, en cuanto a todas las Invenciones, ayudar a la Compañía en toda manera (a expensas de la Compañía) a obtener y, de tiempo en tiempo, ejecutar patentes sobre las Invenciones en cualquiera y todos los países. Para dicho fin, a manera de ilustración pero no de limitación, el Empleado testificará en cualquier pleito u otro procedimiento que comprometa cualquiera de las Invenciones, ejecutará todos los documentos que la Compañía determine de manera razonable que sean necesarios o convenientes para usarse para solicitar y obtener patentes para ello y ejecutará los mismos, y ejecutará todos los traspasos necesarios sobre ello a la Compañía o las personas designadas por ella. La obligación del Empleado de ayudar a la Compañía a obtener y ejecutar patentes para las Invenciones en cualquiera y todos los países continuará más allá de la terminación del empleo del Empleado, pero la Compañía compensará al Empleado a una tasa razonable después de dicha terminación por el tiempo gastado realmente por el Empleado a solicitud de la Compañía en dicha asistencia. En el evento en que la Compañía no pueda, después de un esfuerzo razonable, asegurar la firma del Empleado sobre cualquier documento o documentos necesarios para solicitar o procesar una patente, derecho de propiedad intelectual u otro derecho o protección relacionado con una Invención, ya sea debido a incapacidad física o mental del Empleado o por cualquier otra razón, el Empleado por el presente irrevocablemente designa y nombra a la Compañía y a sus funcionarios y agentes debidamente autorizados como agente y apoderado del Empleado, para actuar en nombre del Empleado y en su lugar para

(i) se relacionen con el negocio de la Compañía; (ii) resulten de un trabajo desempeñado por el Empleado para la Compañía; (iii) comprendan el uso del equipo, suministros, instalaciones, o información de secretos comerciales de la Compañía; (iv) resulten de o sean sugeridos por cualquier trabajo hecho a solicitud de la Compañía o por un empleado de la Compañía fuera del Empleado, o que se relacionen con algún problema específicamente asignado al Empleado; o (v) resulten del acceso del Empleado a memorandos, notas, registros, dibujos, bosquejos, modelos, mapas, listas de clientes, resultados de investigaciones, datos, fórmulas, especificaciones, invenciones, procesos, equipo, o semejantes.

Las invenciones bajo este Acuerdo no incluirán ninguna invención que i) hubiese sido desarrollada en el propio tiempo del Empleado; ii) hubiese sido desarrollada sin el uso del equipo, suministros, instalaciones, o Información Confidencial de la Compañía; y iii) no se relacione con el negocio de la Compañía.

(b) Traspaso. El Empleado traspasará a la Compañía, sin contraprestación adicional, todo derecho del Empleado a la Invención que será propiedad única y exclusiva de la Compañía ya sea patentable o no. El Empleado reconoce también que todas las Invenciones hechas por el Empleado (solo o en conjunto con otros), dentro del alcance del empleo del Empleado, y que son protegidos por propiedad intelectual, son "trabajos hechos por contrato", según ese término es definido en la Ley de Propiedad Intelectual de los Estados Unidos (17 U.S.C. § 101). Hasta donde dichas Invenciones, por operación de la ley, no puedan ser "trabajos hechos por contrato", el Empleado por el presente traspasa a la Compañía todo derecho, título e interés en y de dichas Invenciones y a cualquier propiedad intelectual relacionada.

3. **Disposiciones Generales.**

506

ejecutar y archivar dicha solicitud o solicitudes y hacer todos los otros actos legalmente permitidos para adelantar la prosecución y expedición de patentes, derechos de propiedad intelectual o protecciones semejantes para ello con la misma fuerza y efecto legal como si hubiesen sido ejecutados por el Empleado.

(b) **Remedios.** El Empleado reconoce que con la violación de este Acuerdo la Compañía sufrirá daño inmediato e irreparable para lo cual el dinero solo no compensará completamente a la Compañía. El Empleado por lo tanto acuerda que con dicha violación o amenaza de violación inminente de este Acuerdo, la Compañía tendrá derecho a una orden de entredicho temporal, requerimiento judicial preliminar, requerimiento judicial permanente o desagravio por mandato judicial, sin obtención de ninguna fianza u otra garantía, prohibiéndole al Empleado violar cualquier disposición de este Acuerdo. A opción de la Compañía, cualquier acción para ejecutar este Acuerdo será traída o transferida a un tribunal estatal o federal en Boulder, Colorado. Nada en este Acuerdo será interpretado como una elección de cualquier remedio, o como una renuncia de un derecho disponible a la Compañía bajo este Acuerdo o la ley, incluyendo el derecho a buscar daños del Empleado por violación de cualquiera de las disposiciones de este Acuerdo.

(c) **No Solicitación de Empleados.** El Empleado acuerda que durante el término del empleo y por un período de dos años después de la terminación o cesación del empleo por cualquier razón, el Empleado no reclutará, solicitará o contratará, directa o indirectamente, a un empleado de la Compañía, o inducirá o intentará inducir a un empleado de la Compañía que descontinúe su relación de empleo con la Compañía.

(d) No es un Contrato de Empleo. El Empleado acuerda y entiende que nada en este Acuerdo conferirá ningún derecho respecto a la continuación de empleo por parte de la Compañía, ni interferirá de ninguna manera con el derecho del Empleado o el derecho de la Compañía de terminar el empleo del Empleado en cualquier momento, sin o con causa.

(e) Ley que Rige; Consentimiento a Jurisdicción Personal. Este Acuerdo se regirá por y se interpretará de conformidad con las leyes del Estado de Colorado. El Empleado por el presente acuerda expresamente a la jurisdicción personal de los tribunales del estado y federales localizados en Colorado para cualquier pleito presentado contra el Empleado por parte de la Compañía que surja o se relacione con este Acuerdo.

(f) Acuerdo Completo. Este Acuerdo expresa el acuerdo y entendimiento final, completo y exclusivo entre la Compañía y el Empleado relacionado con la materia objeto del mismo. Ninguna modificación o enmienda de este Acuerdo, ni ninguna renuncia de un derecho bajo este Acuerdo, será efectiva a menos que sea por escrito firmada por la parte acusada. Ningún cambio o cambios subsiguientes en los deberes, salario o compensación del Empleado afectará la validez o alcance de este Acuerdo.

(f) Divisibilidad. Si se considera que una o más de las disposiciones en este Acuerdo no se pueden hacer cumplir por ley, entonces las disposiciones restantes continuarán con toda su fuerza y efecto.

(h) Supervivencia. Las disposiciones de este Acuerdo sobrevivirán a la terminación del empleo del Empleado por cualquier razón y el traspaso de este Acuerdo por la Compañía a un sucesor en interés u otro cesionario.

(i) Renuncia. Ninguna renuncia por parte de la Compañía de una violación de este Acuerdo será una renuncia de una violación precedente o sucesiva. Ninguna renuncia por parte de la Compañía de un derecho bajo este Acuerdo será interpretado como una renuncia de ningún otro derecho.

(f) Fecha de Vigencia. Este Acuerdo tiene vigencia desde el primer día del empleo del Empleado con la Compañía. El Empleado entiende que este Acuerdo afecta los derechos del Empleado para con los trabajos e invenciones que el Empleado desarrolle durante el empleo del Empleado con la Compañía y restringe la capacidad del Empleado de revelar o usar Información Confidencial.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, las partes han ejecutado este acuerdo con fecha de vigencia desde la Fecha de Vigencia.

COMPAÑIA:
ARRAY BIOPHARMA, INC., una sociedad de Delaware
Por: (firma: ilegible)
Nombre: Leslie Ewing
Cargo: Departamento de Recursos Humanos

HE LEIDO TODAS LAS DISPOSICIONES DE ESTE ACUERDO Y ENTIENDO, Y ACUERDO CADA UNA DE DICHAS DISPOSICIONES. ENTIENDO QUE ESTE ACUERDO PUEDE AFECTAR MI DERECHO DE ACEPTAR EL EMPLEO CON OTRAS COMPAÑÍAS SUBSIGUIENTES A MI EMPLEO CON LA COMPAÑIA.

EMPLEADO:

Por: (firma: ilegible)

Benjamin T. Woodard

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 8 de agosto de 2006, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 del 15 de agosto de 1989, Ministerio de Justicia República de Colombia.

RES. 2177/89 MINJUSTICIA

ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

50

AFFIDAVIT OF NICOLE DUVAL BROWN

I, Nicole Duval Brown, am an International Patent Specialist for the law firm Knobbe, Martens, Olson & Bear, LLP, where I have been employed since August 1999. I am a citizen of the United States of America, and reside at 11795 Caminito Del Hoy, San Diego, California 92128, United States of America.

I state that the attached document is a true, correct and complete copy of the Confidentiality and Inventions Agreement between the individual, Benjamin T. Woodward ("Employee") and Array BioPharma Inc. ("Company") which has an effective date of April 29, 2002.

Signed this 28 day of July 2006.

Nicole D. Brown
Signature

STATE OF CALIFORNIA)
) ss.
COUNTY OF SAN DIEGO)

On July 28, 2006, before me, Sheila Deschenes, a Notary Public personally appeared Nicole D. Brown, personally known to me (or proved to me on the basis of satisfactory evidence) to be the person whose name is subscribed to the within instrument, and acknowledged to me that she executed the same in her authorized capacity, and that by her signature on the instrument the person, or the entity upon behalf of which the person acted, executed the instrument.

WITNESS my hand and official seal.

[SEAL]

SHEILA DESCHENES
Commission # 1406854
Notary Public - California
San Diego County
My Comm. Expires Apr 16, 2007

SHEILA DESCHENES
Commission # 1406854
Notary Public - California
San Diego County
My Comm. Expires Apr 16, 2007

Sheila Deschenes
Notary Public

2790470
072806

CONFIDENTIALITY AND INVENTIONS AGREEMENT

This Confidentiality and Inventions Agreement (this "Agreement"), by and between Array BioPharma Inc., a Delaware corporation (the "Company"), and Benjamin T. Woodard, an individual ("Employee"), is executed to be effective as of the "Effective Date" set forth in Section 3(j) below.

As a condition to, and in consideration of Employee's employment or continued employment (as the case may be) with the Company, and in consideration of the mutual covenants and agreements contained herein and for other good and valuable consideration, the receipt and sufficiency of which are hereby acknowledged, the parties agree as follows:

1. Protection of Trade Secrets and Confidential Information.

(a) **Definition of "Confidential Information."** As used in this Agreement, the term "Confidential Information" shall include all information concerning or arising from the Company's business, including, without limitation, trade secrets used or developed by the Company in connection with its business; information concerning the manner and details of the Company's operation, organization and management; financial information and/or documents and nonpublic policies, procedures and other printed or written material generated or used in connection with the Company's business; the Company's business plans and strategies; the identities of the Company's customers and the specific individual customer representatives with whom the Company works and details of the Company's relationship with such customers and customer representatives; the identities of other persons or companies utilized in the Company's business and details of the Company's relationship with such persons or companies; the nature of fees and charges made to the Company's customers; nonpublic forms, contracts and other documents used in the Company's business; the nature and content of computer software used in the Company's business, whether proprietary to the Company or used by the Company under license from a third party; and/or other information concerning know-how, research, inventions, copyrights, trademarks, patent applications, patents, processes, designs, technical specifications, methods, concepts, prospects, customers, employees, contractors, earnings, products, services, formulas, compositions, machines, equipment, systems, and/or prospective and executed contracts and other business arrangements. As used in this Agreement, "Company" includes any direct or indirect subsidiary or affiliate of the Company.

Confidential Information under this agreement shall not include information which (i) Employee can demonstrate was in Employee's possession prior to employment with the Company (unless such information is assigned to, or otherwise becomes the property of, the Company or (ii) is now in the public domain, or hereafter enters the public domain through no violation by Employee of the obligations hereunder or any other obligation of confidentiality, or (iii) is lawfully obtained from a source (other than the Company, its affiliates or representatives) in accordance with the terms and conditions, if any, imposed upon Employee by such source respecting the use and disclosure thereof; provided, however, that such source was not at the time bound by a confidentiality agreement with the Company or any of its affiliates or representatives.

Confidential Information shall also not include generic information, knowledge or skill which Employee reasonably would have learned or acquired in the course of similar employment or work elsewhere in the trade.

(b) **Restrictions on Employee's Use of Confidential Information.** Except in connection with and in furtherance of Employee's official duties with and on behalf of the Company, Employee shall not at any time or in any manner use, copy, disclose, divulge, transmit, convey, transfer or otherwise communicate any Confidential Information to any person or entity, either directly or indirectly, without the Company's prior written consent.

(c) **Acknowledgment.** Employee acknowledges that during the term of this Agreement, Employee will have access to Confidential Information, all of which shall be made accessible to Employee only in strict confidence; that unauthorized disclosure of Confidential Information will damage the Company's business; that Confidential Information would be susceptible to immediate competitive application by a competitor of the Company; that the Company's business is substantially dependent on access to and the continuing secrecy of Confidential Information; that Confidential Information is unique and proprietary to the Company and known only to Employee, the Company and certain key employees and contractors of the Company; and that title, ownership, possession and control of Confidential Information shall at all times remain vested in the Company. Consequently, Employee acknowledges that the restrictions contained in this Section 1 are reasonable and necessary for the protection of the Company's business.

(d) **Documents and Other Records Containing Confidential Information.** All documents or other records containing or alluding to Confidential Information that are prepared by or provided to Employee during the term of this Agreement or that come into Employee's possession in connection with Employee's performance of services for the Company are and shall remain the Company's property. Employee shall not copy or use any such documents or Confidential Information for any purpose not relating directly to Employee's performance of services for the Company, nor shall Employee market or in any way provide or make available to any party other than the Company any of the Confidential Information, except pursuant to prior written authorization from the Company. Upon the termination of this Agreement for any reason and regardless of the circumstances of such termination or the existence of any dispute between Employee and the Company following or concerning the termination of Employee's employment, or upon the request of the Company, its successors or assigns, Employee shall immediately deliver to the Company or its designee (and will not keep in Employee's possession or deliver to anyone else, including any copies) any and all devices, records, data, notes, reports, proposals, lists, correspondence, specifications, drawings, blueprints, sketches, materials, equipment, other documents or property, or reproductions of any aforementioned items belonging to the Company, its successors or assigns. Notwithstanding any other provision of this Agreement, this Agreement shall not bar Employee from complying with any subpoena or court order, provided that prior to doing so Employee shall give the Company written notice, at the Company's principal place of business, of Employee's receipt of any such subpoena or court order as far as possible in advance of the appearance time set forth in the subpoena or court order.

(e) **Third-Parties' Confidential Information.** Employee acknowledges that the Company has received and in the future will receive from third parties confidential or proprietary information, and that the Company must maintain the confidentiality of such information and use it only for proper purposes. Employee shall not use or disclose any such information except as permitted by the Company or the third party to whom the information belongs.

(f) **Other Agreements.** Employee represents to the Company that, except as identified on Schedule A hereto, Employee is not bound by any agreement or any other previous or existing business relationship which conflicts with or prevents the full performance of any of Employee's obligations to the Company. During Employee's employment with the Company, Employee agrees not to improperly use or disclose any proprietary information or trade secrets of any former or concurrent employer, or any other person or entity with whom Employee has an agreement or to whom Employee owes a duty to keep such information in confidence. Any such persons or entities with whom Employee has such agreements or to whom Employee owes such a duty are identified on Schedule A.

2. Inventions.

(a) **Disclosure.** Employee agrees to disclose promptly to the Company the full details of any and all ideas, processes, trademarks and service marks, technical data, know-how, works, inventions, discoveries, marketing and business ideas, and improvements or enhancements to any of the foregoing, including all information necessary to enable the Company to reproduce any of the foregoing, (collectively, "Inventions"), that Employee conceives, develops or creates alone or with the aid of others during the term of Employee's employment with the Company (whether or not conceived, developed or created during regular working hours) that: (i) relate to the Company's business; (ii) result from any work performed by Employee for the Company; (iii) involve the use of the Company's equipment, supplies, facilities, or trade secret information; (iv) result from or are suggested by any work done at the Company's request or by any Company employee other than Employee, or relate to any problems specifically assigned to Employee; or (v) result from Employee's access to any of the Company's memoranda, notes, records, drawings, sketches, models, maps, customer lists, research results, data, formula, specifications, inventions, processes, equipment, or the like.

Inventions under this Agreement shall not include any invention that i) was developed on Employee's own time; ii) was developed without the use of the Company's equipment, supplies, facilities, or Confidential Information; and iii) does not relate to the business of the Company.

(b) **Assignment.** Employee shall assign to the Company, without further consideration, Employee's entire right to any Invention which shall be the sole and exclusive property of the Company whether or not patentable. Employee acknowledges also that all Inventions which are made by Employee (solely or jointly with others), within the scope of Employee's employment, and which are protectable by copyright, are "works made for hire," as that term is defined in the United States Copyright Act (17 U.S. C. § 101). To the extent that any such Inventions, by operation of law, cannot be "works made for hire," Employee hereby assigns

to the Company all right, title, and interest in and to such Inventions and to any related copyrights.

3. General Provisions.

(a) **Additional Instruments.** Employee shall execute, acknowledge and deliver any additional instruments or documents that the Company deems necessary to carry out the intentions of this Agreement, including such instruments as may be required by the laws of any jurisdiction, now in effect or hereinafter enacted, that may affect the Company's property rights relating to the rights and obligations created by this Agreement. Employee further agrees, as to all the Inventions, to assist the Company in every way (at the Company's expense) to obtain and, from time to time, enforce patents on the Inventions in any and all countries. To that end, by way of illustration but not limitation, Employee will testify in any suit or other proceeding involving any of the Inventions, execute all documents which the Company reasonably determines to be necessary or convenient for use in applying for and obtaining patents thereon and enforcing same, and execute all necessary assignments thereof to the Company or persons designated by it. Employee's obligation to assist the Company in obtaining and enforcing patents for the Inventions in any and all countries shall continue beyond the termination of Employee's employment, but the Company shall compensate Employee at a reasonable rate after such termination for time actually spent by Employee at the Company's request on such assistance. In the event the Company is unable, after reasonable effort, to secure Employee's signature on any document or documents needed to apply for or prosecute any patent, copyright or other right or protection relating to any Invention, whether because of Employee's physical or mental incapacity or for any other reason whatsoever, Employee hereby irrevocably designates and appoints the Company and its duly authorized officers and agents as Employee's agent and attorney-in-fact, to act for and in Employee's behalf and stead to execute and file any such application or applications and to do all other lawfully permitted acts to further the prosecution and issuance of patents, copyrights or similar protections thereon with the same legal force and effect as if executed by Employee.

(b) **Remedies.** Employee acknowledges that upon a breach of this Agreement the Company will suffer immediate and irreparable harm and damage for which money alone cannot fully compensate the Company. Employee therefore agrees that upon such breach or threat of imminent breach of this Agreement, the Company shall be entitled to a temporary restraining order, preliminary injunction, permanent injunction or other injunctive relief, without posting any bond or other security, barring Employee from violating any provision of this Agreement. At the Company's option, any action to enforce this Agreement shall be brought in or transferred to the state or federal court situated in Boulder, Colorado. Nothing in this Agreement shall be construed as an election of any remedy, or as a waiver of any right available to the Company under this Agreement or the law, including the right to seek damages from Employee for a breach of any provision of this Agreement.

(c) **Non-Solicitation of Employees.** Employee agrees that during the term of employment and for a period of two years after the termination or cessation of employment for any reason, Employee shall not directly or indirectly recruit, solicit or hire any employee of the

Company, or induce or attempt to induce any employee of the Company to discontinue his or her employment relationship with the Company.

(d) **Not an Employment Contract.** Employee agrees and understands that nothing in this Agreement shall confer any right with respect to continuation of employment by the Company, nor shall it interfere in any way with Employee's right or the Company's right to terminate Employee's employment at any time, with or without cause.

(e) **Governing Law; Consent to Personal Jurisdiction.** This Agreement will be governed by and construed according to the laws of the State of Colorado. Employee hereby expressly consents to the personal jurisdiction of the state and federal courts located in Colorado for any lawsuit filed there against Employee by the Company arising from or relating to this Agreement.

(f) **Entire Agreement.** This Agreement sets forth the final, complete and exclusive agreement and understanding between the Company and Employee relating to the subject matter hereof. No modification of or amendment to this Agreement, nor any waiver of any rights under this Agreement, will be effective unless in writing signed by the party to be charged. No subsequent change or changes in Employee's duties, salary or compensation will affect the validity or scope of this Agreement.

(g) **Severability.** If one or more of the provisions in this Agreement are deemed unenforceable by law, then the remaining provisions will continue in full force and effect.

(h) **Survival.** The provisions of this Agreement shall survive the termination of Employee's employment for any reason and the assignment of this Agreement by the Company to any successor in interest or other assignee.

(i) **Waiver.** No waiver by the Company of any breach of this Agreement shall be a waiver of any preceding or succeeding breach. No waiver by the Company of any right under this Agreement shall be construed as a waiver of any other right.

(j) **Effective Date.** This Agreement is effective as of the first day of Employee's employment with the Company. Employee understands that this Agreement affects Employee's rights to works and inventions Employee develops during Employee's employment with the Company and restricts Employee's ability to disclose or use Confidential Information.

[signature page follows]

IN WITNESS WHEREOF, the parties have executed this agreement to be effective as of the Effective Date.

COMPANY:

ARRAY BIOPHARMA, INC., a Delaware corporation

By: _____
Name: Leslie Ewing
Title: Human Resources Generalist

I HAVE READ ALL OF THE PROVISIONS OF THIS AGREEMENT AND I UNDERSTAND, AND AGREE TO, EACH OF SUCH PROVISIONS. I UNDERSTAND THAT THIS AGREEMENT MAY AFFECT MY RIGHT TO ACCEPT EMPLOYMENT WITH OTHER COMPANIES SUBSEQUENT TO MY EMPLOYMENT WITH THE COMPANY.

EMPLOYEE:

By: _____
Benjamin T. Woodard

5/7

TRADUCCION OFICIAL No. 2011-05-16-312

DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
   Este documento público
2. ha sido firmado por T. Wallace
3. actuando como Funcionario que Certifica
4. lleva el sello/estampilla de la Oficina de Patentes y Marcas de los EE.UU.

Certificado

5. en Washington, D.C.
6. el 25 de marzo de 2011
7. por el Funcionario de Autenticaciones, Departamento de Estado de los Estados Unidos
8. No. 11022631-7
9. Sello/Estampilla
   Departamento de Estado
   Estados Unidos de América
10. Firma: (ilegible)
    Denitra T. Hawkins

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA

ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

(JJ.LCCO: 287421.DOC v.1)

LOS ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

A TODOS AQUELLOS QUE VIEREN ESTOS PRESENTES:

DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS

Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos

03 de febrero de 2011

POR EL PRESENTE CERTIFICO QUE ADJUNTO AL PRESENTE SE ENCUENTRA UNA COPIA FIEL DE LOS REGISTROS DE ESTA OFICINA DE UN DOCUMENTO REGISTRADO EL 16 DE NOVIEMBRE DE 2010.

Oficina de Patentes y Marcas
de los Estados Unidos
Departamento de Comercio

Por Autoridad del
Subsecretario de Comercio para Propiedad
Intelectual y Director de la Oficina de Patentes
y Marcas de los Estados Unidos

(firma: ilegible)
T. WALLACE
Funcionario que Certifica

INTMU.007PR, INTMU.007PR2, INTMU.008PR, INTMU.009PR & INTMU.009PR2

CARATULA DE FORMATO DE REGISTRO

PATENTES UNICAMENTE

Para el Director de la Oficina de Patentes y Marcas de los EE.UU. : Por favor registre los documentos originales adjuntos o copia de los mismos.

1. Nombre de la parte(s) que transfiere: (Enumere usando letras o números para las partes múltiples) Scott D. SEIWERT ¿Nombre(s) adicional de la parte que transfiere? ☐ Sí ☒ No	2. Nombre y dirección de la parte(s) que recibe: Nombre: InterMune, Inc. Dirección: 3280 Bayshore Boulevard Brisbane, CA 94005 ¿Nombre(s) adicional de la parte(s) que recibe? ☐ Sí ☒ No
3. Naturaleza del traspaso: ☒ Traspaso ☐ Acuerdo de Seguridad ☐ Fusión ☐ Cambio de Nombre ☐ Otro Fecha de Ejecución: (Enumere como en la sección 1 si hay firmas múltiples) 5 de octubre de 2010	4. Número de Solicitud de los EE.UU. o del PCT o número de Patente de los EE.UU.: (X) Solicitud de Patente No.: 60/511,541 Fecha de Presentación: 14 de octubre de 2003 (X) Solicitud de Patente No.: 60/612,460 Fecha de Presentación: 22 de septiembre de 2004 (X) Solicitud de Patente No.: 60/562,418 Fecha de Presentación: 14 de abril de 2004 (X) Solicitud de Patente No.: 60/558,161 Fecha de Presentación: 30 de marzo de 2004 (X) Solicitud de Patente No.: 60/612,381 Fecha de Presentación: 22 de septiembre de 2004 Se adjuntan números adicionales? ☐ Sí ☒ No
5. Parte a quien se le debe enviar correspondencia relacionada con el documento:	6. Número total de solicitudes y patentes comprendidas: 5

Cliente No. 20,995 Dirección: Knobbe, Martens, Olson & Bear, LLP 2040 Main Street, 14th Floor Irvine, CA 92614 Fax de Retorno: (949) 760-9502 Expediente No.: INTMU.007PR, INTMU.007PR2, INTMU.008PR, INTMU.009PR & INTMU.009PR2	
7. Total derechos (37 CFR 1.2(h)): $200 ☒ Autorizado para ser cargado a la cuenta de depósito	8. Número de la cuenta de depósito: 11-1410 Por favor cargue esta cuenta para cualquier derecho adicional que se requiera, o acredite cualquier sobrepago a esta cuenta.

9. Declaración y firma.

Según mi mejor saber y entender, la información anterior es fiel y correcta y cualquier copia adjunta es una copia fiel verdadera del documento original.

Kerry Taylor	(firma: ilegible)	16 – Nov – 2010
Nombre de la Persona que Firma	Firma	Fecha
43, 947		
Registro No.		

Número total de páginas incluyendo carátula, anexos y documento: 11

700450470

50

TRASPASO

POR CUANTO, Scott D. SEIWERT, ciudadano de los EE.UU., residente en 828 Rockaway Beach Avenue, Pacifica, CA 94011, (persona natural en adelante llamado "CEDENTE") ha inventado varias mejoras, tecnología, invenciones, desarrollos, ideas o descubrimientos nuevos y útiles relacionados con ACIDOS CARBOXILICOS MACROCICLICOS Y ACILSULFONAMIDAS COMO INHIBIDORES DE REPLICACION DEL HCV (colectivamente llamados el "Trabajo") para lo cual se presentó una solicitud para Patente de Invención en los Estados Unidos ante la Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos el 14 de octubre de 2003, y a la que se le proporcionó el número de solicitud 60/511,541 (en adelante la "Solicitud");

Y POR CUANTO, InterMune, Inc. una sociedad de Delaware, con domicilio principal en 3280 Bayshore Boulevard, Brisbane, California 94005 (en adelante el "CESIONARIO"), desea adquirir todo el derecho, título e interés en y de las Solicitudes y el Trabajo;

AHORA, POR LO TANTO, por una contraprestación buena y valiosa el recibo de lo cual se reconoce por el presente, el CEDENTE por el presente reconoce que el CEDENTE ha vendido, traspasado, transferido y cedido, y por el presente vende, traspasa, transfiere y cede, al CESIONARIO, sus sucesores, representantes legales y cesionarios, todo el derecho, título e interés en todo el mundo en las Solicitudes y el Trabajo, incluyendo todas las solicitudes no provisionales que reivindican prioridad sobre ello, incluyendo todas las divisiones, continuaciones, continuaciones en parte, reemisiones y reexamen de ello, y todas las Patentes de Invención de los Estados Unidos que pudiesen otorgarse sobre ello y todas las reemisiones y extensiones de ello, y todos los derechos de prioridad bajo las Convenciones Internacionales y cualquier solicitud relacionada para Patente de Invención y/o patentes otorgadas

presentadas en cualquier país o países extranjeros a los Estados Unidos, todas las extensiones, renovaciones y reemisiones de ello; y el CEDENTE por el presente autoriza y le solicita el Comisionado de Patentes de los Estados Unidos, y a cualquier Funcionario de un país o países extranjeros a los Estados Unidos, cuyo deber es expedir patente sobre solicitudes como se mencionó anteriormente, para que expida todas las Patentes de Invención relacionadas al CESIONARIO, sus sucesores, representantes legales y cesionarios, de conformidad con los términos de este instrumento.

Y el CEDENTE POR EL PRESENTE vende, traspasa, transfiere y cede al CESIONARIO, sus sucesores, representantes legales y cesionarios todas las reivindicaciones por daños y todos los recursos que surjan de cualquier infracción de los derechos por el presente traspasados que pudiesen haberse acumulado antes de la fecha del traspaso al CESIONARIO, o que se acumulen posteriormente, incluyendo, pero no limitándose a, el derecho a demandar, recaudar, y retener daños por infracciones pasadas de dicha Patente de Invención antes o después de la expedición.

Y el CEDENTE POR EL PRESENTE acuerda y conviene que el CEDENTE le comunicará a dicho CESIONARIO, sus sucesores, representantes legales y cesionarios, cualquier hecho conocido por el CEDENTE respecto al Trabajo, y testificará en cualquier proceso legal, ayudará en la preparación de cualquier otras solicitudes provisionales o no provisionales relacionadas con las Solicitudes y el Trabajo o cualquier mejora hecha sobre ello, firmará todos los papeles legítimos, firmará y hará todos los juramentos y/o declaraciones legítimos en conexión con las Solicitudes y el Trabajo incluyendo cualquier mejora sobre ello, cualquier solicitud de patente presentada sobre ello, y cualquier solicitud de continuación presentada de cualquiera de las solicitudes mencionadas, y en general hará todo lo que sea posible para ayudar al CESIONARIO, sus sucesores, representantes legales y cesionarios, a

obtener y hace cumplir la protección de patente apropiada para el Trabajo en todos los países.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, he colocado mi firma y sello este día 5 de octubre de 2010.

(firma: ilegible)
Scott D. SEIWERT

Estado de California)
) ss.
Condado de San Mateo)

El 5 de octubre de 2010, ante mí, C. Tang, Notario Público, compareció personalmente Scott D. SEIWERT, quien me demostró con base en evidencia satisfactoria que es la persona cuyo nombre está suscrito en el instrumento adjunto y reconoció ante mí que él firmó el mismo como persona autorizada, y que por medio de su firma sobre el instrumento la persona, o la entidad en nombre de quien la persona actúo, firmó el instrumento.

Certifico bajo PENA DE PERJURIO bajo las leyes del Estado de California que el párrafo anterior es fiel y correcto.

TESTIFICA mi firma y sello oficial.

[SELLO] (firma: ilegible)
Firma del Notario

C. Tang
Nombramiento # 1849786
Notario Público – California
Condado de San Mateo
Mi Nombramiento Expira el 17 de mayo de 2013

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 16 de mayo de 2011, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO
[JLLCCO: 28742.DOCV.17

5

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: *United States of America*

This public document

2. has been signed by T. Wallace

3. acting in the capacity of Certifying Officer

4. bears the seal/stamp of U.S. Patent and Trademark Office

Certified

5. at Washington, D.C.

6. the twenty-fifth of March, 2011

7. by *~~Assistant~~ Authentication Officer, United States Department of State*

8. No. 1102[illegible]1-7

9. Seal/Stamp:

10. Signature: Denitra T. Hawkins

Denitra T. Hawkins

A 1629111

THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE
United States Patent and Trademark Office

February 03, 2011

THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED IS A TRUE COPY FROM THE RECORDS OF THIS OFFICE OF A DOCUMENT RECORDED ON NOVEMBER 16, 2010.

By Authority of the
Under Secretary of Commerce for Intellectual Property
and Director of the United States Patent and Trademark Office

T. WALLACE
Certifying Officer

523

PR, INTMU.007PR2, INTMU.008PR, INTMU.009PR & INTMU.009PR2

RECORDATION FORM COVER SHEET
PATENTS ONLY

S. Patent and Trademark Office: Please record the attached original documents or copy thereof.

onveying party(ies): (List using letters or or multiple parties) EIWERT me(s) of conveying party(ies) attached? Yes (X) No	2. Name and address of receiving party(ies): **Name**: InterMune, Inc. **Address**: 3280 Bayshore Boulevard Brisbane, CA 94005 Additional name(s) of receiving party(ies) attached? ( ) Yes (X) No
of conveyance: ment ( ) Security Agreement r ( ) Change of Name n Date: (List as in section 1 if multiple es) tober 5, 2010	4. US or PCT Application number(s) or US Patent number(s): (X) Patent Application No.: 60/511,541 Filing Date: October 14, 2003 (X) Patent Application No.: 60/612,460 Filing Date: September 22, 2004 (X) Patent Application No.: 60/562,418 Filing Date: April 14, 2004 (X) Patent Application No.: 60/558,161 Filing Date: March 30, 2004 (X) Patent Application No.: 60/612,381 Filing Date: September 22, 2004 Additional numbers attached? ( ) Yes (X) No
Party to whom correspondence concerning document should be mailed: **Customer No.** 20,995 **Address**: Knobbe, Martens, Olson & Bear, LLP 2040 Main Street, 14th Floor Irvine, CA 92614 **Return Fax:** (949) 760-9502 **Attorney's Docket No.:** INTMU.007PR, INTMU.007PR2, INTMU.008PR, INTMU.009PR & INTMU.009PR2	6. Total number of applications and patents involved: 5
7. Total fee (37 CFR 1.21(h)): $200 (X) Authorized to be charged to deposit account	8. Deposit account number: 11-1410 Please charge this account for any additional fees which may be required, or credit any overpayment to this account.

9. Statement and signature.

To the best of my knowledge and belief, the foregoing information is true and correct, and any attached copy is a true copy of the original document.

Kerry Taylor
Name of Person Signing

Signature

16-Nov-2010
Date

43,947
Registration No.

Total number of pages including cover sheet, attachments and document: 11

Documents transmitted via Facsimile to be recorded with required cover sheet information to:

Mail Stop Assignment Recordation Services
Director, U.S. Patent and Trademark Office
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450
Facsimile Number: (571) 273-0140

10013296/ck/111510

No.: 60/511,541
October 14, 2003

Docket Number: INTMU.007PR

ASSIGNMENT

HEREAS, Scott D. SEIWERT, a U.S. citizen, residing at 828 Rockaway Beach Avenue, Pacifica, CA ndividual(s) hereinafter "ASSIGNOR") invented certain new and useful improvements, technology, s, developments, ideas or discoveries related to MACROCYCLIC CARBOXYLIC ACIDS AND ULFONAMIDES AS INHIBITORS OF HCV REPLICATION (collectively hereinafter referred to as ork") for which an application for Letters Patent in the United States was filed with the United States and Trademark Office on October 14, 2003, and provided with application number 60/511,541 after the "Application");

AND WHEREAS, InterMune, Inc., a Delaware Corporation, with its principal place of business at 3280 ore Boulevard, Brisbane, CA 94005 (hereinafter the "ASSIGNEE"), desires to acquire the entire right, and interest in and to the Application and the Work:

NOW, THEREFORE, for good and valuable consideration, the receipt of which is hereby nowledged, ASSIGNOR hereby acknowledges that ASSIGNOR has sold, assigned, transferred and set over, by these presents does hereby sell, assign, transfer and set over, unto said ASSIGNEE, its successors, legal presentatives and assigns, the entire right, title, and interest throughout the world in the Application and the ork, including all nonprovisional applications claiming priority thereto, including, all divisions, continuations, ntinuations-in-part, reissues, and reexaminations thereof, and all Letters Patent of the United States which ay be granted thereon and all reissues and extensions thereof, and all rights of priority under International Conventions and any related applications for Letters Patent and/or granted patents filed in any country or countries foreign to the United States, all extensions, renewals and reissues thereof; and ASSIGNOR hereby authorizes and requests the Commissioner of Patents of the United States, and any Official of any country or countries foreign to the United States, whose duty it is to issue patents on applications as aforesaid, to issue all related Letters Patent to the ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, in accordance with the terms of this instrument.

AND ASSIGNOR DOES HEREBY sell, assign, transfer, and convey to ASSIGNEE, its successors, legal representatives, and assigns all claims for damages and all remedies arising out of any violation of the rights assigned hereby that may have accrued prior to the date of assignment to ASSIGNEE, or may accrue hereafter, including, but not limited to, the right to sue for, collect, and retain damages for past infringements of said Letters Patent before or after issuance.

AND ASSIGNOR DOES HEREBY covenant and agree that ASSIGNOR will communicate to said ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, any facts known to ASSIGNOR respecting the Work, and testify in any legal proceeding, assist in the preparation of any other provisional or non-provisional applications relating to the Application and the Work or any improvements made thereto, sign all lawful papers, execute and make all rightful oaths and/or declarations in connection with the Application and the Work including any improvements made thereto, any patent applications filed therefrom, and any continuing application filed from any of the aforementioned applications, and generally do everything possible to aid the ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, to obtain and enforce proper patent protection for the Work in all countries.

525

o.: 60/511,541
October 14, 2003

Docket Number: INTMU.007PR
Page 2 of 2

ESTIMONY WHEREOF, I hereunto set my hand and seal this 5 day of OCT.

Scott D. SEIWERT

STATE OF CALIFORNIA)
) ss.
COUNTY OF SAN MATEO)

On OCT. 5, 2010, before me, C. TANG, notary public, ersonally appeared Scott D. SEIWERT who proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the erson(s) whose name(s) is/are subscribed to the within instrument, and acknowledged to me that he/she/they executed the same in his/her/their authorized capacity(ies), and that by his/her/their signature(s) on the instrument the person(s), or the entity upon behalf of which the person(s) acted, executed the instrument.

I certify under PENALTY OF PERJURY under the laws of the State of California that the foregoing paragraph is true and correct.

WITNESS my hand and official seal.

[SEAL]

C. TANG
Commission # 1849786
Notary Public - California
San Mateo County
My Comm. Expires May 17, 2013

C. TANG

Notary Signature

9785661/100410

526

Application No.: 60/612,460
Filing Date: September 22, 2004

Docket Number: INTMU.007PR2

ASSIGNMENT

WHEREAS, Scott D. SEIWERT, a U.S. citizen, residing at 828 Rockaway Beach Avenue, Pacifica, CA 94011, (individual(s) hereinafter "ASSIGNOR") invented certain new and useful improvements, technology, inventions, developments, ideas or discoveries related to MACROCYCLIC CARBOXYLIC ACIDS AND ACYLSULFONAMIDES AS INHIBITORS OF HCV REPLICATION (collectively hereinafter referred to as the "Work") for which an application for Letters Patent in the United States was filed with the United States Patent and Trademark Office on September 22, 2004, and provided with application number 60/612,460 (hereinafter the "Application");

AND WHEREAS, InterMune, Inc., a Delaware Corporation, with its principal place of business at 3280 Bayshore Boulevard, Brisbane, CA 94005 (hereinafter the "ASSIGNEE"), desires to acquire the entire right, title, and interest in and to the Application and the Work:

NOW, THEREFORE, for good and valuable consideration, the receipt of which is hereby acknowledged, ASSIGNOR hereby acknowledges that ASSIGNOR has sold, assigned, transferred and set over, and by these presents does hereby sell, assign, transfer and set over, unto said ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, the entire right, title, and interest throughout the world in the Application and the Work, including all nonprovisional applications claiming priority thereto, including, all divisions, continuations, continuations-in-part, reissues, and reexaminations thereof, and all Letters Patent of the United States which may be granted thereon and all reissues and extensions thereof, and all rights of priority under International Conventions and any related applications for Letters Patent and/or granted patents filed in any country or countries foreign to the United States, all extensions, renewals and reissues thereof; and ASSIGNOR hereby authorizes and requests the Commissioner of Patents of the United States, and any Official of any country or countries foreign to the United States, whose duty it is to issue patents on applications as aforesaid, to issue all related Letters Patent to the ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, in accordance with the terms of this instrument.

AND ASSIGNOR DOES HEREBY sell, assign, transfer, and convey to ASSIGNEE, its successors, legal representatives, and assigns all claims for damages and all remedies arising out of any violation of the rights assigned hereby that may have accrued prior to the date of assignment to ASSIGNEE, or may accrue hereafter, including, but not limited to, the right to sue for, collect, and retain damages for past infringements of said Letters Patent before or after issuance.

AND ASSIGNOR DOES HEREBY covenant and agree that ASSIGNOR will communicate to said ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, any facts known to ASSIGNOR respecting the Work, and testify in any legal proceeding, assist in the preparation of any other provisional or non-provisional applications relating to the Application and the Work or any improvements made thereto, sign all lawful papers, execute and make all rightful oaths and/or declarations in connection with the Application and the Work including any improvements made thereto, any patent applications filed therefrom, and any continuing application filed from any of the aforementioned applications, and generally do everything possible to aid the ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, to obtain and enforce proper patent protection for the Work in all countries.

529

Application No.: 60/612,460
Filing Date: September 22, 2004

Docket Number: INTMU.007PR2

IN TESTIMONY WHEREOF, I hereunto set my hand and seal this 5 day of OCT, 2010.

Scott D. SEIWERT

STATE OF CALIFORNIA)
) ss.
COUNTY OF SAN MATEO)

On OCT. 5, 2010, before me, C. TANG, notary public, personally appeared Scott D. SEIWERT who proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the person(s) whose name(s) is/are subscribed to the within instrument, and acknowledged to me that he/she/they executed the same in his/her/their authorized capacity(ies), and that by his/her/their signature(s) on the instrument the person(s), or the entity upon behalf of which the person(s) acted, executed the instrument.

I certify under PENALTY OF PERJURY under the laws of the State of California that the foregoing paragraph is true and correct.

WITNESS my hand and official seal.

[SEAL]

C. TANG
Commission # 1849786
Notary Public - California
San Mateo County
My Comm. Expires May 17, 2013

Notary Signature

PAT-ASSIGNMENT

9744426/092710

528

Application No.: 60/562,418
Filing Date: April 14, 2004

Docket Number: INTMU.008PR

ASSIGNMENT

WHEREAS, Scott D. SEIWERT, a U.S. citizen, residing at 828 Rockaway Beach Avenue, Pacifica, CA 94011, (individual(s) hereinafter "ASSIGNOR") invented certain new and useful improvements, technology, inventions, developments, ideas or discoveries related to MACROCYCLIC CARBOXYLIC ACIDS AND ACYLSULFONAMIDES HAVING AN AMINOPROLINE AMIDE AS INHIBITORS OF HCV REPLICATION (collectively hereinafter referred to as the "Work") for which an application for Letters Patent in the United States was filed with the United States Patent and Trademark Office on April 14, 2004, and provided with application number 60/562,418 (hereinafter the "Application");

AND WHEREAS, InterMune, Inc., a Delaware Corporation, with its principal place of business at 3280 Bayshore Boulevard, Brisbane, CA 94005 (hereinafter the "ASSIGNEE"), desires to acquire the entire right, title, and interest in and to the Application and the Work:

NOW, THEREFORE, for good and valuable consideration, the receipt of which is hereby acknowledged, ASSIGNOR hereby acknowledges that ASSIGNOR has sold, assigned, transferred and set over, and by these presents does hereby sell, assign, transfer and set over, unto said ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, the entire right, title, and interest throughout the world in the Application and the Work, including all nonprovisional applications claiming priority thereto, including, all divisions, continuations, continuations-in-part, reissues, and reexaminations thereof, and all Letters Patent of the United States which may be granted thereon and all reissues and extensions thereof, and all rights of priority under International Conventions and any related applications for Letters Patent and/or granted patents filed in any country or countries foreign to the United States, all extensions, renewals and reissues thereof; and ASSIGNOR hereby authorizes and requests the Commissioner of Patents of the United States, and any Official of any country or countries foreign to the United States, whose duty it is to issue patents on applications as aforesaid, to issue all related Letters Patent to the ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, in accordance with the terms of this instrument.

AND ASSIGNOR DOES HEREBY sell, assign, transfer, and convey to ASSIGNEE, its successors, legal representatives, and assigns all claims for damages and all remedies arising out of any violation of the rights assigned hereby that may have accrued prior to the date of assignment to ASSIGNEE, or may accrue hereafter, including, but not limited to, the right to sue for, collect, and retain damages for past infringements of said Letters Patent before or after Issuance.

AND ASSIGNOR DOES HEREBY covenant and agree that ASSIGNOR will communicate to said ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, any facts known to ASSIGNOR respecting the Work, and testify in any legal proceeding, assist in the preparation of any other provisional or non-provisional applications relating to the Application and the Work or any improvements made thereto, sign all lawful papers, execute and make all rightful oaths and/or declarations in connection with the Application and the Work including any improvements made thereto, any patent applications filed therefrom, and any continuing application filed from any of the aforementioned applications, and generally do everything possible to aid the ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, to obtain and enforce proper patent protection for the Work in all countries.

52a

Application No.: 60/562,418
Filing Date: April 14, 2004

Docket Number: INTMU.008PR

IN TESTIMONY WHEREOF, I hereunto set my hand and seal this 5 day of OCT, 20 10.

Scott D. SEIWERT

STATE OF CALIFORNIA)
) ss.
COUNTY OF SAN MATEO)

On OCT. 5 2010, before me, C. TANG, notary public, personally appeared Scott D. SEIWERT who proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the person(s) whose name(s) is/are subscribed to the within instrument, and acknowledged to me that he/she/they executed the same in his/her/their authorized capacity(ies), and that by his/her/their signature(s) on the instrument the person(s), or the entity upon behalf of which the person(s) acted, executed the instrument.

I certify under PENALTY OF PERJURY under the laws of the State of California that the foregoing paragraph is true and correct.

WITNESS my hand and official seal.

[SEAL]

Notary Signature

C. TANG
Commission # 1849786
Notary Public - California
San Mateo County
My Comm. Expires May 17, 2013

97B5G13/100410

58

Application No.: 60/558,161
Filing Date: March 30, 2004

Docket Number: INTMU.009PR

ASSIGNMENT

WHEREAS, Scott D. SEIWERT, a U.S. citizen, residing at 828 Rockaway Beach Avenue, Pacifica, CA 94011, (individual(s) hereinafter "ASSIGNOR") invented certain new and useful improvements, technology, inventions, developments, ideas or discoveries related to MACROCYCLIC ACYLSULFONAMIDES AS INHIBITORS OF HCV REPLICATION (collectively hereinafter referred to as the "Work") for which an application for Letters Patent in the United States was filed with the United States Patent and Trademark Office on March 30, 2004, and provided with application number 60/558,161 (hereinafter the "Application");

AND WHEREAS, InterMune, Inc., a Delaware Corporation, with its principal place of business at 3280 Bayshore Boulevard, Brisbane, CA 94005 (hereinafter the "ASSIGNEE"), desires to acquire the entire right, title, and interest in and to the Application and the Work:

NOW, THEREFORE, for good and valuable consideration, the receipt of which is hereby acknowledged, ASSIGNOR hereby acknowledges that ASSIGNOR has sold, assigned, transferred and set over, and by these presents does hereby sell, assign, transfer and set over, unto said ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, the entire right, title, and interest throughout the world in the Application and the Work, including all nonprovisional applications claiming priority thereto, including, all divisions, continuations, continuations-in-part, reissues, and reexaminations thereof, and all Letters Patent of the United States which may be granted thereon and all reissues and extensions thereof, and all rights of priority under International Conventions and any related applications for Letters Patent and/or granted patents filed in any country or countries foreign to the United States, all extensions, renewals and reissues thereof; and ASSIGNOR hereby authorizes and requests the Commissioner of Patents of the United States, and any Official of any country or countries foreign to the United States, whose duty it is to issue patents on applications as aforesaid, to issue all related Letters Patent to the ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, in accordance with the terms of this instrument.

AND ASSIGNOR DOES HEREBY sell, assign, transfer, and convey to ASSIGNEE, its successors, legal representatives, and assigns all claims for damages and all remedies arising out of any violation of the rights assigned hereby that may have accrued prior to the date of assignment to ASSIGNEE, or may accrue hereafter, including, but not limited to, the right to sue for, collect, and retain damages for past infringements of said Letters Patent before or after issuance.

AND ASSIGNOR DOES HEREBY covenant and agree that ASSIGNOR will communicate to said ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, any facts known to ASSIGNOR respecting the Work, and testify in any legal proceeding, assist in the preparation of any other provisional or non-provisional applications relating to the Application and the Work or any improvements made thereto, sign all lawful papers, execute and make all rightful oaths and/or declarations in connection with the Application and the Work including any improvements made thereto, any patent applications filed therefrom, and any continuing application filed from any of the aforementioned applications, and generally do everything possible to aid the ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, to obtain and enforce proper patent protection for the Work in all countries.

531

Application No.: 60/558,161
Filing Date: March 30, 2004

Docket Number: INTMU.009PR

IN TESTIMONY WHEREOF, I hereunto set my hand and seal this 5 day of OCT, 2010.

Scott D. SEIWERT

STATE OF CALIFORNIA)
) ss.
COUNTY OF SAN MATEO)

On OCT. 5. 2010, before me, C TANG, notary public, personally appeared Scott D. SEIWERT who proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the person(s) whose name(s) is/are subscribed to the within instrument, and acknowledged to me that he/she/they executed the same in his/her/their authorized capacity(ies), and that by his/her/their signature(s) on the instrument the person(s), or the entity upon behalf of which the person(s) acted, executed the instrument.

I certify under PENALTY OF PERJURY under the laws of the State of California that the foregoing paragraph is true and correct.

WITNESS my hand and official seal.

[SEAL]

C. TANG
Commission # 1849786
Notary Public - California
San Mateo County
My Comm. Expires May 17, 2013

Notary Signature

9785634/100410

53

Application No.: 60/612,381
Filing Date: September 22, 2004

Docket Number: INTMU.009PR2

ASSIGNMENT

WHEREAS, Scott D. SEIWERT, a U.S. citizen, residing at 828 Rockaway Beach Avenue, Pacifica, CA 94011, (individual(s) hereinafter "ASSIGNOR") invented certain new and useful improvements, technology, inventions, developments, ideas or discoveries related to MACROCYCLIC ACYLSULFONAMIDES AS INHIBITORS OF HCV REPLICATION (collectively hereinafter referred to as the "Work") for which an application for Letters Patent in the United States was filed with the United States Patent and Trademark Office on September 22, 2004, and provided with application number 60/612,381 (hereinafter the "Application");

AND WHEREAS, InterMune, Inc., a Delaware Corporation, with its principal place of business at 3280 Bayshore Boulevard, Brisbane, CA 94005 (hereinafter the "ASSIGNEE"), desires to acquire the entire right, title, and interest in and to the Application and the Work:

NOW, THEREFORE, for good and valuable consideration, the receipt of which is hereby acknowledged, ASSIGNOR hereby acknowledges that ASSIGNOR has sold, assigned, transferred and set over, and by these presents does hereby sell, assign, transfer and set over, unto said ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, the entire right, title, and interest throughout the world in the Application and the Work, including all nonprovisional applications claiming priority thereto, including, all divisions, continuations, continuations-in-part, reissues, and reexaminations thereof, and all Letters Patent of the United States which may be granted thereon and all reissues and extensions thereof, and all rights of priority under International Conventions and any related applications for Letters Patent and/or granted patents filed in any country or countries foreign to the United States, all extensions, renewals and reissues thereof; and ASSIGNOR hereby authorizes and requests the Commissioner of Patents of the United States, and any Official of any country or countries foreign to the United States, whose duty it is to issue patents on applications as aforesaid, to issue all related Letters Patent to the ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, in accordance with the terms of this instrument.

AND ASSIGNOR DOES HEREBY sell, assign, transfer, and convey to ASSIGNEE, its successors, legal representatives, and assigns all claims for damages and all remedies arising out of any violation of the rights assigned hereby that may have accrued prior to the date of assignment to ASSIGNEE, or may accrue hereafter, including, but not limited to, the right to sue for, collect, and retain damages for past infringements of said Letters Patent before or after issuance.

AND ASSIGNOR DOES HEREBY covenant and agree that ASSIGNOR will communicate to said ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, any facts known to ASSIGNOR respecting the Work, and testify in any legal proceeding, assist in the preparation of any other provisional or non-provisional applications relating to the Application and the Work or any Improvements made thereto, sign all lawful papers, execute and make all rightful oaths and/or declarations in connection with the Application and the Work including any improvements made thereto, any patent applications filed therefrom, and any continuing application filed from any of the aforementioned applications, and generally do everything possible to aid the ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, to obtain and enforce proper patent protection for the Work in all countries.

53

Application No.: 60/612,381
Filing Date: September 22, 2004

Docket Number: INTMU.009PR2

IN TESTIMONY WHEREOF, I hereunto set my hand and seal this 5 day of OCT, 20 10.

Scott D. SEIWERT

STATE OF CALIFORNIA)
) ss.
COUNTY OF SAN MATEO)

On OCT. 5, 2010, before me, C. TANG, notary public, personally appeared Scott D. SEIWERT who proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the person(s) whose name(s) is/are subscribed to the within instrument, and acknowledged to me that he/she/they executed the same in his/her/their authorized capacity(ies), and that by his/her/their signature(s) on the instrument the person(s), or the entity upon behalf of which the person(s) acted, executed the instrument.

I certify under PENALTY OF PERJURY under the laws of the State of California that the foregoing paragraph is true and correct.

WITNESS my hand and official seal.

[SEAL]

C. TANG
Commission # 1849786
Notary Public - California
San Mateo County
My Comm. Expires May 17, 2013

Notary Signature

9785686/100410