



No. 14-040944-00000-0000

Fecha: 2014-02-26 16:44:40

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Tra. 11 PATENTEIYII

Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 15



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO **“TRATAMIENTOS DE COMBINACIÓN PARA
HEPATITIS C”**51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL **A01N 43/38**71. SOLICITANTE **GLAXOSMITHKLINE LLC**DOMICILIO PHILADELPHIA, ESTADO DE
PENNSYLVANIA, ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA.74. REPRESENTANTE LEGAL **ALICIA LLOREDA RICAURTE**
T.P. 53.21522. BOGOTÁ, D.C. **26 FEB 2014**

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 14-040944- -00000-0000

Fecha: 2014-02-26 16:44:40

Tra. 11 PATENTEIYII

Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

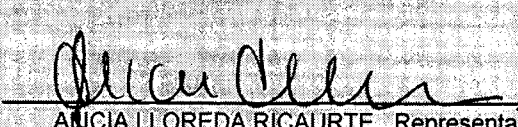
Eve: 378 FASENACIONALI

Folios: 45

radicación

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL -PCT

1	(12) TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/US2012/052216	Fecha 24/08/12
Publicación Internacional No.		WO 2013/028953 A1	Fecha 28/02/13
3	(54) TÍTULO DE LA INVENCIÓN:		
"TRATAMIENTOS DE COMBINACIÓN PARA HEPATITIS C"			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (51) CIP		
A01N 43/38			
5	(71) SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN TIPO
4 GLAXOSMITHKLINE LLC			
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN 5 Crescent Drive, Philadelphia, Pennsylvania 19112, Estados Unidos de América.		No. TELÉFONO 3264270	
CIUDAD Philadelphia		E-MAIL notificacionespatentes@lloredacamacho.com	
DEPARTAMENTO/ESTADO Pennsylvania		NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN Estado de Delaware, Estados Unidos de América.	
PAÍS DE RESIDENCIA Estados Unidos de América			
7	(72) INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1 WALKER		Jill	Estados Unidos de América
2. VOITENLEITNER		Christian	Alemania
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO: notificacionespatentes@lloredacamacho.com			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
Estados Unidos de América	North Carolina	Research Triangle Park	c/o GlaxoSmithKline, Global Patents, Five Moore Drive, P.O. Box 13398, Research Triangle Park, North Carolina 27709, Estados Unidos de América.
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	(74) ☒ REPRESENTANTE ☒ APODERADO		
APELLIDOS LLOREDA RICAURTE		NOMBRES ALICIA	IDENTIFICACIÓN C.C 39.690.713 T.P .53.215
DIRECCIÓN Calle 72 No 5-83 Piso 5to		No. TELÉFONO 3264270	
CIUDAD Bogotá		E-MAIL notificacionespatentes@lloredacamacho.com	
PAÍS Colombia		No. DE PROTOCOLO EN LA OFICINA	

10	(30) DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☐ SI ☐ NO			
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO	(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
1. Estados Unidos de América		US	61/526,798	11/08/24
2. Estados Unidos de América		US	61/529,358	11/08/31
3. Estados Unidos de América		US	61/617,813	12/03/30
11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS			
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.				
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES			
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.				
13	REDUCCIÓN DE TASAS			
Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
Micro, pequeñas y medianas empresas		Universidades públicas o privadas	Entidades sin ánimo de lucro	
☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación. Acreditación Colciencias.	☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.	
☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.			☐ Hoja de información complementaria.	
			☐ Otros, especificar	
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☒ SI ☐ NO			
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.				
14	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N°	14-0012386	Fecha 03-02-2014
15	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL			
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)				
 ALICIA LLOREDA RICAURTE Representante C.C. 39.690.713 T.P. 53.215 Apoderado				
16	ORDEN Y RELACIÓN DE DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN LA SOLICITUD			
Documentación Técnica		Documentación Jurídica		
Solicitud Internacional en castellano				
1. ☒ Descripción N° de folios: 153		9. ☒ Poderes, si fuera el caso.		
2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 31		10. ☒ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.		
3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 7		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.		
4. ☒ Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.		
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal, cuando el solicitante es persona jurídica.		
6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.		
7. ☒ Arte final 12 x 12.		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.		
8. ☒ Anexo formato digital.		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.		
		17. ☐ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.		

•

VER ANEXO CD

•

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS
Dependencia: 2020	Fecha: ____/____/26 AAAA MM DD 2014 02
Recorrido: 4	
Tipo de Radicación: Entrada: ☒ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐	
Radicador:	Planilla:

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	14-040944	0	2
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
7	CD ☒
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones: El cd anexo contiene un total de 11 Archivos. 11- en formato pdf, los cuales fueron procesados. <i>Griselda</i>

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-



RECIBO DE CAJA

No. 14 - 0012386

Bogotá D.C., Febrero 03 de 2014 - 16:47:26

RECIBIDO DE : LLOREDA & CIA. S.A.

NI 830.022.145

RE

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
RECIBO DE CA	999999999	12378	03/02/2014		244.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133697	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133698	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133699	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133700	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133701	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133702	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133703	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133704	24/12/2013		505.000.00
RECIBO DE CA	999999999	133705	24/12/2013		505.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	515.000.00	515.000.00
			\$515.000.00

SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-040944- -00000-0000

Fecha: 2014-02-26 16:44:40 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 15

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

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

Febrero 3 de 2014 - 16:47:29



No. 14-040944- -00000-0000

Fecha: 2014-02-26 16:44:40 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

ADMI

PATENTE DE INVENCION ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐ Art 33 Decisión 486/00

☐

Indicación que se solicita una patente.

☐

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

☐

Descripción de la invención

☐

Dibujos de ser estos pertinentes

☐

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

Completa

☐

Incompleta

☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒

Indicación que se solicita una PCT

☒

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

☒

Dibujos de ser estos pertinentes

☒

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

Completa

☒

Incompleta

☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita Diseño industrial

☐

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

☐

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

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa

☐

Incompleta

☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita un esquema de trazado

☐

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

☐

Representación gráfica de un esquema de trazado

☐

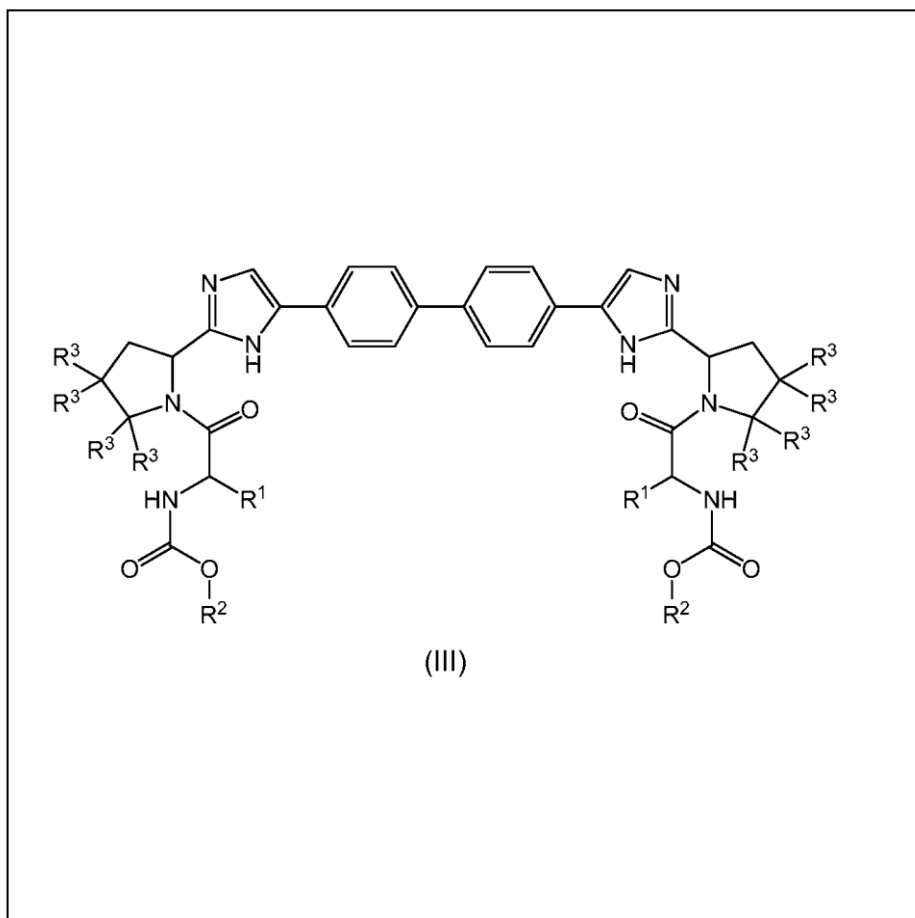
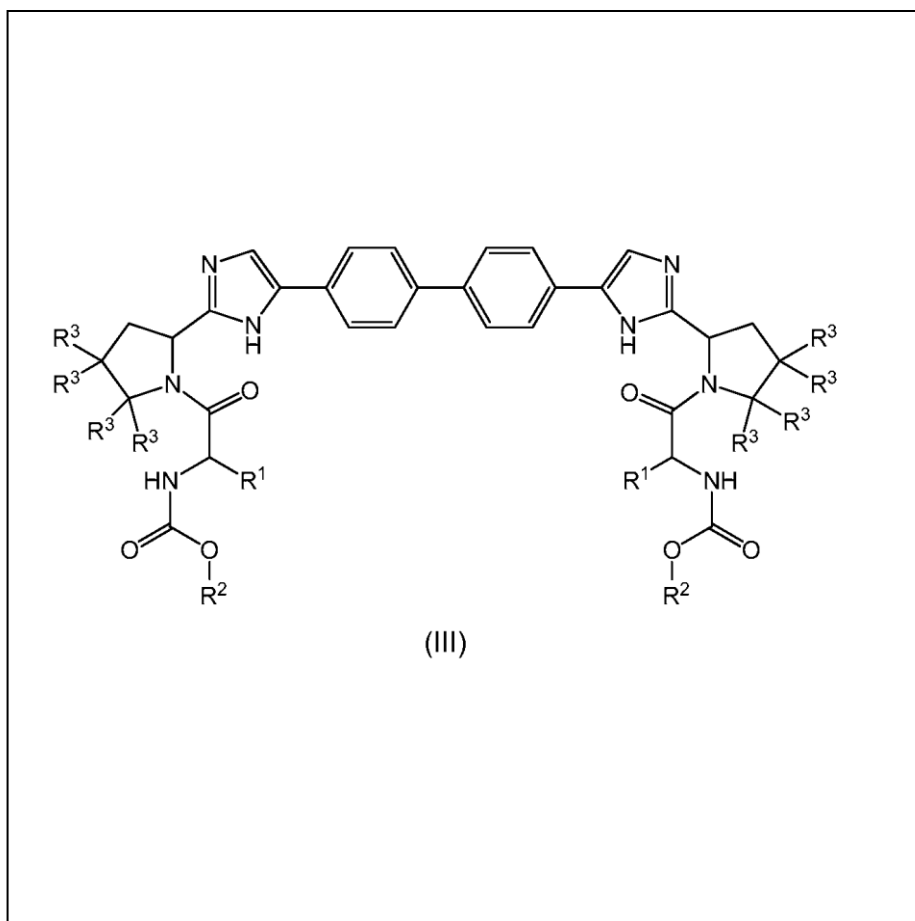
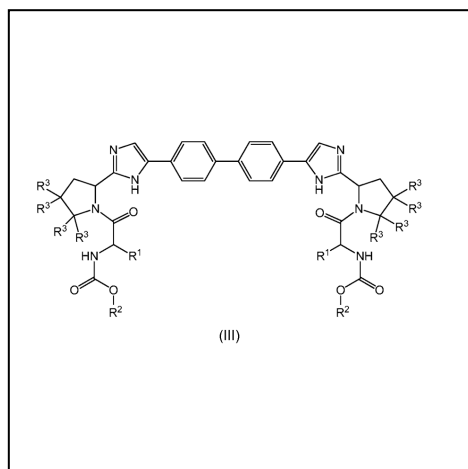
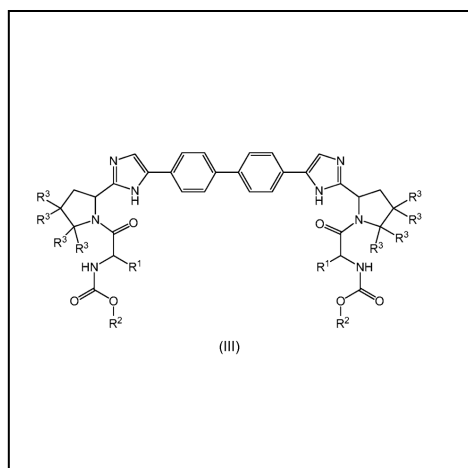
Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa

☐

Incompleta

☐



TRATAMIENTOS DE COMBINACIÓN PARA HEPATITIS C

RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

5

La presente invención proporciona métodos y composiciones farmacéuticas para el tratamiento de Hepatitis C en un ser humano que lo necesite, los cuales comprenden administrar un compuesto de la fórmula (I),
10 (II), (III), (IV), (V), o (VI) descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C.

SECTOR: Sector Farmacéutico. Métodos y composiciones farmacéuticas para el tratamiento de la Hepatitis C.

15

20

25

TRATAMIENTOS DE COMBINACIÓN PARA HEPATITIS C

REFERENCIA CRUZADA A PATENTES Y SOLICITUDES DE PATENTE RELACIONADAS

La presente es una solicitud del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes y reclama el beneficio de la Solicitud Provisional de Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 61/526,798, presentada el 24 de agosto de 2011, de la Solicitud Provisional de Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 61/529,358, presentada el 31 de agosto de 2011, y de la Solicitud Provisional de Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 61/617,813, presentada el 30 de marzo de 2012, todas las cuales se incorporan a la presente como referencia en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a métodos para el tratamiento de infecciones virales mediadas por un miembro de la familia de virus *Flaviviridae*, tales como el virus de hepatitis C (HCV), y a composiciones para este tratamiento, y más particularmente, a métodos para el tratamiento de Hepatitis C en los sujetos que necesiten dicho tratamiento, los cuales comprenden administrar un inhibidor de NS5A descrito en la presente, en combinación con uno o más agentes terapéuticos contra Hepatitis C, y a composiciones y composiciones farmacéuticas que comprenden un inhibidor de NS5A descrito en la presente, en combinación con uno o más agentes terapéuticos contra Hepatitis C alternativos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La infección crónica por el virus de hepatitis C (HCV) es un problema de salud importante asociado con un aumento en el riesgo de tener enfermedad crónica del hígado, cirrosis, carcinoma hepatocelular, e insuficiencia hepática. El virus de hepatitis C (HCV) es un miembro de *hepacivirus* de la familia de

virus de ARN *Flaviviridae* que afecta a los animales y a los seres humanos. El genoma es una sola cadena de ARN de aproximadamente 9.6 kilobases, y consiste en un marco de lectura abierta que codifica una poliproteína de aproximadamente 3,000 aminoácidos flanqueada por regiones no traducidas en
5 ambos extremos 5' y 3' (UTR 5' y 3'). La poliproteína sirve como el precursor para cuando menos 10 proteínas virales separadas críticas para la réplica y el ensamble de las partículas virales de la progenie. La organización de las proteínas estructurales y no estructurales en la poliproteína del virus de hepatitis C (HCV) es como sigue: C-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4a-NS4b-NS5a-
10 NS5b. Debido a que el ciclo de replicación del virus de hepatitis C (HCV) no involucra a ningún intermediario de ADN y el virus no se integra en el genoma del huésped, teóricamente se puede curar la infección por el virus de hepatitis C (HCV). Aunque la patología de la infección por el virus de hepatitis C (HCV) afecta principalmente al hígado, el virus se encuentra en otros tipos de células en el cuerpo, incluyendo los linfocitos de sangre periférica.

El virus de hepatitis C (HCV) es el principal agente causante de la hepatitis posterior a la transfusión y de la hepatitis esporádica. La infección por el virus de hepatitis C (HCV) es insidiosa en una alta proporción de portadores
15 crónicamente infectados (e infecciosos) que pueden no experimentar ningún síntoma clínico durante muchos años. Una estimación de 170 millones de portadores crónicos en todo el mundo están en riesgo de desarrollar la enfermedad hepática. Véase, por ejemplo, Szabo y colaboradores, *Pathol. Oncol. Res.* 2003, 9: 215-221, y Hoofnagle J H, *Hepatology* 1997, 26: 15S-20S.
20 Solamente en los Estados Unidos, 2.7 millones de personas son crónicamente infectadas con el virus de hepatitis C (HCV), y el número de muertes relacionadas con el virus de hepatitis C (HCV) en el año 2000 se estimó entre 8,000 y 10,000, un número que se espera que aumentará significativamente
25 durante los siguientes años.

Históricamente, el tratamiento convencional para la infección por el virus de hepatitis C (HCV) era el interferón-alfa (IFN-alfa), en particular, el interferón-alfa pegilado (PEG-IFN-alfa) en combinación con ribavirina, la cual requería de seis a doce meses de tratamiento. Este régimen de combinación incluía 48 inyecciones semanales de interferón y dosis diarias de ribavirina oral para los pacientes con el virus de hepatitis C (HCV) infectados con el virus del genotipo 1.

El IFN-alfa pertenece a una familia de proteínas pequeñas que se presentan naturalmente, con efectos biológicos característicos, tales como actividades antivirales, inmuno-reguladoras, y antitumorales. Los interferones son producidos y secretados por la mayoría de las células nucleadas animales en respuesta a varias enfermedades, en particular a las infecciones virales. IFN-alfa es un regulador importante del crecimiento y la diferenciación, que afectan a la comunicación celular y al control inmunológico. El tratamiento del virus de hepatitis C (HCV) con interferón con frecuencia se ha asociado con efectos secundarios adversos, tales como fatiga, fiebre, escalofríos, dolor de cabeza, mialgias, artralgias, alopecia leve, efectos psiquiátricos y los trastornos asociados, fenómenos autoinmunes y los trastornos asociados, y disfunción de tiroides.

La ribavirina, un inhibidor de la deshidrogenasa de 5'-mono-fosfato de inosina (IMPDH), potencia la eficacia del IFN-alfa en el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV). A pesar de la introducción de la ribavirina, más del 50 por ciento de los pacientes no eliminan el virus con la terapia estándar actual de interferón-alfa (IFN) y ribavirina. También, un número de pacientes todavía tienen efectos secundarios significativos relacionados con la ribavirina. La ribavirina provoca una hemólisis significativa en el 10 al 20 por ciento de los pacientes tratados con las dosis actualmente recomendadas, y el fármaco es tanto teratogénico como embriotóxico.

Se están siguiendo un número de planteamientos adicionales para combatir el virus. Éstos incluyen, por ejemplo, la aplicación de los oligonucleótidos anti-sentido o ribozimas para inhibir la réplica del virus de hepatitis C (HCV). Adicionalmente, los compuestos de bajo peso molecular que inhiben directamente las proteínas del virus de hepatitis C (HCV) e interfieren con la réplica viral, se consideran como estrategias atractivas para controlar la infección por el virus de hepatitis C (HCV). Entre los objetivos virales, se considera que la proteasa/helicasa de NS3/4A, la polimerasa de ARN dependiente del ARN de NS5B, y la proteína no estructural NS5A, son los objetivos virales del virus de hepatitis C (HCV) más prometedores para los nuevos fármacos. En realidad, los compuestos que se dice que son útiles para el tratamiento de las infecciones por el virus de hepatitis C (HCV) se dan a conocer, por ejemplo, en la Publicación Internacional Número WO2005/051318 (Chunduru y colaboradores), y en la Publicación Internacional Número WO2009/ 023179 (Schmitz y colaboradores). Estas referencias dan a conocer métodos para la preparación de los compuestos, composiciones que comprenden los compuestos, composiciones que comprenden los compuestos y compuestos adicionales, y los métodos para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV).

Recientemente se aprobaron dos fármacos terapéuticos contra el virus de hepatitis C (HCV) en los Estados Unidos, cada uno utilizado como terapias de combinación de 3 vías en conjunto con interferón pegilado y ribavirina. Éstos son el inhibidor de proteasa NS3/4A de Vertex y de Johnson and Johnson, Incivek® (telaprevir), y el inhibidor de proteasa NS3/4A de Merck, Victrelis® (boceprevir). El régimen de tratamiento de 2 vías más antiguo de interferón pegilado y rivabirina para el virus de hepatitis C (HCV) solamente curaba a aproximadamente el 40 por ciento de los pacientes infectados por el genotipo 1. La adición de Victrelis® a ese régimen reduce la duración del tratamiento para

algunos, y mejora los índices de curación hasta más del 60 por ciento. De la misma manera, la adición de Incivek® a ese régimen reduce el tratamiento y refuerza los índices de curación hasta tanto como el 80 por ciento. Desafortunadamente, ni el Victrelis® ni el Incivek® se pueden utilizar solos sin
5 incluir también el régimen con interferón pegilado y ribavirina, la cual provoca sus perfiles de efectos secundarios desfavorables concomitantes. Estos inhibidores de proteasa también están asociados con efectos secundarios adicionales, tales como rash y aumento de neutropenia. Estos fármacos de un solo agente activo también aumentan el riesgo de seleccionar mutaciones
10 particulares del virus de hepatitis C (HCV) dentro del cuerpo del paciente, las cuales son resistentes a estos inhibidores de proteasa.

Incluso con estas mejoras recientes, una fracción sustancial de pacientes no responden con una reducción sostenida en la carga viral y hay claramente una necesidad de una terapia antiviral más efectiva de la infección por el virus de hepatitis C (HCV). Por consiguiente, lo que se necesita es una estrategia de terapia de combinación para combatir el virus de hepatitis C (HCV) sin tener que incluir los problemáticos productos terapéuticos de interferón pegilado y ribavirina. Múltiples terapias de combinación que incluyen antivirales de acción
15 directa (DAA) dirigidos hacia más de un tipo particular de proteína del virus de hepatitis C (HCV) podrían reducir la incidencia de efectos secundarios. Justo con la misma importancia, los antivirales de acción directa (DAAs) podrían reducir la capacidad del virus para mutar dentro del cuerpo del paciente, lo cual puede conducir a un resurgimiento de la titulación viral del virus de hepatitis C
20 (HCV).

En vista del nivel epidémico mundial del virus de hepatitis C (HCV), de las limitadas opciones de tratamiento disponibles, y de la necesidad de expandir el acceso a todos los regímenes de antivirales de acción directa (DAAs) orales, existe una necesidad siempre creciente de nuevos fármacos efectivos para el
25

tratamiento de las infecciones crónicas por el virus de hepatitis C (HCV).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, se proporciona un método para el tratamiento de Hepatitis C en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar un compuesto de la fórmula (II), (II), o (III) descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C. De acuerdo con otra modalidad de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento de Hepatitis C, la cual comprende un compuesto de las fórmulas (I), (II), o (III) descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 es una gráfica de líneas que muestra la toxicidad del Ejemplo 11 con un inhibidor de polimerasa del virus de hepatitis C (HCV) del sitio II.

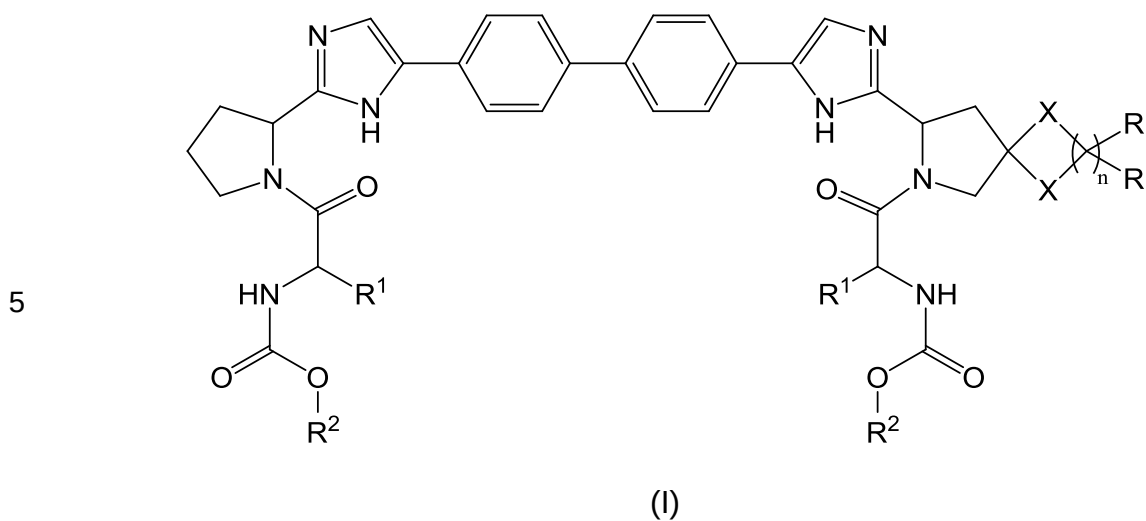
Las Figuras 2A y 2B son gráficas de líneas que muestran la toxicidad del Ejemplo 11 con un inhibidor de polimerasa del virus de hepatitis C (HCV) del sitio II.

Las Figuras 3A y 3B son gráficas de líneas que muestran la toxicidad del Ejemplo 11 con un inhibidor de ciclofilina del virus de hepatitis C (HCV).

Las Figuras 4A y 4B son gráficas de líneas que muestran la toxicidad del Ejemplo 11 con un inhibidor de ciclofilina del virus de hepatitis C (HCV).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención proporciona un método para prevenir o tratar Hepatitis C en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar al ser humano, un compuesto de la fórmula (I):



10

en donde:

n es 2 o 3;

cada R^1 es independientemente H o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

cada R^2 es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

cada X es independientemente CRR, O, o S; y

cada R es independientemente metilo, hidrógeno, o deuterio;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

15

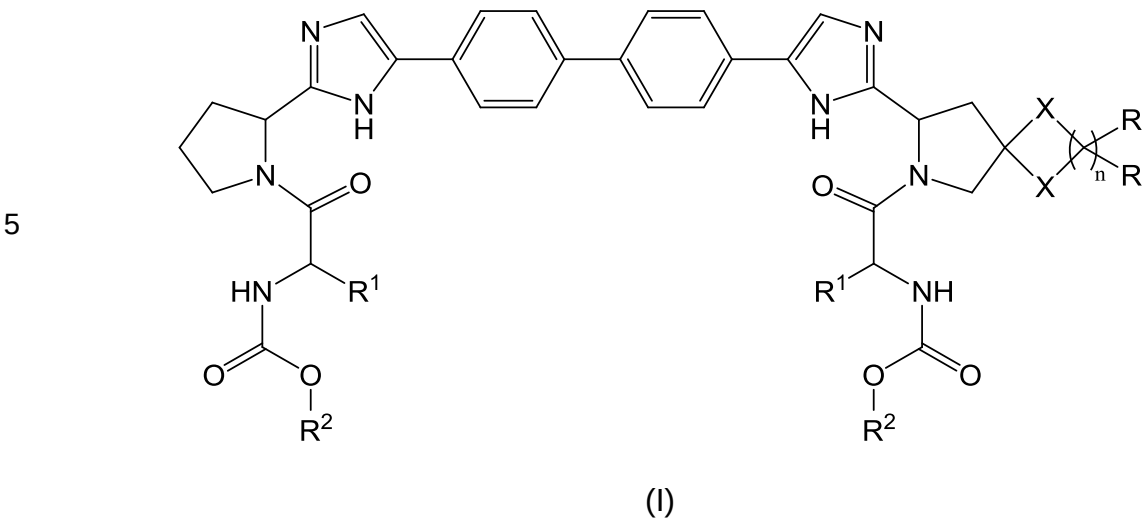
20

25

en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido.

La presente invención también proporciona una composición, la cual

comprende un compuesto de la fórmula (I):



10 en donde:

n es 2 o 3;

cada R¹ es independientemente H o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

cada R² es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

cada X es independientemente CRR, O, o S; y

cada R es independientemente metilo, hidrógeno, o deuterio;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para

Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de

proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A

15 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de

hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de

hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C

(HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del

20 sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor

de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α-

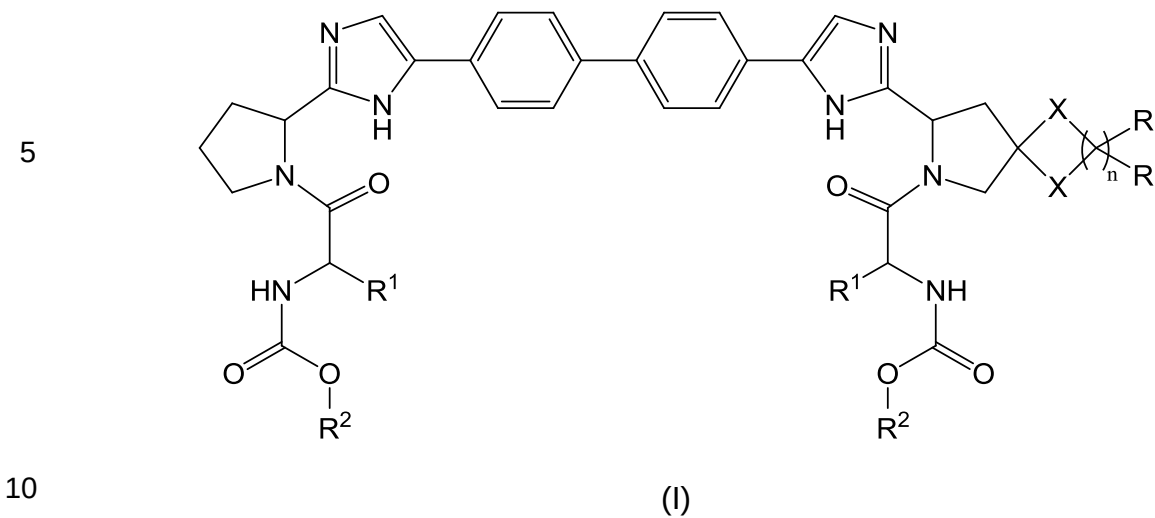
glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmuno-

modulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de

nucleósido.

25 La presente invención también proporciona una composición

farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la fórmula (I):



en donde:

n es 2 o 3;

cada R¹ es independientemente H o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

cada R² es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

cada X es independientemente CRR, O, o S; y

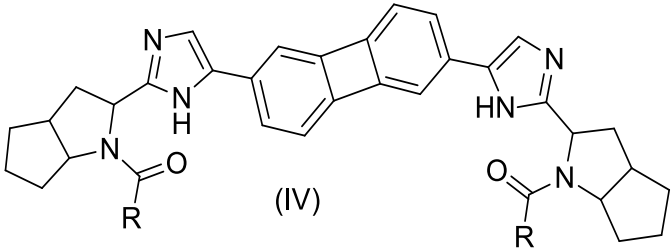
cada R es independientemente metilo, hidrógeno, o deuterio;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

15 en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para
Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de
proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A
del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de
hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de
20 hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C
(HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del
sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor
de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α-
glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmuno-
25 modulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de

nucleósido,
y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona una composición, la cual
comprende un compuesto de la fórmula (IV):



en donde cada R es independientemente -CH(R¹)-NH-C(O)-OR²;
en donde cada R¹ es independientemente -CH(OH)-CH₃ o -CH(OCH₃)-CH₃; y
cada R² es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para
Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de
proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A
del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de
hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de
hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C
(HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del
sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor
de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α-
glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmuno-
modulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de
nucleósido.

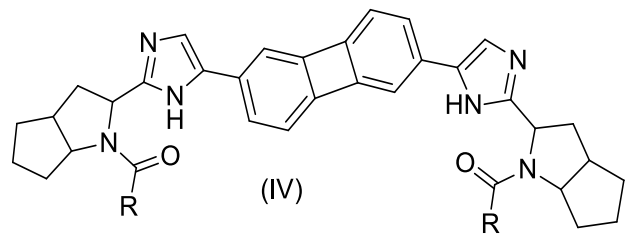
15

20

La presente invención también proporciona un método para prevenir o
tratar Hepatitis C en un ser humano que lo necesite, el cual comprende

25

administrar al ser humano, un compuesto de la fórmula (IV):



en donde cada R es independientemente -CH(R¹)-NH-C(O)-OR²;

en donde cada R¹ es independientemente -CH(OH)-CH₃ o -

CH(OCH₃)-CH₃; y

cada R² es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para

Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de

proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A

del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de

hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de

hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C

(HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del

sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor

de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α-

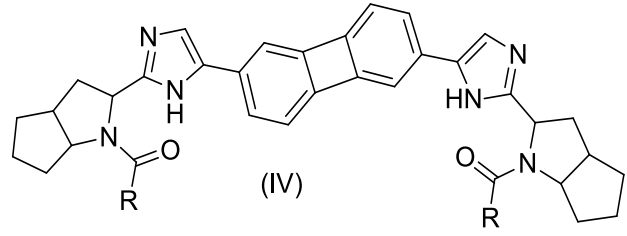
glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmuno-

modulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de

nucleósido.

La presente invención también proporciona una composición, la cual

comprende un compuesto de la fórmula (IV):



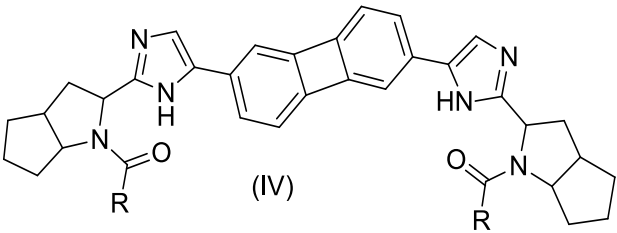
en donde cada R es independientemente -CH(R¹)-NH-C(O)-OR²;

en donde cada R¹ es independientemente –CH(OH)-CH₃ o –
CH(OCH₃)-CH₃; y

cada R² es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

5 en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para
Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de
proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A
del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de
hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de
10 hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C
(HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del
sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor
de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α-
glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmuno-
modulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de
nucleósido.

La presente invención también proporciona un método para prevenir o
tratar Hepatitis C en un ser humano que lo necesite, el cual comprende
15 administrar al ser humano, un compuesto de la fórmula (IV):



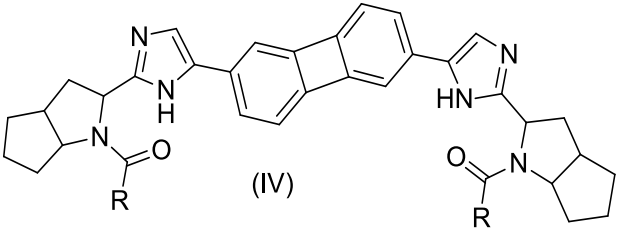
20 en donde cada R es independientemente -CH(R¹)-NH-C(O)-OR²;
en donde cada R¹ es independientemente –CH(OH)-CH₃ o –
CH(OCH₃)-CH₃; y

cada R² es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

25 en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para

Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la fórmula (IV):



en donde cada R es independientemente $-\text{CH}(\text{R}^1)-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^2$;
en donde cada R^1 es independientemente $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_3$ o $-\text{CH}(\text{OCH}_3)-\text{CH}_3$; y
cada R^2 es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para
Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del

sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido,

y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

A través de toda esta solicitud, se hacen referencias a las diferentes modalidades en relación con los compuestos, las composiciones, y los métodos. Las diferentes modalidades descritas pretenden proporcionar una variedad de ejemplos ilustrativos y no deben interpretarse como descripciones de especies alternativas. En lugar de eso, se debe observar que la descripciones de las diferentes modalidades proporcionadas en la presente pueden ser de un alcance traslapado. Las modalidades discutidas en la presente son meramente ilustrativas, y no pretenden limitar el alcance de la presente invención.

Se debe entender que la terminología utilizada en la presente es para el propósito de describir las modalidades particulares solamente y no pretende limitar el alcance de la presente invención. En esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones que siguen, se hará referencia a un número de términos que se definirán para tener los siguientes significados.

El término "alquilo" se refiere a una cadena de hidrocarburo recta o ramificada que contiene el número especificado de átomos de carbono. Por ejemplo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono significa un alquilo de cadena recta o ramificada que contiene cuando menos 1, y cuando mucho 4, átomos de carbono. Los ejemplos de "alquilo", como se utiliza en la presente, incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo normal, isopropilo, butilo normal, isobutilo, butilo secundario, y butilo terciario.

El término "cicloalquilo" se refiere a un grupo cíclico saturado que

contiene de 3 a 6 átomos de carbono del anillo (a menos que se especifique de otra manera). Los ejemplos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

5 La presente invención proporciona un método para el tratamiento de Hepatitis C en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar al ser humano, un compuesto de la fórmula (I) o de la fórmula IV, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más de los siguientes agentes terapéuticos: un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno (IRES) del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos (MTP), un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmuno-modulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido, los cuales se administran en cantidades efectivas como se conoce en la materia.

15 Los ejemplos de los inhibidores de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV) adecuados incluyen boceprevir (tal como Victrelis^{MR}), telaprevir (tal como Incivek^{MR}), simeprevir (también conocido como TMC-435350), danoprevir (también conocido como RG7227 o ITMN-191), BI-201335, narlaprevir (también conocido como SCH 900518), vaniprevir (también conocido como MK-7009), asunaprevir (también conocido como BMS-650032), GS 9256, GS 9451, ACH-0141625, VX-985, ABT-450, PHX1766, IDX320, MK-5172, GNS-227, AVL-192, ACH-2684, y ACH-1095.

25 Los ejemplos de los inhibidores del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV) adecuados incluyen clemizol.

Los ejemplos de los inhibidores de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV) adecuados incluyen hemisuccinato de silibinina-sodio, tegobuvir (también conocido como GS-9190), filibuvir (también conocido como PF-00868554), VX-222, VX-759, ANA598, BMS-791325, ABT-333, ABT-072, BI
 5 207127, IDX375, mericitabina (también conocida como RG7128), RG7348 (también conocido como MB-11362), RG7432, PSI-7977, PSI-7851, PSI-352938, PSI-661, TMC 649128, IDX184, INX-08189, JTK-853, VCH-916, BILB 1941, GS-6620, y GS-9669.

10 Los ejemplos de los inhibidores de entrada del virus de hepatitis C (HCV) adecuados incluyen PRO-206, ITX-5061, ITX4520, REP 9C, SP-30, y JTK-652.

Los ejemplos de los inhibidores de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos (MTP) adecuados incluyen BMS-201038 y CP-346086.

Los ejemplos de los inhibidores de α -glucosidasa adecuados incluyen celgosovir (también conocido como MX-3253 o MBI-3253), y castanospermina.

Los ejemplos de los inhibidores de caspasa adecuados incluyen IDN-6556.

Los ejemplos de los inhibidores de ciclofilina adecuados incluyen alisporivir (también conocido como DEBIO-025), NIM811 (también conocida
 15 como *N*-metil-4-isoleucina ciclosporina), y SCY-635 (también conocida como [(*R*)-2-(*N,N*-dimetil-amino)-tioetil-Sar]³-[4'-hidroxi-MeLeu]⁴-ciclosporina A).

Los ejemplos de los inmunomoduladores adecuados incluyen Alloferon, IMN-6001, NOV-205, ME-3738, interleucina-7 (tal como CYT 107), ANA-773, IMO-2125, y GS 9620.

20 Los ejemplos de los inhibidores de la senda metabólica adecuados incluyen ritonavir (tal como Norvir[®]).

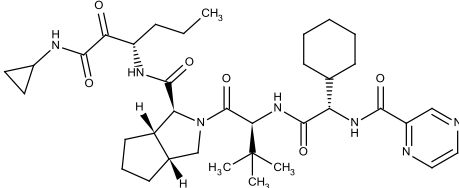
Los ejemplos de los interferones adecuados incluyen interferón alfa-2a (tal como Roferon-A[®], Veldona[®], o LBSI5535), peginterferón alfa-2a (tal como Pegasys[®]), interferón alfa-2b (tal como Intron A[®] o Locteron[®]), peginterferón
 25

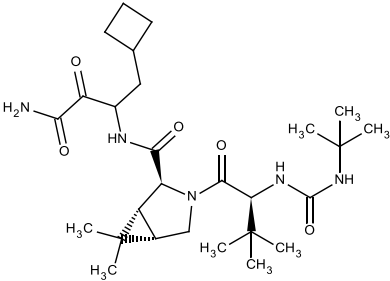
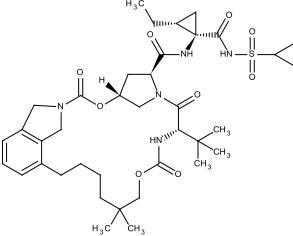
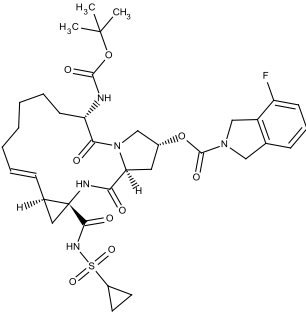
alfa-2b (tal como PEG Intron[®] o P1101), análogos de interferón alfa-2b (tales como Hanferon^{MR}), interferón alfa-2b XL, interferón alfacon-1 (tal como Infergen[®]), interferón alfa-n1 (tal como Wellferon[®]), interferón omega (tal como Biomed 510), interferón-HDV, peginterferón beta (tal como TRK-560),
5 peginterferón lambda (tal como BMS-914143), e interferón-alfa5.

Los ejemplos de los análogos de nucleósidos adecuados incluyen ribavirina (tal como Copegus[®], Ravanex[®], Rebetol[®], RibaPak^{MR}, Ribasphere[®], Vilona[®], y Virazol[®]), taribavirina (también conocida como viramidina), e
10 isatoribina (también conocida como ANA245), y sus pro-fármacos ANA971 y ANA975.

La siguiente Tabla 1 enlista agentes terapéuticos contra Hepatitis C adecuados adicionales que se pueden utilizar en combinación con un compuesto de la fórmula I o IV en la presente invención.

Tabla 1

Nombre	Compañía	Clase	Fase	Estructura	Notas
Telaprevir	Vertex	PI	M		

Nombre		Compañía	Clase	Fase	Estructura	Notas
5	Boceprevir	Merck	PI	M		
10	Vaniprevir MK-7009	Merck	PI	III		
15	MK-5172	Merck	PI	II	n/a	
20	Danoprevir RG7227 ITMN-191	Roche	PI	II		

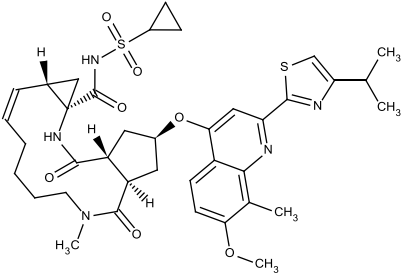
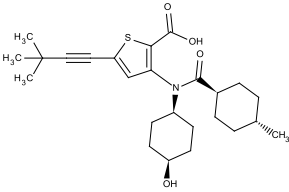
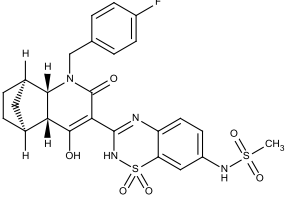
5

10

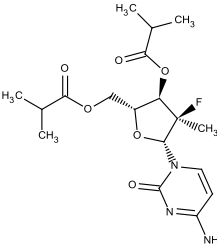
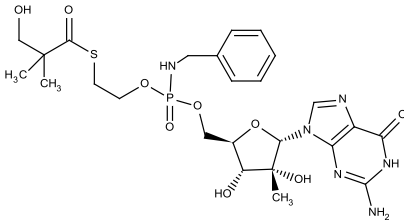
15

20

25

Nombre	Compañía	Clase	Fase	Estructura	Notas
Simeprevir TMC-435	JNJ Tibotec	PI	III		
IDX-077	Idenix	PI	PC	n/a	
IDX-791	Idenix	PI	PC	n/a	
ACH-1625	Achillion	PI	II	n/a	
ACH-2684	Achillion	PI	I	n/a	
ABT-450	Abbott	PI	II	n/a	rtv reforzado
VX-222	Vertex	NNI	II b		Sitio 2 Thumb 2
Setrobuvir RG-7790 ANA-598	Roche	NNI	II		Sitio 3 Palm 1
TMC-647055	J&J	NNI	I	n/a	Sitio 1 Indol

5

Nombre	Compañía	Clase	Fase	Estructura	Notas
IDX-375	Idenix	NNI	II	n/a	Sitio Palm
ALS-2200	Vertex	NI	I	n/a	
ALS-2158	Vertex	NI	I	n/a	
Mericitabina RG-7128	Roche	NI	II		
IDX-184	Idenix	NI	II		
MK-4882	Merck	NS5A	PC	n/a	
IDX-719	Idenix	NS5A	II	n/a	¿1 ^{er} gen?
IDX-19370	Idenix	NS5A	PC	n/a	
IDX-19368	Idenix	NS5A	PC	n/a	
ACH-2928	Achillion	NS5A	I	n/a	1 ^{er} gen
ACH-3102	Achillion	NS5A	PC	n/a	2 ^o gen

25

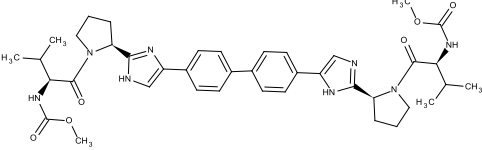
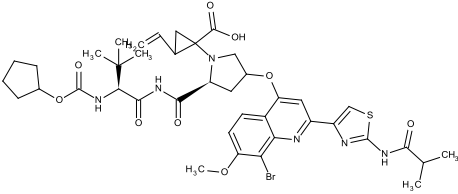
5

10

15

20

25

Nombre	Compañía	Clase	Fase	Estructura	Notas
PPI-461	Presidio	NS5A	Ib	n/a	1 ^{er} gen
PPI-668	Presidio	NS5A	Ib	n/a	
PPI-437	Presidio	NS5A	Ib	n/a	
EDP-239	Novartis	NS5A	PC	n/a	de Enanta
MK-4882	Merck	NS5A	PhI	n/a	
GS-5885	Gilead	NS5A	II	n/a	1 ^{er} gen
Daclatasvir BMS-790052	BMS	NS5A	III	 1 ^{er} gen	
BMS-824393	BMS	NS5A	I	n/a	
ABT-267	Abbott	NS5A	II	n/a	1 ^{er} gen
BI-201335	BI	PI	III		
BI-207127	BI	NNI	II b	n/a	Thumb

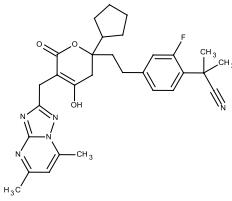
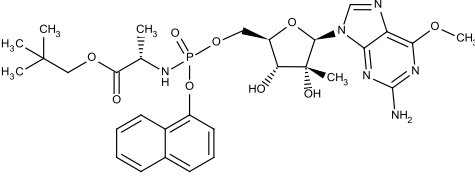
5

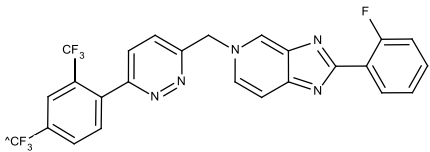
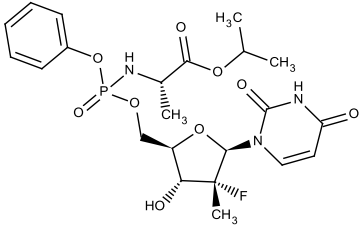
10

15

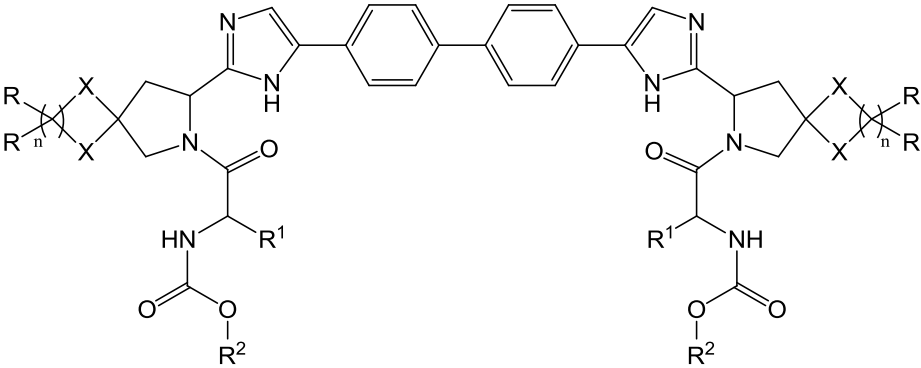
20

25

Nombre	Compañía	Clase	Fase	Estructura	Notas
					sitio 1
Filibuvir PF-868554	Pfizer	NNI	II		Sitio 2 Thumb 2
BMS-791325	BMS	NNI	II a	n/a	
INX-189	BMS	NI	II		
ABT-333	Abbott	NNI	II	n/a	Sitio 4 Palm 2
ABT-072	Abbott	NNI	II	n/a	
Debio-025	Novartis	Análogo Ciclofi- -lina	III	n/a	
SCY-635	Scynexis	Análogo Ciclofi- -lina	II	n/a	

Nombre	Compañía	Clase	Fase	Estructura	Notas
Tegobuvir GS-9190	Gilead	NNI	II		Sitio 4 Palm 2
GS-9669	Gilead	NNI	I	n/a	Thumb sitio 2
GS-7977	Gilead	NI	III		

La presente invención proporciona además un método para prevenir o tratar el virus de hepatitis C (HCV) en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar al ser humano, un compuesto de la fórmula (II):

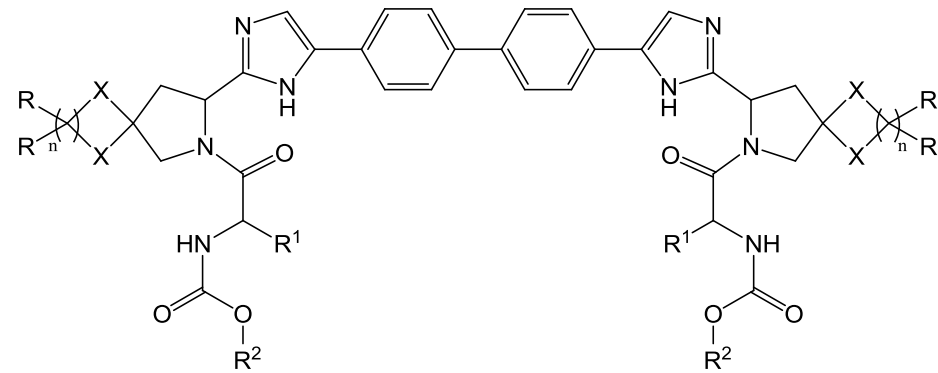


(II)

en donde:
n es 2 o 3;
cada R¹ es independientemente H o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;
cada R² es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;
cada X es independientemente CRR, O, o S; y
cada R es independientemente metilo, hidrógeno, o deuterio;
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para

Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la fórmula (II):



(II)

en donde:

n es 2 o 3;

cada R^1 es independientemente H o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

5

cada R^2 es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

cada X es independientemente CRR, O, o S; y

cada R es independientemente metilo, hidrógeno, o deuterio;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y

10

uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C

seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido;

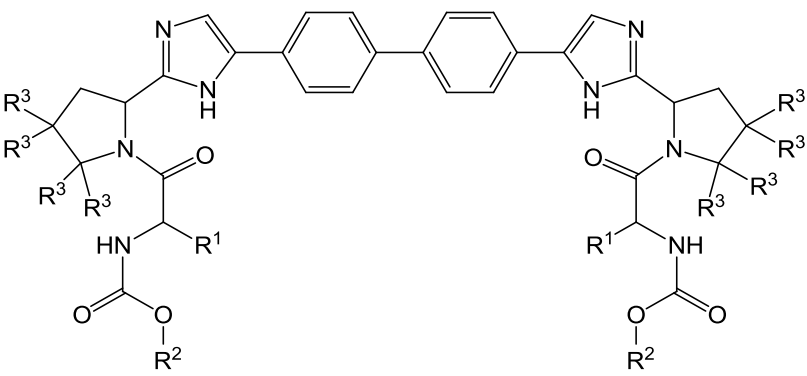
15

y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

20

La presente invención proporciona además un método para prevenir o tratar Hepatitis C en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar al ser humano, un compuesto de la fórmula (III):

5



(III)

en donde:

cada R¹ es independientemente H o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

10

cada R² es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

en cada átomo de carbono con el que hay grupos R³ unidos, cualquiera de ambos R³s son H, o los grupos R³ junto con el átomo de carbono con el que están enlazados, forman un anillo espiro saturado de 4, 5 o 6 miembros, con la condición de que no hay más de 1 anillo espiro sobre cada anillo que contiene nitrógeno saturado;

cada espiro saturado formado a partir de los grupos R³ es independientemente cicloalquilo, o puede contener 1 o 2 átomos de oxígeno, o 1 o 2 átomos de azufre, o 1 SO₂, o 1 NR⁴;

15

cada R⁴ es independientemente H, C(O)O-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, C(O)alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, C(O)N-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, o SO₂-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; y

cada anillo espiro puede estar opcionalmente sustituido con deuterio, flúor, o 1 o 2 grupos metilo;

20

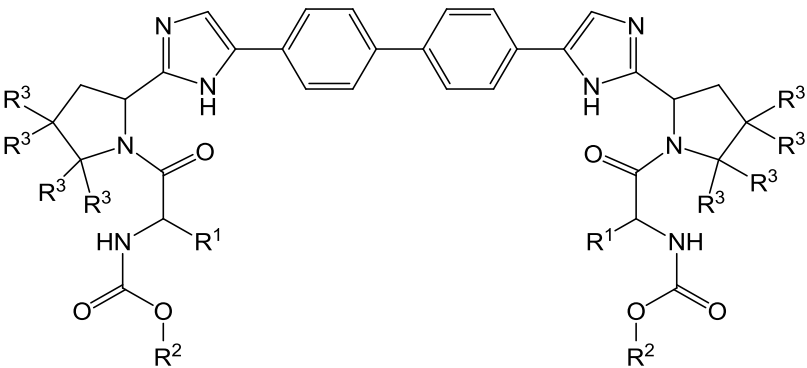
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de

25

hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la fórmula (III):



(III)

en donde:

cada R¹ es independientemente H o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

cada R² es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

en cada átomo de carbono con el que hay grupos R³ unidos, cualquiera de ambos R³s son H, o los grupos R³ junto con el átomo de carbono con el que están enlazados, forman un anillo espiro saturado de 4, 5 o 6 miembros, con la condición de que no hay más de 1 anillo espiro sobre cada anillo que contiene nitrógeno saturado;

cada espiro saturado formado a partir de los grupos R³ es independientemente cicloalquilo, o puede contener 1 o 2 átomos de oxígeno, o 1 o 2 átomos de azufre, o 1 SO₂, o 1 NR⁴;

cada R⁴ es independientemente H, C(O)O-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, C(O)alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, C(O)N-alquilo de 1 a 4

átomos de carbono, o SO₂-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; y

cada anillo espiro puede estar opcionalmente sustituido con deuterio, flúor, o 1 o 2 grupos metilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

5

en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para

Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A

del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de

10

hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de

hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C

(HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del

sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor

de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -

glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmuno-

modulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de

nucleósido;

y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Una modalidad de la presente invención proporciona un compuesto de la

15

fórmula (I) o (II), en donde cada X es idéntico.

Otra modalidad de la presente invención proporciona un compuesto de la

fórmula (I) o (II), en donde todos los Rs son H o bien todos los Rs son deuterio

(D). En otras palabras, una modalidad de la presente invención proporciona un

compuesto de la fórmula (I) o (II) en donde, cada grupo CRR en el espiro es

20

CH₂ o bien cada grupo CRR en el espiro es CD₂. El deuterio está naturalmente

presente en muy pequeñas cantidades en los compuestos de hidrógeno.

Mediante la designación de un sustituyente como deuterio o D, los solicitantes

pretenden decir que se ha incrementado la cantidad isotópica natural de

25

deuterio de tal manera que más de la mitad de ese sustituyente particular es D

comparándose con H.

Otra modalidad de la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o (II), en donde no más de 2 Rs son metilo.

5 En otra modalidad de la invención, en los compuestos de la fórmula (III), cuando los grupos R³ grupo forman un anillo espiro sobre cada anillo que contiene nitrógeno saturado, cada uno de estos grupos espiro está enlazado al mismo átomo de carbono relativo en cada anillo que contiene nitrógeno saturado.

10 La presente invención también proporciona un compuesto de las fórmulas (I), (II), o (III) seleccionado a partir del grupo que consiste en:

[(1S)-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S,7S,9S)-7,9-dimetil-2-((2S)-3-metil-2-
 {(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-6,10-dioxa-2-azaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1*H*-
 imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-2-metil-propil]-
 carbamato de metilo;

[(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-((2S)-3-metil-2-{(metiloxi)-
 carbonil]-amino}-butanoil)-1,4-dioxa-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1*H*-imidazol-4-il)-
 4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

15 (4,4'-bifenil-diilbis-{1*H*-imidazol-4,2-diil-[(3S,7S,9S)-7,9-dimetil-6,10-
 dioxa-2-azaespiro-[4.5]-decan-3,2-diil][(2S)-3-metil-1-oxo-1,2-butandiil]})-
 biscarbamato de dimetilo;

(4,4'-bifenil-diilbis-{1*H*-imidazol-4,2-diil-(8S)-1,4-dioxa-7-azaespiro-[4.4]-
 nonan-8,7-diil[(2S)-3-metil-1-oxo-1,2-butandiil]})-biscarbamato de dimetilo;

20 ((1S)-1-metil-2-((3S)-3-[4-(4'-{2-[(2S)-1-((2S)-3-metil-2-{(metiloxi)-
 carbonil]-amino}-butanoil)-2-pirrolidinil]-1*H*-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-
 2-il]-6,10-dioxa-2-azaespiro-[4.5]-dec-2-il]-2-oxo-etil)-carbamato de metilo;

25 [(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S)-2-((2S)-3-metil-2-{(metiloxi)-
 carbonil]-amino}-butanoil)-6,10-dioxa-2-azaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1*H*-imidazol-4-
 il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

[(1S)-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S)-8,8-dimetil-2-((2S)-3-metil-2-{[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-6,10-dioxa-2-azaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1*H*-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

5

[(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S)-2-((2S)-3-metil-2-{[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-6,10-dioxa-2-azaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1*H*-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato-*d*₆ de metilo;

10

[(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-((2S)-3-metil-2-{[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-1,4-dioxa-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1*H*-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato-*d*₄ de metilo;

[(1S)-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(2*R*,3*R*,8*S*)-2,3-dimetil-7-((2S)-3-metil-2-{[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-1,4-dioxa-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1*H*-imidazol-5-il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

15

[(1S)-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(2*S*,3*S*,8*S*)-2,3-dimetil-7-((2S)-3-metil-2-{[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-1,4-dioxa-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1*H*-imidazol-5-il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

20

[(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-((2S)-3-metil-2-{[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-1,4-ditia-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1*H*-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

[(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-((2S)-2-{[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-1,4-ditia-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1*H*-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

25

[(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-({[(metiloxi)-carbonil]-amino}acetil)-1,4-ditia-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1*H*-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1*H*-

imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

[(1S)-2-metil-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[2-((2S)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino}-butanoil)-8-oxa-2-azaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

5

[(1S)-2-metil-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[2-((2S)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino}-butanoil)-8,8-dióxido-8-tia-2-azaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

10

[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[8,8-difluoro-2-((2S)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino}-butanoil)-2-azaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

(4,4'-bifenil-diilbis-{1*H*-imidazol-4,2-diil-(3*S*)-8-oxa-2-azaespiro-[4.5]-decan-3,2-diil[(2S)-3-metil-1-oxo-1,2-butandiil]})-biscarbamato de dimetilo;

2-{*N*-[[metiloxi]-carbonil]-L-valil}-3-(4-{4'-[2-((2S)-1-{*N*-[[metiloxi]-carbonil]-L-valil}-2-pirrolidinil)-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil}-1*H*-imidazol-2-il)-2,8-diazaespiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de 1,1-dimetil-etilo;

[(1S)-2-metil-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[2-((2S)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino}-butanoil)-2,8-diazaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

15

[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[8-acetil-2-((2S)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino}-butanoil)-2,8-diazaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

20

2-{*N*-[[metiloxi]-carbonil]-L-valil}-3-(4-{4'-[2-((2S)-1-{*N*-[[metiloxi]-carbonil]-L-valil}-2-pirrolidinil)-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil}-1*H*-imidazol-2-il)-2,8-diazaespiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de metilo;

6-{*N*-[[metiloxi]-carbonil]-L-valil}-7-(4-{4'-[2-((2S)-1-{*N*-[[metiloxi]-carbonil]-L-valil}-2-pirrolidinil)-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil}-1*H*-imidazol-2-il)-2,6-diazaespiro-[3.4]-octan-2-carboxilato de 1,1-dimetil-etilo;

25

[(1S)-2-metil-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[6-((2S)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-

amino}-butanoil)-2,6-diazaespiro-[3.4]-oct-7-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

5 [(1*S*)-1-({(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[2-acetil-6-((2*S*)-3-metil-2-{{(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-2,6-diazaespiro-[3.4]-oct-7-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

6-{*N*-[(metiloxi)-carbonil]-L-valil}-7-(4-{4'-[2-((2*S*)-1-{*N*-[(metiloxi)-carbonil]-L-valil}-2-pirrolidinil)-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il)-2,6-diazaespiro-[3.4]-octan-2-carboxilato de metilo;

10 [(1*S*)-2-metil-1-({(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[2-[(metil-amino)-carbonil]-6-((2*S*)-3-metil-2-{{(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-2,6-diazaespiro-[3.4]-oct-7-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

[(1*S*)-2-metil-1-({(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[6-((2*S*)-3-metil-2-{{(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-2-(metil-sulfonil)-2,6-diazaespiro-[3.4]-oct-7-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

[(1*S*)-1-({(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[(7*S*)-2,2-difluoro-6-((2*S*)-3-metil-2-{{(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-6-azaespiro-[3.4]-oct-7-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato;

15 [(1*S*)-2-metil-1-({(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[1-((2*S*)-3-metil-2-{{(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-8-oxa-1-azaespiro-[4.5]-dec-2-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

20 ((1*S*)-1-{{(2*S*)-2-(4-{4'-[2-(1-acetil-8-oxa-1-azaespiro-[4.5]-dec-2-il)-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il)-1-pirrolidinil}-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

[(1*S*)-1-({(2*S*)-2-[4-(4'-{2-[8,8-difluoro-1-((2*S*)-3-metil-2-{{(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-1-azaespiro-[4.5]-dec-2-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

25 [(1*S*)-1-({8,8-difluoro-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-((2*S*)-3-metil-2-{{(metiloxi)-

carbonil]-amino}-butanoil)-2-pirrolidinil]-1*H*-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-azaespiro-[4.5]-dec-1-il}-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

((1*S*)-2-{8,8-difluoro-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-((2*S*)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino}-butanoil)-2-pirrolidinil]-1*H*-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-azaespiro-[4.5]-dec-1-il}-1-metil-2-oxo-etil)-carbamato de metilo;

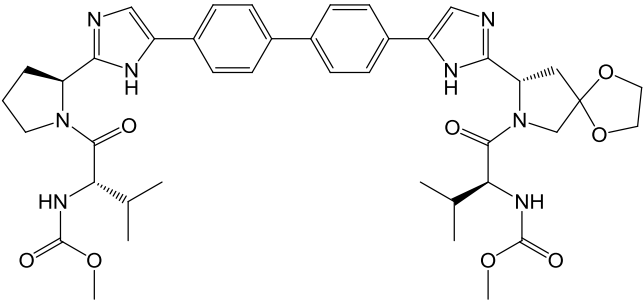
[(1*S*)-1-({8,8-difluoro-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-((2*S*)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino}-butanoil)-2-pirrolidinil]-1*H*-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-azaespiro-[4.5]-dec-1-il}-carbonil)-3-metil-butil]-carbamato de metilo;

((1*S*)-1-[[2-[(2*S*)-2-(4-{4'-[2-(1-acetil-8,8-difluoro-1-azaespiro-[4.5]-dec-2-il)-1*H*-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil]-carbonil]-2-metil-propil)-carbamato de metilo; y

[(1*S*)-2-metil-1-((2*S*)-2-[4-(4'-{2-[1-((2*S*)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino}-butanoil)-8,8-dióxido-8-tia-1-azaespiro-[4.5]-dec-2-il]-1*H*-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

La presente invención proporciona además un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV), en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar un compuesto que tiene la estructura:

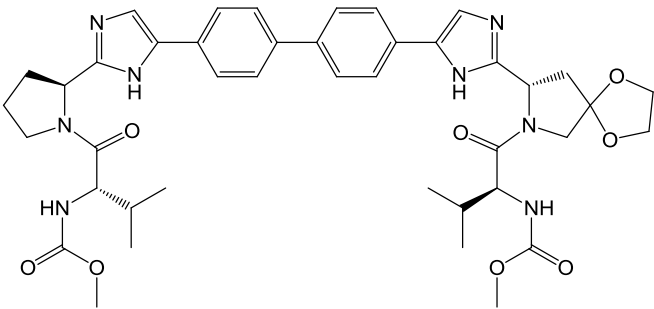


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en combinación con a uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de

hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto que tiene la estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

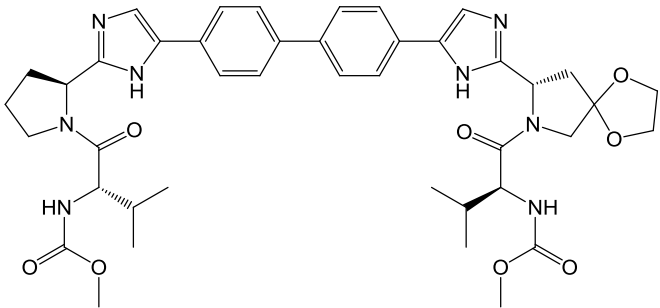
en combinación con a uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido;

y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La presente invención proporciona además un método para el

tratamiento del virus de hepatitis C (HCV), en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar un compuesto que tiene la estructura:

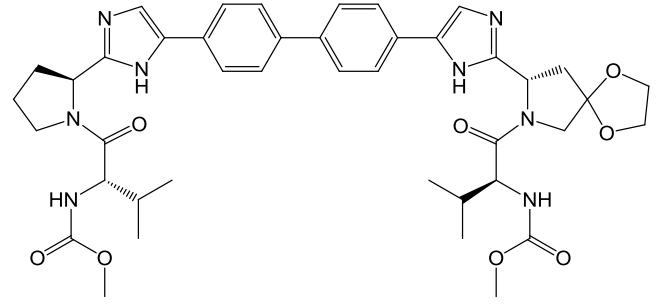
5



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más compuestos enlistados en la Tabla 1.

10

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto que tiene la estructura:

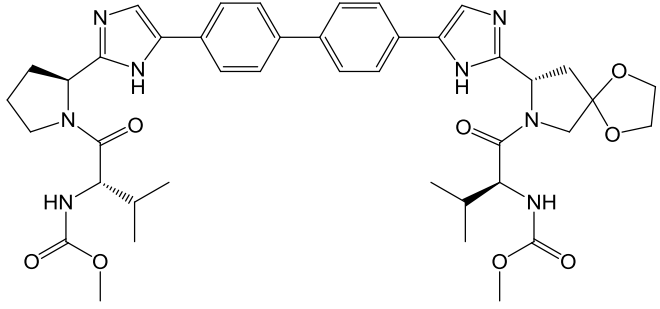


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más compuestos enlistados en la Tabla 1;
y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

15

La presente invención proporciona además un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV), en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar un compuesto que tiene la estructura:

20



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más compuestos seleccionados a partir del

25

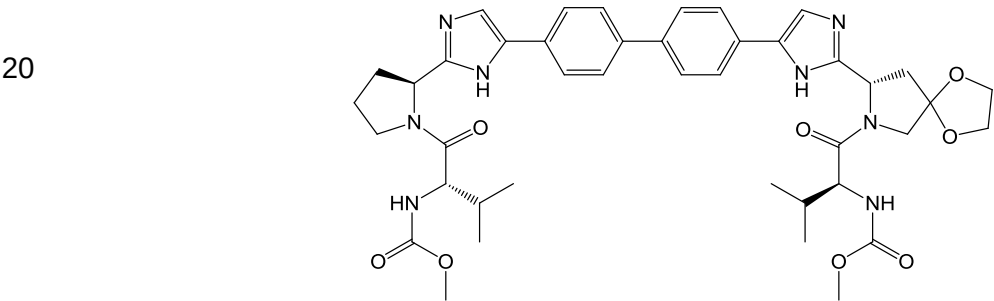
grupo de:

5	Telaprevir	Vertex
	Boceprevir	Merck
	Vaniprevir (MK-7009)	Merck
	MK-5172	Merck
	Danoprevir (RG7227) (ITMN-191)	Roche
10	Simeprevir (TMC-435)	JNJ Tibotec
	IDX-077	Idenix
	IDX-791	Idenix
	ACH-1625	Achillion
	ACH-2684	Achillion
	ABT-450	Abbott
	VX-222	Vertex
	Setrobuvir (RG-7790) (ANA-598)	Roche
	TMC-647055	J&J
	IDX-375	Idenix
15	ALS-2200	Vertex
	ALS-2158	Vertex
	Mericitabina (RG-7128)	Roche
	IDX-184	Idenix
	MK-4882	Merck
20	IDX-719	Idenix
	IDX-19370	Idenix
	IDX-19368	Idenix
	ACH-2928	Achillion
	ACH-3102	Achillion
25	PPI-461	Presidio
	PPI-668	Presidio

5	Telaprevir	Vertex
	Boceprevir	Merck
	Vaniprevir (MK-7009)	Merck
	MK-5172	Merck
	Danoprevir (RG7227) (ITMN-191)	Roche
10	Simeprevir (TMC-435)	JNJ Tibotec
	IDX-077	Idenix
	IDX-791	Idenix
	ACH-1625	Achillion
	ACH-2684	Achillion
	ABT-450	Abbott
	VX-222	Vertex
	Setrobuvir (RG-7790) (ANA-598)	Roche
	TMC-647055	J&J
	IDX-375	Idenix
15	ALS-2200	Vertex
	ALS-2158	Vertex
	Mericitabina (RG-7128)	Roche
	IDX-184	Idenix
	MK-4882	Merck
	IDX-719	Idenix
	IDX-19370	Idenix
	IDX-19368	Idenix
	ACH-2928	Achillion
	ACH-3102	Achillion
20	PPI-461	Presidio
	PPI-668	Presidio
	PPI-437	Presidio
25		

	EDP-239	Novartis
	MK-4882	Merck
	GS-5885	Gilead
	Daclatasvir (BMS-790052)	BMS
5	BMS-824393	BMS
	ABT-267	Abbott
	BI-201335	BI
	BI-207127	BI
10	Filibuvir (PF-868554)	Pfizer
	BMS-791325	BMS
	INX-189	BMS
	ABT-333	Abbott
	ABT-072	Abbott
	Debio-025	Novartis
	SCY-635	Scynexes:
	Tegobuvir (GS-9190)	Gilead
	GS-9669, y	Gilead
	GS-7977	Gilead;
15	y un excipiente farmacéuticamente aceptable.	

La presente invención proporciona además un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV), en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar un compuesto que tiene la estructura:

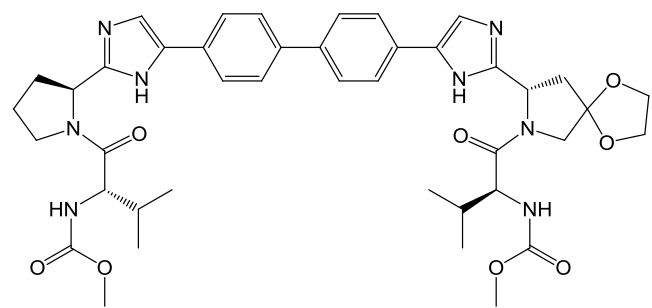


25 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más compuestos seleccionados a partir del

grupo de:

	Danoprevir (RG7227) (ITMN-191)	Roche
	Simeprevir (TMC-435)	JNJ Tibotec
	Setrobuvir (RG-7790) (ANA-598)	Roche
5	TMC-647055	J&J
	Mericitabina (RG-7128)	Roche
	GS-5885	Gilead
	Tegobuvir (GS-9190)	Gilead
10	GS-9669, y	Gilead
	GS-7977	Gilead.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto que tiene la estructura:

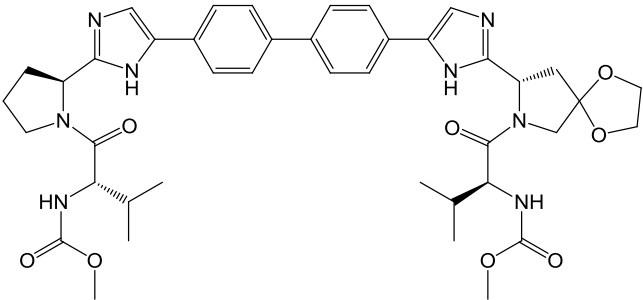


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más compuestos seleccionados a partir del grupo de:

	Danoprevir (RG7227) (ITMN-191)	Roche
	Simeprevir (TMC-435)	JNJ Tibotec
	Setrobuvir (RG-7790) (ANA-598)	Roche
20	TMC-647055	J&J
	Mericitabina (RG-7128)	Roche
	GS-5885	Gilead
	Tegobuvir (GS-9190)	Gilead
	GS-9669, y	Gilead
25	GS-7977	Gilead;

y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

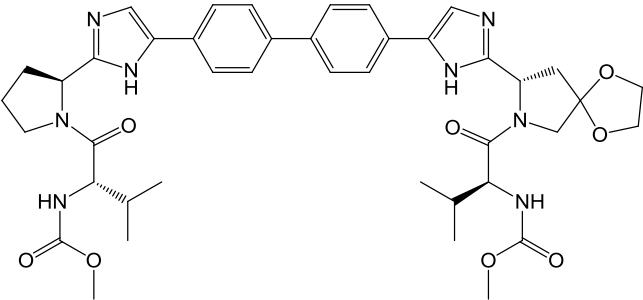
La presente invención proporciona además un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV), en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar un compuesto que tiene la estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más compuestos seleccionados a partir del grupo de:

Danoprevir (RG7227) (ITMN-191)	Roche
Simeprevir (TMC-435)	JNJ Tibotec
Setrobuvir (RG-7790) (ANA-598)	Roche
TMC-647055, y	J&J
Mericitabina (RG-7128)	Roche.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto que tiene la estructura:

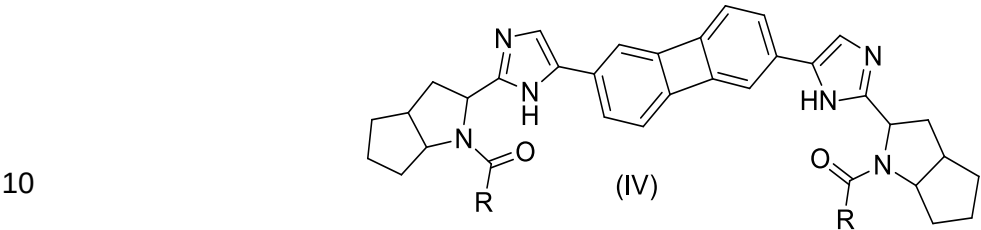


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más compuestos seleccionados a partir del grupo de:

Danoprevir (RG7227) (ITMN-191)	Roche
Simeprevir (TMC-435)	JNJ Tibotec

Setrobuvir (RG-7790) (ANA-598) Roche
TMC-647055, y J&J
Mericitabina (RG-7128) Roche;
y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

5 La presente invención también proporciona una composición, la cual
comprende un compuesto de la fórmula (IV):



en donde cada R es independientemente -CH(R¹)-NH-C(O)-OR²;
en donde cada R¹ es independientemente -CH(OH)-CH₃ o -
CH(OCH₃)-CH₃; y

cada R² es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para
Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de
proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A
del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de
15 hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de
hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C
(HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del
sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor
20 de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α-
glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmuno-
modulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de
nucleósido.

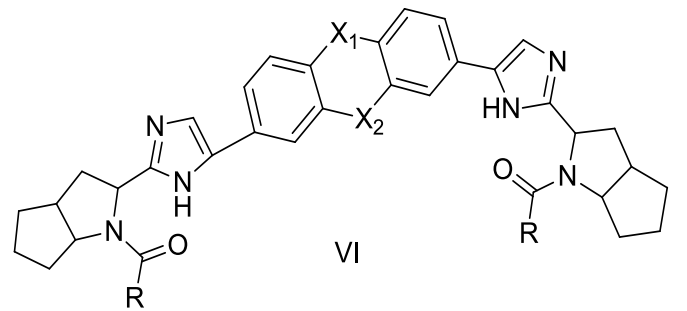
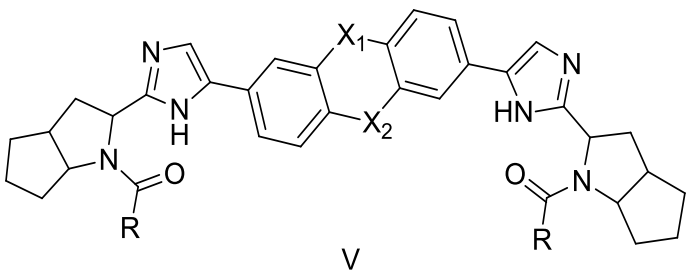
25 En ciertas modalidades, cada grupo R de la fórmula (IV) anterior está
enantioméricamente enriquecido con el enantiómero en donde el átomo de

carbono quiral con el que R¹ está enlazado tiene una configuración absoluta de S.

En otras modalidades, cada grupo R¹ de la fórmula (IV) está enantioméricamente enriquecido con el enantiómero en donde el átomo de carbono quiral en cada grupo R¹ tiene una configuración absoluta de R.

En otras modalidades, cada R² de la fórmula (IV) es metilo.

En todavía otras modalidades, la presente invención también proporciona una composición, la cual comprende un compuesto de la fórmula (V o VI):



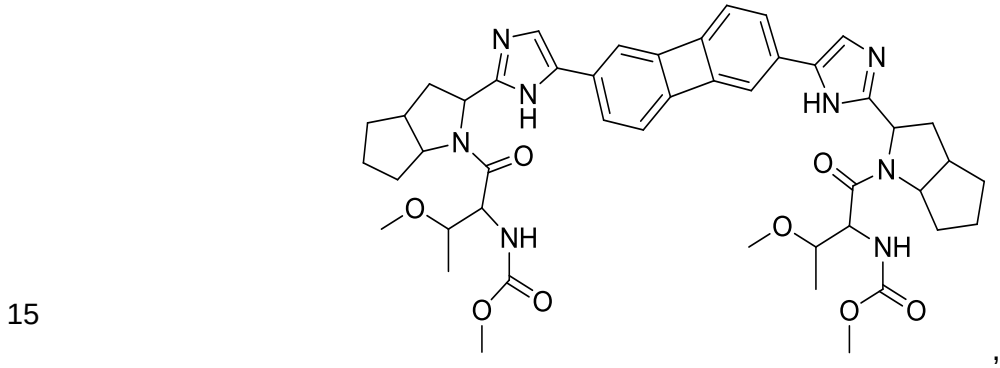
en donde X¹ y X² son independientemente O, SO₂, NCH₃, CF₂, CH₂, CH₂CH₂, o un enlace (es decir, está ausente); y cada R es independientemente -CH(R¹)-NH-C(O)-OR²;

en donde cada R¹ es independientemente -CH(OH)-CH₃ o -CH(OCH₃)-CH₃; y

cada R² es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

5 en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para
Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de
proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A
del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de
hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de
hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C
(HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del
sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor
de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -
glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmuno-
modulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de
nucleósido.

En algunas modalidades, el compuesto de cualquiera de las fórmulas IV,
V, o VI es un compuesto que tiene la estructura:



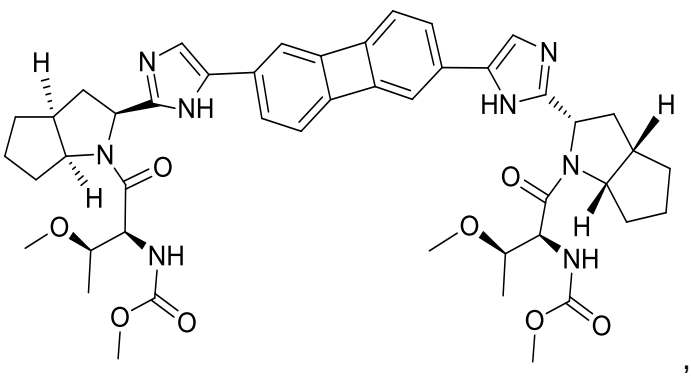
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otras modalidades, el compuesto de cualquiera de las fórmulas IV, V,
o VI es un compuesto que tiene la estructura:

20

25

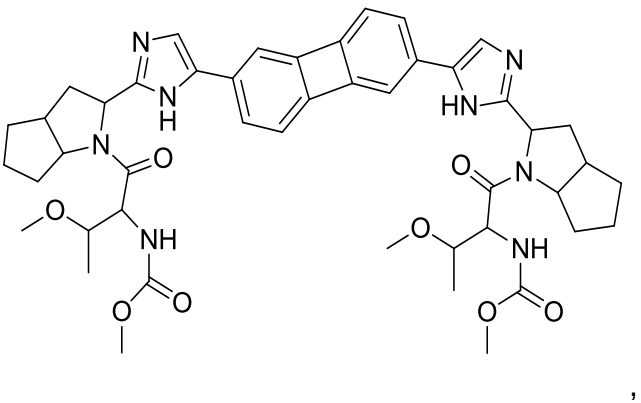
5



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En todavía otras modalidades, la presente invención también proporciona una composición, la cual comprende un compuesto que tiene la estructura:

10



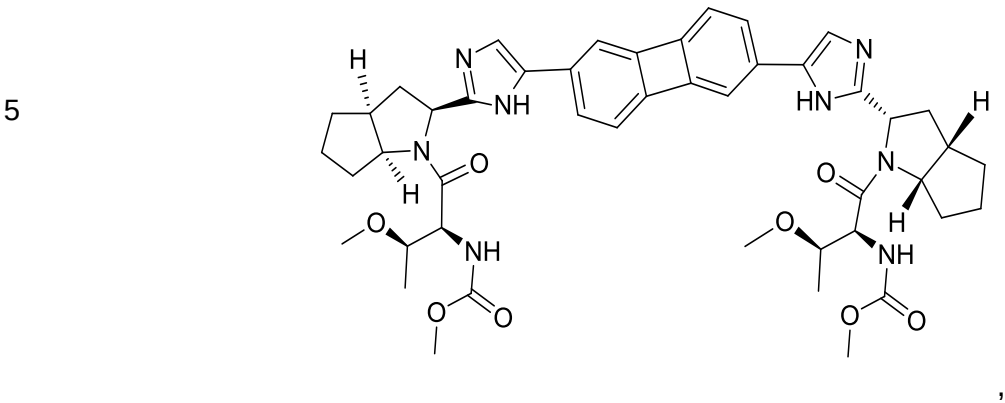
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

15

en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido.

25

En todavía otras modalidades, la presente invención también proporciona una composición, la cual comprende un compuesto que tiene la estructura:



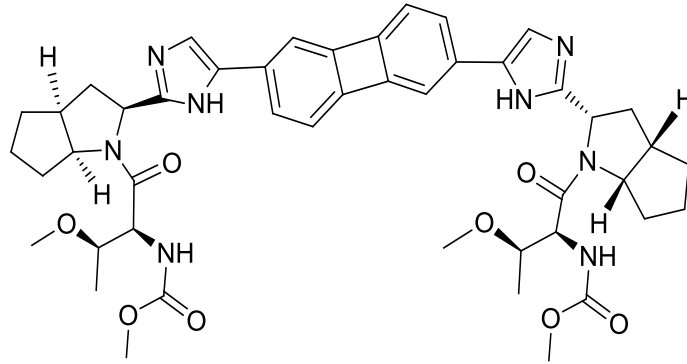
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido.

15

La presente invención proporciona además un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV), en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar un compuesto que tiene la estructura:

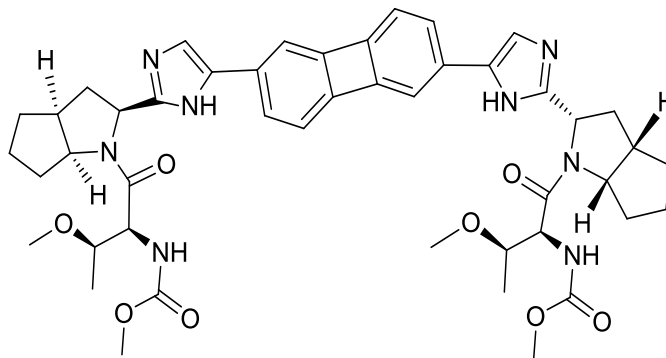
20



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en combinación con uno o más compuestos enlistados en la Tabla 1.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto que tiene la estructura:

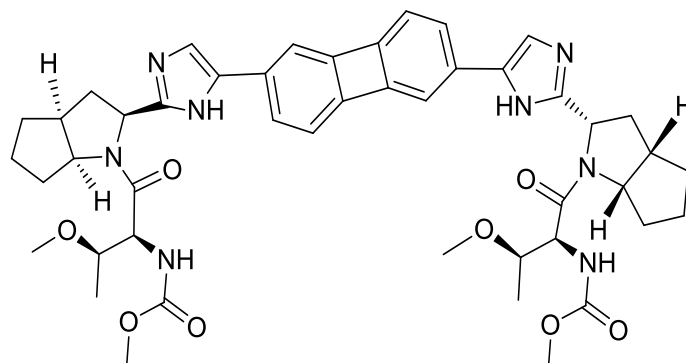


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en combinación con uno o más compuestos enlistados en la Tabla 1;

y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La presente invención proporciona además un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV), en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar un compuesto que tiene la estructura:



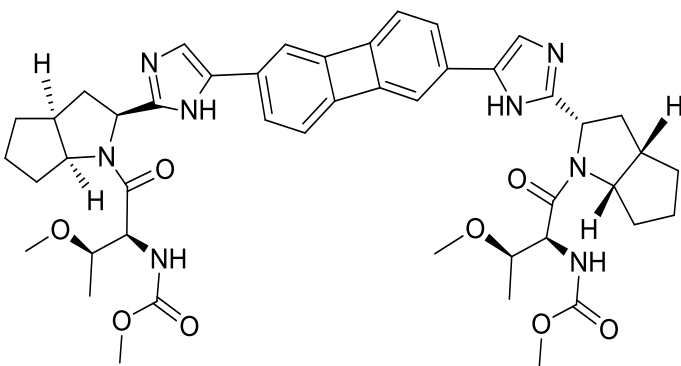
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más compuestos seleccionados a partir del
grupo de:

5	Telaprevir	Vertex
	Boceprevir	Merck
	Vaniprevir (MK-7009)	Merck
	MK-5172	Merck
	Danoprevir (RG7227) (ITMN-191)	Roche
10	Simeprevir (TMC-435)	JNJ Tibotec
	IDX-077	Idenix
	IDX-791	Idenix
	ACH-1625	Achillion
	ACH-2684	Achillion
	ABT-450	Abbott
	VX-222	Vertex
	Setrobuvir (RG-7790) (ANA-598)	Roche
	TMC-647055	J&J
	IDX-375	Idenix
15	ALS-2200	Vertex
	ALS-2158	Vertex
	Mericitabina (RG-7128)	Roche
	IDX-184	Idenix
	MK-4882	Merck
20	IDX-719	Idenix
	IDX-19370	Idenix
	IDX-19368	Idenix
	ACH-2928	Achillion
25		

	ACH-3102	Achillion
	PPI-461	Presidio
	PPI-668	Presidio
5	PPI-437	Presidio
	EDP-239	Novartis
	MK-4882	Merck
	GS-5885	Gilead
10	Daclatasvir (BMS-790052)	BMS
	BMS-824393	BMS
	ABT-267	Abbott
	BI-201335	BI
	BI-207127	BI
	Filibuvir (PF-868554)	Pfizer
	BMS-791325	BMS
	INX-189	BMS
	ABT-333	Abbott
	ABT-072	Abbott
15	Debio-025	Novartis
	SCY-635	Scynexes:
	Tegobuvir (GS-9190)	Gilead
	GS-9669, y	Gilead
	GS-7977	Gilead.

20 La presente invención también proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto que tiene la estructura:

5



10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más compuestos seleccionados a partir del
grupo de:

15

20

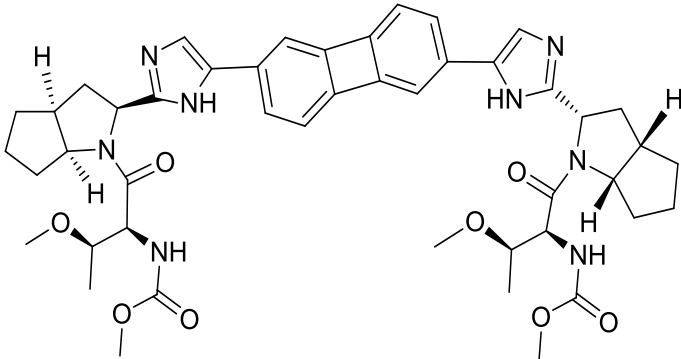
25

Telaprevir	Vertex
Boceprevir	Merck
Vaniprevir (MK-7009)	Merck
MK-5172	Merck
Danoprevir (RG7227) (ITMN-191)	Roche
Simeprevir (TMC-435)	JNJ Tibotec
IDX-077	Idenix
IDX-791	Idenix
ACH-1625	Achillion
ACH-2684	Achillion
ABT-450	Abbott
VX-222	Vertex
Setrobuvir (RG-7790) (ANA-598)	Roche
TMC-647055	J&J
IDX-375	Idenix
ALS-2200	Vertex
ALS-2158	Vertex
Mericitabina (RG-7128)	Roche

5	IDX-184	Idenix
	MK-4882	Merck
	IDX-719	Idenix
	IDX-19370	Idenix
	IDX-19368	Idenix
10	ACH-2928	Achillion
	ACH-3102	Achillion
	PPI-461	Presidio
	PPI-668	Presidio
	PPI-437	Presidio
15	EDP-239	Novartis
	MK-4882	Merck
	GS-5885	Gilead
	Daclatasvir (BMS-790052)	BMS
	BMS-824393	BMS
20	ABT-267	Abbott
	BI-201335	BI
	BI-207127	BI
	Filibuvir (PF-868554)	Pfizer
	BMS-791325	BMS
25	INX-189	BMS
	ABT-333	Abbott
	ABT-072	Abbott
	Debio-025	Novartis
	SCY-635	Scynexes:
25	Tegobuvir (GS-9190)	Gilead
	GS-9669, y	Gilead

GS-7977
Gilead;
y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La presente invención proporciona además un método para el
tratamiento del virus de hepatitis C (HCV), en un ser humano que lo necesite, el
cual comprende administrar un compuesto que tiene la estructura:

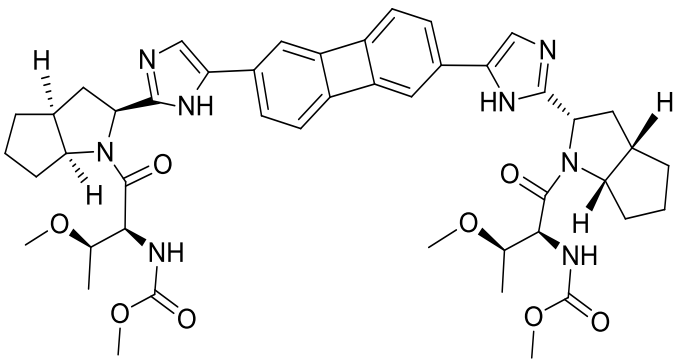


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más compuestos seleccionados a partir del
grupo de:

	Danoprevir (RG7227) (ITMN-191)	Roche
	Simeprevir (TMC-435)	JNJ Tibotec
	Setrobuvir (RG-7790) (ANA-598)	Roche
	TMC-647055	J&J
15	Mericitabina (RG-7128)	Roche
	GS-5885	Gilead
	Tegobuvir (GS-9190)	Gilead
	GS-9669, y	Gilead
20	GS-7977	Gilead.

La presente invención también proporciona una composición
farmacéutica, la cual comprende un compuesto que tiene la estructura:

5



10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más compuestos seleccionados a partir del
grupo de:

Danoprevir (RG7227) (ITMN-191)	Roche
Simeprevir (TMC-435)	JNJ Tibotec
Setrobuvir (RG-7790) (ANA-598)	Roche
TMC-647055	J&J

Mericitabina (RG-7128)	Roche
GS-5885	Gilead
Tegobuvir (GS-9190)	Gilead
GS-9669, y	Gilead
GS-7977	Gilead;

15

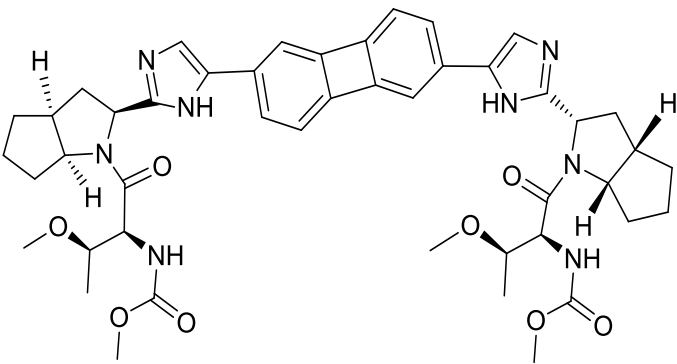
y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

20

La presente invención proporciona además un método para el
tratamiento del virus de hepatitis C (HCV), en un ser humano que lo necesite, el
cual comprende administrar un compuesto que tiene la estructura:

25

5



10

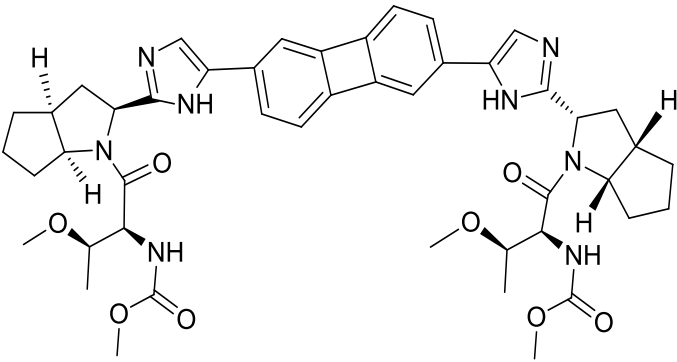
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más compuestos seleccionados a partir del
grupo de:

Danoprevir (RG7227) (ITMN-191)	Roche
Simeprevir (TMC-435)	JNJ Tibotec
Setrobuvir (RG-7790) (ANA-598)	Roche
TMC-647055, y	J&J

Mericitabina (RG-7128) Roche.

La presente invención también proporciona una composición
farmacéutica, la cual comprende un compuesto que tiene la estructura:

15



20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más compuestos seleccionados a partir del
grupo de:

25

Danoprevir (RG7227) (ITMN-191)	Roche
--------------------------------	-------

Simeprevir (TMC-435)	JNJ Tibotec
Setrobuvir (RG-7790) (ANA-598)	Roche
TMC-647055, y	J&J
Mericitabina (RG-7128)	Roche;

5 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Cuando se utiliza un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más agentes terapéuticos, la dosis de cada compuesto puede ser diferente de aquélla cuando se utiliza el compuesto solo. Las dosis apropiadas serán fácilmente apreciadas por los expertos en la materia. Se apreciará que la cantidad de un compuesto de la invención requerida para utilizarse en el tratamiento variará con la naturaleza de la condición que se esté tratando y con la edad y condición del paciente, y estará por último a la discreción del médico que atienda.

Los componentes individuales de estas combinaciones se pueden administrar ya sea en secuencia o simultáneamente en composiciones farmacéuticas separadas o combinadas por cualquier vía conveniente. Cuando la administración es en secuencia, se puede administrar primero ya sea el compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), o bien el uno o más agentes terapéuticos. Cuando la administración es simultánea, la combinación se puede administrar ya sea en la misma o bien en diferentes composiciones farmacéuticas.

La presente invención proporciona además una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más agentes terapéuticos como se describe anteriormente. Cuando se combinan en la misma formulación, se apreciará que los compuestos deben ser estables y compatibles unos con otros, y con los otros componentes de la formulación.

Cuando se formulan por separado, se pueden proporcionar en cualquier formulación conveniente, de una manera adecuada como se conoce para estos compuestos en la materia.

5 Ciertos compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), pueden existir en formas estereoisoméricas (por ejemplo, pueden contener uno o más átomos de carbono asimétricos

10 Se entiende que los compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), pueden existir en formas tautoméricas diferentes de aquéllas mostradas en la fórmula, y éstas también se incluyen dentro del alcance de la presente invención.

También se apreciará que los compuestos de la invención que existan como polimorfos, y mezclas de los mismos, están dentro del alcance de la presente invención.

La presente invención también proporciona un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Como se utiliza en la presente, el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a las sales que conservan la actividad biológica deseada del compuesto objeto y que exhiben efectos toxicológicos indeseados mínimos. Para una revisión sobre las sales adecuadas, véase Berge y colaboradores, J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19. El término "sales farmacéuticamente aceptables" incluye tanto las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables como las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables.

20 En ciertas modalidades, los compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), pueden contener un grupo funcional ácido y, por consiguiente, pueden ser capaces de formar las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables mediante el tratamiento con una base adecuada. Las sales de base farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de amonio (por ejemplo,

25

amonio o tetra-alquil-amonio), las sales de metales, por ejemplo, las sales de metales alcalinos o de metales alcalinotérreos (tales como hidróxidos, sodio, potasio, calcio o magnesio), aminas orgánicas (tales como tris [también conocida como trometamina o tris-(hidroxi-metil)-amino-metano], etanol-amina, dietil-amina, trietanol-amina, colina, isopropil-amina, diciclohexil-amina o N-metil-D-glucamina), aminoácidos catiónicos (tales como arginina, lisina o histidina), o bases para sales insolubles (tales como procaína o benzatina).

En ciertas modalidades, los compuestos de acuerdo con las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), pueden contener un grupo funcional básico y, por consiguiente, pueden ser capaces de formar las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables mediante el tratamiento con un ácido adecuado. Una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable se puede formar mediante la reacción de un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), con un ácido inorgánico fuerte adecuado (tal como ácido bromhídrico, clorhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico o perclórico), o con un ácido orgánico fuerte adecuado, por ejemplo, ácidos sulfónicos [tales como ácido p-toluen-sulfónico, bencen-sulfónico, metan-sulfónico, etan-sulfónico, 2-hidroxi-etan-sulfónico, naftalen-sulfónico (por ejemplo, ácido 2-naftalen-sulfónico)], ácidos carboxílicos (tales como ácido acético, propiónico, fumárico, maleico, benzoico, salicílico o succínico), aminoácidos aniónicos (tales como ácido glutámico o aspártico), hidroxi-ácidos (tales como ácido cítrico, láctico, tartárico o glicólico), ácidos grasos (tales como ácido caproico, caprílico, decanoico, oleico o esteárico), o ácidos para sales insolubles (tales como ácido pamoico o resínico [por ejemplo, sulfonato de poliestireno]), opcionalmente en un solvente adecuado, tal como un solvente orgánico, para dar la sal, la cual usualmente se aísla, por ejemplo, mediante cristalización y filtración. En una modalidad, una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable de un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), es una sal de un ácido fuerte, por ejemplo,

una sal de bromhidrato, clorhidrato, yodhidrato, sulfato, nitrato, perclorato, fosfato de ácido p-toluen-sulfónico, bencen-sulfónico o metan-sulfónico.

5 Será apreciado por los expertos en la materia que los ácidos borónicos orgánicos y/o sus ésteres de boronato orgánicos pueden formar sales de adición de complejo "ato", tales como sales de adición de complejo de borato orgánico, en la presencia de reactivos formadores de complejos nucleofílicos adecuados. Los reactivos formadores de complejos nucleofílicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, hidróxidos de metales alcalinos, por ejemplo, 10 hidróxido de litio, hidróxido de sodio o hidróxido de potasio, o fluoruro. Los ejemplos de las sales de adición de complejos de borato orgánicos y los métodos para su preparación serán fácilmente evidentes. Por ejemplo, una sal de adición de complejo de borato orgánico adecuada es un sal de de tri-hidroxi-borato orgánico de metal alcalino, tal como una sal de tri-hidroxi-borato orgánico de sodio. A manera de ilustración, las sales de adición de complejo de tri-hidroxi-aril-borato de sodio y de trihidroxi-alquil-borato de sodio y los métodos para su preparación, se describen en Cammidge, A. N. y colaboradores, Org. Lett. 2006, 8, 4071-4074. Las sales de adición de complejo "ato" farmacéuticamente aceptables, como se describen en la presente, también se 15 consideran dentro del alcance de esta invención.

La presente invención proporciona las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), incluyendo las sales de ácidos, por ejemplo, las sales de sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio, tetra-alquil-amonio y tris-(trometamina – tris-(hidroxi- 20 metil)-amino-metano), y similares, o las sales mono- o di-básicas con el ácido apropiado, por ejemplo, con los ácidos carboxílicos orgánicos, tales como los ácidos acético, láctico, tartárico, málico, isetiónico, lactobiónico y succínico; con los ácidos sulfónicos orgánicos, tales como los ácidos metan-sulfónico, etan-sulfónico, bencen-sulfónico y p-toluen-sulfónico, y con los ácidos inorgánicos, 25

tales como los ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico y sulfámico, y similares.

La presente invención proporciona las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables de un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), las cuales son las sales de una base fuerte, por ejemplo, las sales de sodio, lisina, amonio, N-metil-D-glucamina, potasio, colina, arginina (por ejemplo, L-arginina) o magnesio. En un aspecto adicional, la sal es sodio, lisina, amonio, N-metil-D-glucamina, potasio, colina o arginina (por ejemplo, L-arginina).

La invención incluye, dentro de su alcance, todas las posibles formas estequiométricas y no estequiométricas de las sales de los compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI).

Los expertos en el campo de la química orgánica apreciarán que muchos compuestos orgánicos pueden formar complejos con los solventes en donde se hacen reaccionar o a partir de los cuales se precipitan o se cristalizan. Estos complejos son conocidos como "solvatos". Por ejemplo, un complejo con agua se conoce como un "hidrato". Los solvatos de los compuestos de las fórmulas (I), (II) y (III), y los solvatos de las sales de los compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), se incluyen dentro del alcance de la presente invención.

Será apreciado por los expertos en la materia que ciertos derivados protegidos de los compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), los cuales se pueden hacer antes de una etapa final de desprotección, pueden no poseer actividad farmacológica como tales, pero, en ciertas instancias, se pueden administrar oralmente o parenteralmente, y posteriormente se pueden metabolizar en el cuerpo, para formar los compuestos definidos en el primer aspecto, los cuales son farmacológicamente activos. Estos derivados, por consiguiente, se pueden describir como "pro-fármacos". Todos los derivados protegidos y pro-fármacos de los compuestos definidos en el primer aspecto se

incluyen dentro del alcance de la invención. Los ejemplos de los pro-fármacos adecuados para los compuestos de la presente invención, se describen en Drugs of Today, Volumen 19, Número 9, 1983, páginas 499 - 538 y en Topics in Chemistry, Capítulo 31, páginas 306 - 316 y en "Design of Prodrugs" por H. Bundgaard, Elsevier, 1985, Capítulo 1 (las divulgaciones en cuyos documentos se incorporan a la presente como referencia). Además, será apreciado por los expertos en la materia, que ciertas fracciones, conocidas por los expertos en este campo como "pro-fracciones", por ejemplo, como es descrito por H. Bundgaard en "Design of Prodrugs" (la divulgación en cuyo documento se incorpora a la presente como referencia), se pueden colocar en las funcionalidades apropiadas cuando estén presentes tales funcionalidades dentro de los compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI). Los pro-fármacos adecuados para los compuestos de la invención incluyen: ésteres, ésteres de carbonato, hemi-ésteres, ésteres de fosfato, ésteres de nitro, ésteres de sulfato, sulfóxidos, amidas, carbamatos, compuestos azoicos, fosfamidas, glicósidos, éteres, acetales, cetales, ésteres borónicos, y anhídridos de ácido borónico.

Como se describe en la Publicación de la Solicitud Internacional de Patente Número WO 2011/028596 y en la Solicitud Internacional de Patente con Número de Serie PCT/US2012/049681, ambas de las cuales se incorporan a la presente solicitud en su totalidad, se ha encontrado que los compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), exhiben una actividad antiviral, específicamente una actividad inhibidora del virus de hepatitis C (HCV), y, por consiguiente, pueden ser útiles en el tratamiento o en la prevención de las infecciones virales, tales como las infecciones por el virus de hepatitis C (HCV), o las enfermedades asociadas con estas infecciones. Se han llevado a cabo estudios *in vitro* que demuestran la utilidad de los compuestos descritos en la presente como agentes antivirales cuando se administran en combinación con

un segundo agente terapéutico.

La presente invención proporciona un método para el tratamiento y/o la prevención de infecciones virales, tales como las infecciones por el virus de hepatitis C (HCV), o las enfermedades asociadas con estas infecciones, cuyo
5 método comprende administrar a un sujeto, por ejemplo, a un ser humano, que lo necesite, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más agentes terapéuticos adicionales seleccionados a partir del
10 grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmuno-modulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido. Otra modalidad de la presente invención
15 proporciona el método anterior que además comprende administrar un tercer agente terapéutico independientemente seleccionado a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de
20 replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor
25

de ciclofilina, un inmuno-modulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido. Otra modalidad de la presente invención proporciona el método anterior que además comprende administrar un cuarto agente terapéutico independientemente seleccionado a partir del grupo que

5 consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa

10 NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmuno-modulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido. Otra modalidad de la presente invención proporciona el método anterior que además comprende administrar un quinto agente terapéutico independientemente seleccionado a partir del grupo que

15 consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de

20 triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmuno-modulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido.

Una modalidad de la presente invención proporciona un método para el

25 tratamiento del virus de hepatitis C (HCV) en un ser humano que lo necesite, el

cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), y un interferón. Otra modalidad de la presente invención proporciona un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV) en un ser humano que lo necesite, el cual

5 comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), un interferón, y un análogo de nucleósido. Otra modalidad de la presente invención proporciona un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV) en un ser humano

10 que lo necesite, el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), y un inhibidor de la senda metabólica. Otra modalidad de la presente invención proporciona un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV) en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido. Otra modalidad de la presente invención proporciona un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV) en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva

15 de un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), y un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV). Otra modalidad de la presente invención proporciona un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV) en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), y un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV). Otra modalidad de la presente invención proporciona un método para el

20 tratamiento del virus de hepatitis C (HCV) en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), un inhibidor de proteasa

25

NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), y un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV). Otra modalidad de la presente invención proporciona un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV) en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un interferón, y un análogo de nucleósido. Otra modalidad de la presente invención proporciona un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV) en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula ((I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), un inhibidor de la senda metabólica, un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un interferón, y un análogo de nucleósido. Otra modalidad de la presente invención proporciona un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV) en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula ((I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un interferón, y un análogo de nucleósido. Otra modalidad de la presente invención proporciona un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV) en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula ((I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un interferón, y un análogo de nucleósido.

En una modalidad específica de la presente invención, el interferón se selecciona a partir del grupo que consiste en interferón alfa-2a, peginterferón alfa-2a, interferón alfa-2b, peginterferón alfa-2b, un análogo de interferón alfa-2b, interferón alfa-2b XL, interferón alfacon-1, interferón alfa-n1, interferón omega, interferón-HDV, peginterferón beta, peginterferón lambda, e interferón-

alfa5. En otra modalidad específica de la presente invención, el interferón se selecciona a partir del grupo que consiste en interferón alfa-2a, peginterferón alfa-2a, interferón alfa-2b, peginterferón alfa-2b, un análogo de interferón alfa-2b, interferón alfacon-1, e interferón alfa n1.

5 En otra modalidad específica de la presente invención, el inhibidor de la senda metabólica es ritonavir. En otra modalidad específica de la presente invención, el inhibidor de la senda metabólica es ritonavir, el cual se administra en una dosis diaria de 100 miligramos. En otra modalidad específica de la
10 presente invención, el inhibidor de la senda metabólica es ritonavir, el cual se administra en una dosis diaria de 200 miligramos.

 En otra modalidad específica de la presente invención, el análogo de nucleósido es ribavirina. En otra modalidad específica de la presente invención, el análogo de nucleósido es ribavirina, la cual se administra en una dosis diaria de 800 miligramos. En otra modalidad específica de la presente invención, el análogo de nucleósido es ribavirina, la cual se administra en una dosis diaria de 1,000 miligramos. En otra modalidad específica de la presente invención, el análogo de nucleósido es ribavirina, la cual se administra en una dosis diaria de 1,200 miligramos.

15 En otra modalidad específica de la presente invención, el inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV) se selecciona a partir del grupo que consiste en boceprevir, telaprevir, simeprevir, danoprevir, narlaprevir, vaniprevir, y asunaprevir. En otra modalidad específica de la presente invención, el inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV) se
20 selecciona a partir del grupo que consiste en boceprevir y telaprevir.

 En otra modalidad específica de la presente invención, el compuesto de la fórmula (I) es [(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-((2S)-3-metil-2-
25 {[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-1,4-dioxa-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1H-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-

carbamato de metilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra modalidad específica de la presente invención, el compuesto de la fórmula (IV) es el ((2S,2'S,3R,3'R)((2S,2'S,3aS, 3a'S,6aS,6a'S)-2,2'-(5,5'-(bifenilen-2,6-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-
5 pirrol-2,1(2H)-di-il))-bis-(3-metoxi-1-oxo-butan-2,1-di-il))-dicarbamato de dimetilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se apreciará que la referencia en la presente a terapia o tratamiento puede incluir, pero no se limita a, prevención, retardación, profilaxis, y curación
10 de la enfermedad. La presente invención proporciona compuestos y composiciones farmacéuticas para el tratamiento y la prevención de infecciones virales, tales como infecciones por el virus de hepatitis C (HCV), así como las enfermedades asociadas con infecciones virales en huéspedes vivos. Se apreciará adicionalmente que las referencias en la presente al tratamiento o a la profilaxis de la infección por el virus de hepatitis C (HCV) incluyen el tratamiento o la profilaxis de la enfermedad asociada con el virus de hepatitis C (HCV), tal como fibrosis hepática, cirrosis, y carcinoma hepatocelular.

Dentro del contexto de la presente invención, los términos que describen las indicaciones utilizadas en la presente están clasificadas en el Merck Manual
15 of Diagnosis and Therapy, 17^a Edición y/o la International Classification of Diseases, 10^a Edición (ICD-10). Los diversos subtipos de los trastornos mencionados en la presente se contemplan como parte de la presente invención.

Los compuestos de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI), se pueden
20 hacer mediante los procesos descritos en la presente o mediante cualquier método conocido por los expertos en este campo.

La invención proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de las fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI)
25 (posteriormente en la presente, el compuesto A), y uno o más agentes

terapéuticos adicionales seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmuno-modulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido (posteriormente en la presente, el compuesto B), y uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables. Opcionalmente, estas composiciones farmacéuticas pueden comprender además uno o más agentes terapéuticos adicionales independientemente seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmuno-modulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido (posteriormente en la presente, el compuesto C, el compuesto D, etc.). Los vehículos, diluyentes, o excipientes deben ser aceptables en el sentido de que sean compatibles con los otros ingredientes de la formulación, capaces de crear una formulación farmacéutica, y no perjudiciales para el receptor de los mismos.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, también se proporciona un proceso para la preparación de una composición farmacéutica, la cual comprende mezclar un compuesto A y el compuesto B, con uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables. Estos
5 elementos de las composiciones farmacéuticas utilizadas, se pueden presentar en combinaciones farmacéuticas separadas, o se pueden formular juntos en una composición farmacéutica. De conformidad con lo anterior, la invención proporciona además una combinación de composiciones farmacéuticas uno de los cuales incluye el compuesto A y uno o más vehículos, diluyentes, o
10 excipientes farmacéuticamente aceptables y una composición farmacéutica que contiene el compuesto B y uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables. Opcionalmente, la combinación de composiciones farmacéuticas puede comprender además una o más composiciones farmacéuticas adicionales, una de los cuales incluya el compuesto C y uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables y opcionalmente otra de las cuales incluya el compuesto D y uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables.

15 Las composiciones farmacéuticas se pueden presentar en formas de dosificación unitaria que contengan una cantidad previamente determinada del ingrediente activo por dosis unitaria. Como es conocido por los expertos en este campo, la cantidad de ingrediente activo por dosis dependerá de la condición que se esté tratando, de la vía de administración, y de la edad, peso y condición
20 del paciente. Las composiciones de dosificación unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis o sub-dosis diaria, o una fracción apropiada de la misma, de un ingrediente activo. Adicionalmente, estas composiciones farmacéuticas se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia.

25

Los Compuestos A, B, C, D, etc., se pueden administrar por cualquier vía apropiada. Las vías adecuadas incluyen oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal, y parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal, y epidural). Se apreciará que la vía preferida puede variar, por ejemplo, con la condición del receptor de la combinación y con el cáncer que se vaya a tratar. También se apreciará que cada uno de los agentes administrados se puede administrar por la misma o por diferentes vías, y que se puede mezclar cualquier combinación de los compuestos (por ejemplo, los Compuestos A y B; los Compuestos A y C; los Compuestos A, B, y C) juntos en una composición farmacéutica.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su administración oral se pueden presentar como unidades separadas, tales como cápsulas o tabletas; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o cremas comestibles; o emulsiones líquidas de aceite en agua, o emulsiones líquidas de agua en aceite.

Por ejemplo, para su administración oral en la forma de una tableta o cápsula, el componente de fármaco activo se puede combinar con un vehículo oral inerte no tóxico, farmacéuticamente aceptable, tal como etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos se preparan triturando el compuesto hasta un tamaño fino adecuado, y mezclando con un vehículo farmacéutico similarmente triturado, tal como un carbohidrato comestible, como, por ejemplo, almidón o manitol. También puede haber un agente saborizante, conservador, dispersante y colorante presente.

Las cápsulas se hacen mediante la preparación de una mezcla en polvo como se describe anteriormente, y llenar las cubiertas de gelatina formadas. A la mezcla en polvo se le pueden agregar derrapantes y lubricantes, tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, o polietilenglicol sólido, antes de la operación de llenado. También se puede

agregar un agente desintegrante o solubilizante, tal como agar-agar, carbonato de calcio, o carbonato de sodio, para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiera la cápsula.

5 Las tabletas se formulan, por ejemplo, mediante la preparación de una mezcla en polvo, la granulación o la separación en trozos, la adición de un lubricante y desintegrante, y la compresión en tabletas. Los lubricantes utilizados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio, y similares. Los desintegrantes incluyen, sin limitación, almidón, metil-10 celulosa, agar, bentonita, goma de xantano, y similares. Una mezcla en polvo se prepara mediante la mezcla del compuesto, adecuadamente triturado, con un diluyente o base como se describe anteriormente, y opcionalmente, con un aglutinante, tal como carboxi-metil-celulosa, un alginato, gelatina, o polivinil-pirrolidona, una solución retardante, tal como parafina, un acelerador de resorción, tal como una sal cuaternaria, y/o un agente de absorción, tal como bentonita, caolín, o difosfato de calcio. Los ingredientes opcionales incluyen otros aglutinantes, tales como almidón, azúcares naturales, tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, tales como 15 acacia, tragacanto o alginato de sodio, polietilenglicol, ceras y similares. La mezcla en polvo se puede granular en húmedo con un aglutinante, tal como jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia, o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos, y se puede forzar a través de un tamiz. Como una alternativa a la granulación, la mezcla en polvo se puede pasar a través de la 20 máquina formadora de tabletas, y el resultado es el de trozos imperfectamente formados quebrados en gránulos. Los gránulos se pueden lubricar para prevenir la adhesión a los troqueles formadores de tabletas por medio de la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral. La mezcla 25 lubricada se comprime entonces en tabletas. Los compuestos de la presente

invención también se pueden combinar con un vehículo inerte de flujo libre, y se comprimen en tabletas directamente sin pasar a través de los pasos de granulación o formación de trozos. Se puede proporcionar un recubrimiento protector transparente u opaco consistente en una capa selladora de shellac, un
5 recubrimiento de azúcar o de un material polimérico, y un recubrimiento pulido de cera. Se pueden agregar materiales de tinte a estos recubrimientos para distinguir diferentes dosificaciones unitarias.

Se pueden preparar fluidos orales, tales como solución, jarabes y elíxires
10 en una forma unitaria de dosificación, de tal manera que una cantidad dada contenga una cantidad previamente determinada del compuesto. Los jarabes se pueden preparar mediante la disolución del compuesto en una solución acuosa adecuadamente saborizada, mientras que los elíxires se preparan a través del uso de un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones se pueden formular mediante la dispersión del compuesto en un vehículo no tóxico. También se pueden agregar solubilizantes y emulsionantes, tales como los alcoholes isoestearílicos etoxilados y los éteres de sorbitol de polioxietileno, conservadores, aditivos de sabor, tales como aceite de hierbabuena o edulcorantes naturales, o sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares.

15 Cuando sea apropiado, las composiciones para su administración oral se pueden microencapsular. La composición también se puede preparar para prolongar o sostener la liberación, como, por ejemplo, mediante un material en partículas de recubrimiento o de empotramiento en polímeros, cera, o similares.

Los agentes para usarse de acuerdo con la presente invención también
20 se pueden administrar en la forma de sistemas de suministro de liposomas, tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes, y vesículas multilamelares. Los liposomas se pueden formar a partir de una variedad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearil-amina, o fosfatidil-
25 colinas.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su administración transdérmica se pueden presentar como parches separados pretendidos para permanecer en contacto íntimo con la epidermis del receptor durante un período de tiempo prolongado. Por ejemplo, el ingrediente activo se puede suministrar a partir del parche mediante iontoforesis, como se describe en términos generales en Pharmaceutical Research, 3(6), 318 (1986).

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su administración tópica se pueden formular como ungüentos, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, aspersiones, aerosoles, o aceites.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su administración parenteral incluyen soluciones estériles para inyección acuosas y no acuosas, las cuales pueden contener anti-oxidantes, reguladores del pH, bacteriostáticos y solutos que hagan a la formulación isotónica con la sangre del receptor pretendido; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas, las cuales pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones se pueden presentar en recipientes de dosis unitaria o de múltiples dosis, por ejemplo, en ampolletas selladas y en frascos, y se pueden almacenar en una condición secada por congelación (liofilizada), requiriendo solamente de la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de usarse. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos, y tabletas.

Se debe entender que, en adición a los ingredientes particularmente mencionados en lo anterior, las composiciones pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica, teniendo consideración del tipo de formulación en cuestión, por ejemplo, aquéllos adecuados para su administración oral pueden incluir agentes saborizantes.

Los Compuestos A y B se pueden emplear en combinación de acuerdo

con la invención, mediante su administración simultánea en una composición farmacéutica unitaria que incluya ambos compuestos. De una manera alternativa, la combinación se puede administrar por separado en composiciones farmacéuticas separadas, cada una incluyendo uno de los

5 Compuestos A y B de una manera en secuencia, en donde, por ejemplo, se administre primero el Compuesto A o el Compuesto B, y el otro en segundo lugar. Esta administración en secuencia puede ser cercana en el tiempo (por ejemplo, de una manera simultánea) o remota en el tiempo. Adicionalmente, no

10 importa si los compuestos se administran en la misma forma de dosificación, por ejemplo, un compuesto se puede administrar parenteralmente y el otro compuesto se puede administrar oralmente. De una manera adecuada, ambos compuestos se administran oralmente. Opcionalmente, el Compuesto C se puede administrar en combinación con cualquiera o ambos de los compuestos A y B, o se puede administrar por separado en una composición farmacéutica separada. El Compuesto C se puede administrar simultáneamente con cualquiera o ambos de los compuestos A y B, o se puede administrar de una manera en secuencia en relación con cualquiera o ambos de los compuestos A y B. Opcionalmente, el compuesto D se puede administrar en combinación con

15 cualquiera o todos los compuestos A, B, y C, o se puede administrar por separado en una composición farmacéutica separada. El compuesto D se puede administrar simultáneamente con cualquiera o todos los compuestos A, B, y C, o se puede administrar de una manera en secuencia en relación con cualquiera o todos los compuestos A, B, y C.

20 Por consiguiente, en una modalidad, se administran una o más dosis del Compuesto A simultáneamente o por separado con una o más dosis del Compuesto B.

A menos que se defina de otra manera, en todos los protocolos de dosificación descritos en la presente, el régimen de los compuestos

25

administrados no tiene que comenzar con el inicio del tratamiento y terminar con el final del tratamiento, sino que solamente se requiere que el número de días consecutivos en los que se administren ambos compuestos, y el número opcional de días consecutivos en los que solamente se administre uno de los compuestos componentes, o el protocolo de dosificación indicado - incluyendo la cantidad del compuesto administrado, se presenten en algún punto durante el transcurso del tratamiento.

En una modalidad, se administran múltiples dosis del Compuesto A simultáneamente o por separado con múltiples dosis del Compuesto B.

En otra modalidad, se administran múltiples dosis del Compuesto A simultáneamente o por separado con una dosis del Compuesto B.

En otra modalidad, se administra una dosis del Compuesto A simultáneamente o por separado con múltiples dosis del Compuesto B.

En otra modalidad, se administra una dosis del Compuesto A simultáneamente o por separado con una dosis del Compuesto B.

En todas las modalidades anteriores, se puede administrar primero el Compuesto A, o se puede administrar primero el Compuesto B.

Las combinaciones se pueden presentar como un kit de combinación. El término "kit de combinación" o "kit de partes", como se utiliza en la presente, significa la composición farmacéutica o las composiciones que se utilizan para administrar el Compuesto A y el Compuesto B de acuerdo con la invención. Opcionalmente, el kit puede comprender además una composición farmacéutica o composiciones que se utilicen para administrar el Compuesto C y opcionalmente el Compuesto D. Cuando el Compuesto A y el Compuesto B se administran de una manera simultánea, el kit de combinación puede contener al Compuesto A y al Compuesto B en una sola composición farmacéutica, tal como una tableta, o en composiciones farmacéuticas separadas.

Opcionalmente, el kit puede contener los Compuestos A, B, y C en una sola composición farmacéutica, tal como una tableta, o cualesquiera dos de los compuestos A, B, y C en una sola composición farmacéutica, o cada uno de Compuestos A, B, y C en una composición farmacéutica separada.

5

Opcionalmente, el kit puede contener los Compuestos A, B, C, y D en una sola composición farmacéutica, tal como una tableta, o cualesquiera tres de los compuestos A, B, C, y D en una sola composición farmacéutica, o cualesquiera dos de los compuestos A, B, C, y D en una sola composición farmacéutica, o

10

cada uno de Compuestos A, B, C, y D en una composición farmacéutica separada. Cuando los Compuestos A y B no se administran de una manera simultánea, el kit de combinación contendrá el Compuesto A y el Compuesto B en composiciones farmacéuticas separadas, ya sea en un solo paquete o bien el Compuesto A y el Compuesto B en composiciones farmacéuticas separadas en paquetes separados. Opcionalmente, el kit puede contener los Compuestos A, B, y C en composiciones farmacéuticas separadas ya sea en un solo paquete o bien en paquetes separados. Opcionalmente, el kit puede contener los Compuestos A, B, C, y D en composiciones farmacéuticas separadas ya sea en un solo paquete o bien en paquetes separados.

15

En una modalidad de la invención, se proporciona un kit de partes, el cual comprende los siguientes componentes:

el Compuesto A en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables; y

20

el Compuesto B en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

En otra modalidad de la invención, se proporciona un kit de partes, el cual comprende los siguientes componentes:

25

el Compuesto A en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables; y

el Compuesto B en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables,

en donde los componentes se proporcionan en una forma que es adecuada para su administración en secuencia, separada y/o simultánea.

5

En otra modalidad de la invención, se proporciona un kit de partes, el cual comprende los siguientes componentes:

un primer recipiente, el cual comprende el Compuesto A en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéutica-mente aceptables; y

10

un segundo recipiente, el cual comprende el Compuesto B en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéutica-mente aceptables, y

un elemento contenedor para contener los primero y segundo contenedores.

En otra modalidad de la invención, se proporciona un kit de partes, el cual comprende los siguientes componentes:

el Compuesto A en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables;

el Compuesto B en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables; y

15

el Compuesto C en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

En otra modalidad de la invención, se proporciona un kit de partes, el cual comprende los siguientes componentes:

20

el Compuesto A en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables;

el Compuesto B en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables; y

25

el Compuesto C en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables,

en donde los componentes se proporcionan en una forma que es adecuada para su administración en secuencia, separada y/o simultánea.

En otra modalidad de la invención, se proporciona un kit de partes, el cual comprende los siguientes componentes:

5 un primer recipiente, el cual comprende el Compuesto A en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéutica-mente aceptables;

un segundo recipiente, el cual comprende el Compuesto B en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéutica-mente aceptables; y

10 un tercer recipiente, el cual comprende el Compuesto C en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéutica-mente aceptables, y

un elemento contenedor para contener los primero, segundo, y tercer contenedores.

En otra modalidad de la invención, se proporciona un kit de partes, el cual comprende los siguientes componentes:

el Compuesto A en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables;

el Compuesto B en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables;

15 el Compuesto C en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables; y

el Compuesto D en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

20 En otra modalidad de la invención, se proporciona un kit de partes, el cual comprende los siguientes componentes:

el Compuesto A en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables;

25 el Compuesto B en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos

farmacéuticamente aceptables;

el Compuesto C en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables; y

5 el Compuesto D en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables,

en donde los componentes se proporcionan en una forma que es adecuada para su administración en secuencia, separada y/o simultánea.

10 En otra modalidad de la invención, se proporciona un kit de partes, el cual comprende los siguientes componentes:

un primer recipiente, el cual comprende el Compuesto A en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéutica-mente aceptables;

un segundo recipiente, el cual comprende el Compuesto B en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéutica-mente aceptables;

un tercer recipiente, el cual comprende el Compuesto C en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéutica-mente aceptables; y

15 un cuarto recipiente, el cual comprende el compuesto D en asociación con excipientes, diluyentes o vehículos farmacéutica-mente aceptables, y un elemento contenedor para contener los primero, segundo, tercero, y cuarto contenedores.

De una manera adecuada, las combinaciones de esta invención se administran dentro de un “período especificado”. El término “período especificado”, como se utiliza en la presente, significa el intervalo de tiempo entre la administración, por ejemplo, de uno del Compuesto A y el Compuesto B, y el otro del Compuesto A y el Compuesto B. A menos que se defina de otra manera, el período especificado puede incluir la administración simultánea. Cuando el Compuesto A y el Compuesto B se administran una vez al día, el período especificado se refiere a la administración del Compuesto A y el Compuesto B durante un solo día. Cuando uno o ambos compuestos se

20

25

5 administran más de una vez al día, el período especificado se calcula basándose en la primera administración de cada compuesto en un día específico. Cuando se calcula el período específico, no se considera ninguna de las administraciones de un compuesto de la invención que sean subsiguientes a la primera durante un día específico.

De una manera adecuada, si los compuestos se administran dentro de un “período especificado” y no se administran de una manera simultánea, se administran dentro de aproximadamente 24 horas unos de otros - en este caso, el período especificado será de aproximadamente 24 horas; de una manera adecuada, se administrarán dentro de aproximadamente 12 horas unos de otros - en este caso, el período especificado será de aproximadamente 12 horas; de una manera adecuada, se administrarán dentro de aproximadamente 11 horas unos de otros - en este caso, el período especificado será de aproximadamente 11 horas; de una manera adecuada, se administrarán dentro de aproximadamente 10 horas unos de otros - en este caso, el período especificado será de aproximadamente 10 horas; de una manera adecuada, se administrarán dentro de aproximadamente 9 horas unos de otros - en este caso, el período especificado será de aproximadamente 9 horas; de una manera adecuada, se administrarán dentro de aproximadamente 8 horas unos de otros - en este caso, el período especificado será de aproximadamente 8 horas; de una manera adecuada, se administrarán dentro de aproximadamente 7 horas unos de otros - en este caso, el período especificado será de aproximadamente 7 horas; de una manera adecuada, se administrarán dentro de aproximadamente 6 horas unos de otros - en este caso, el período especificado será de aproximadamente 6 horas; de una manera adecuada, se administrarán dentro de aproximadamente 5 horas unos de otros - en este caso, el período especificado será de aproximadamente 5 horas; de una manera adecuada, se administrarán dentro de aproximadamente 4 horas unos de otros - en este

caso, el período especificado será de aproximadamente 4 horas; de una manera adecuada, se administrarán dentro de aproximadamente 3 horas unos de otros - en este caso, el período especificado será de aproximadamente 3 horas; de una manera adecuada se administrarán dentro de aproximadamente 2 horas unos de otros - en este caso, el período especificado será de aproximadamente 2 horas; de una manera adecuada, se administrarán dentro de aproximadamente 1 hora unos de otros - en este caso, el período especificado será de aproximadamente 1 hora. Como se utiliza en la presente, la administración del Compuesto A y el Compuesto B en menos de aproximadamente 45 minutos de separación, se considera como una administración simultánea.

De una manera adecuada, cuando la combinación de la invención se administra durante un "período especificado", los compuestos se co-administrarán por una "duración de tiempo". El término "duración de tiempo", como se utiliza en la presente, significa que cada uno de los compuestos de la invención se administra durante un número indicado de días consecutivos.

Con respecto a la administración durante un "período especificado": de una manera adecuada, cada uno de los compuestos se administrará dentro de un período especificado durante cuando menos un día - en este caso, la duración de tiempo será de cuando menos un día; de una manera adecuada, durante el transcurso del tratamiento, cada uno de los compuestos se administrará dentro de un período especificado durante cuando menos 3 días consecutivos - en este caso, la duración de tiempo será de cuando menos 3 días; de una manera adecuada, durante el transcurso del tratamiento, cada uno de los compuestos se administrará dentro de un período especificado durante cuando menos 5 días consecutivos - en este caso, la duración de tiempo será de cuando menos 5 días; de una manera adecuada, durante el transcurso del tratamiento, cada uno de los compuestos se administrará dentro de un período

especificado durante cuando menos 7 días consecutivos - en este caso, la duración de tiempo será de cuando menos 7 días; de una manera adecuada, durante el transcurso del tratamiento, cada uno de los compuestos se administrará dentro de un período especificado durante cuando menos 14 días consecutivos - en este caso, la duración de tiempo será de cuando menos 14 días; de una manera adecuada, durante el transcurso del tratamiento, cada uno de los compuestos se administrará dentro de un período especificado durante cuando menos 30 días consecutivos - en este caso, la duración de tiempo será de cuando menos 30 días; de una manera adecuada, durante el transcurso del tratamiento, cada uno de los compuestos se administrará dentro de un período especificado durante cuando menos 60 días consecutivos - en este caso, la duración de tiempo será de cuando menos 60 días; de una manera adecuada, durante el transcurso del tratamiento, cada uno de los compuestos se administrará dentro de un período especificado durante cuando menos 90 días consecutivos - en este caso, la duración de tiempo será de cuando menos 90 días; de una manera adecuada, durante el transcurso del tratamiento, cada uno de los compuestos se administrará dentro de un período especificado durante cuando menos 180 días consecutivos - en este caso, la duración de tiempo será de cuando menos 180 días; de una manera adecuada, durante el transcurso del tratamiento, cada uno de los compuestos se administrará dentro de un período especificado durante cuando menos 365 días consecutivos - en este caso, la duración de tiempo será de cuando menos 365 días.

Además con respecto a la administración durante un "período especificado": de una manera adecuada, durante el transcurso del tratamiento, el Compuesto A y el Compuesto B se administrarán dentro de un período especificado durante 1 a 4 días sobre un período de 7 días, y durante los otros días del período de 7 días, el Compuesto A se administrará solo u opcionalmente con el Compuesto C y opcionalmente el Compuesto D. De una

manera adecuada, este protocolo de 7 días se repite por 2 ciclos o durante 14 días; de una manera adecuada por 4 ciclos o 28 días; de una manera adecuada por 12 ciclos u 84 días; de una manera adecuada durante una administración continua.

5

Adecuadamente, durante el transcurso del tratamiento, el Compuesto A y el Compuesto B se administrarán dentro de un período especificado por 1 día durante un período de 7 días, y durante los otros días del período de 7 días el Compuesto A se administrará solo u opcionalmente con el Compuesto C y opcionalmente el Compuesto D. De una manera adecuada, este protocolo de 7
10 días se repite por 2 ciclos o durante 14 días; de una manera adecuada por 4 ciclos o 28 días; de una manera adecuada por 12 ciclos u 84 días; de una manera adecuada durante una administración continua.

15

De una manera adecuada, si los compuestos no se administran durante un “período especificado”, se administran en secuencia. El término “administración en secuencia”, y los derivados del mismo, como se utiliza en la presente, significa que uno del Compuesto A y el Compuesto B se administra durante dos o más días consecutivos, y el otro del Compuesto A y el Compuesto B se administra subsiguientemente durante dos o más días consecutivos. También, en la presente se contempla un descanso del fármaco
utilizado entre la administración en secuencia de uno del Compuesto A y el Compuesto B, y el otro del Compuesto A y el Compuesto B. Como se utiliza en la presente, un descanso del fármaco es un período de días después de la administración en secuencia de uno del Compuesto A y el Compuesto B, y
20 antes de la administración del otro del Compuesto A y el Compuesto B, en el que no se administra ninguno del Compuesto A ni el Compuesto B. De una manera adecuada, el descanso del fármaco será un período de días seleccionado a partir de: 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8
25 días, 9 días, 10 días, 11 días, 12 días, 13 días, y 14 días.

Con respecto a la administración en secuencia:

De una manera adecuada, uno del Compuesto A y el Compuesto B se administra durante 1 a 30 días consecutivos, seguidos por un descanso opcional del fármaco, seguido por la administración del otro del Compuesto A y el Compuesto B durante 2 a 30 días consecutivos. De una manera adecuada, uno del Compuesto A y el Compuesto B se administra durante 2 a 21 días consecutivos, seguidos por un descanso opcional del fármaco, seguido por la administración del otro del Compuesto A y el Compuesto B durante 2 a 21 días consecutivos. De una manera adecuada, uno del Compuesto A y el Compuesto B se administra durante 2 a 14 días consecutivos, seguidos por un descanso del fármaco de 1 a 14 días, seguido por la administración del otro del Compuesto A y el Compuesto B durante 2 a 14 días consecutivos. De una manera adecuada, uno del Compuesto A y el Compuesto B se administra durante 3 a 7 días consecutivos, seguidos por un descanso del fármaco de 3 a 10 días, seguido por la administración del otro del Compuesto A y el Compuesto B durante 3 a 7 días consecutivos.

De una manera adecuada, el Compuesto B se administrará primero en la secuencia, seguido por un descanso opcional del fármaco, seguido por la administración del Compuesto A. De una manera adecuada, el Compuesto B se administra durante 2 a 21 días consecutivos, seguidos por un descanso opcional del fármaco, seguido por la administración del Compuesto A durante 2 a 21 días consecutivos. De una manera adecuada, el Compuesto B se administra durante 3 a 21 días consecutivos, seguidos por un descanso del fármaco de 1 a 14 días, seguido por la administración del Compuesto A durante 3 a 21 días consecutivos. De una manera adecuada, el Compuesto B se administra durante 3 a 21 días consecutivos, seguidos por un descanso del fármaco de 3 a 14 días, seguido por la administración del Compuesto A durante 3 a 21 días consecutivos.

De una manera adecuada, el Compuesto A se administrará primero en la secuencia, seguido por un descanso opcional del fármaco, seguido por la administración del Compuesto B. Adecuadamente, el Compuesto A se administra durante 2 a 21 días consecutivos, seguidos por un descanso
5 opcional del fármaco, seguido por la administración del Compuesto B durante 2 a 21 días consecutivos. De una manera adecuada, el Compuesto A se administra durante 3 a 21 días consecutivos, seguidos por un descanso del fármaco de 1 a 14 días, seguidos por la administración del Compuesto B
10 durante 3 a 21 días consecutivos. De una manera adecuada, el Compuesto A se administra durante 3 a 21 días consecutivos, seguidos por un descanso del fármaco de 3 a 14 días, seguidos por la administración del Compuesto B durante 3 a 21 días consecutivos.

Se entiende que una administración en un “período especificado” y una administración en “secuencia”, pueden ser seguidas por una dosificación repetida, o pueden ser seguidas por un protocolo de dosificación alternada, y puede haber un descanso del fármaco precediendo a la dosificación repetida o al protocolo de dosificación alternada.

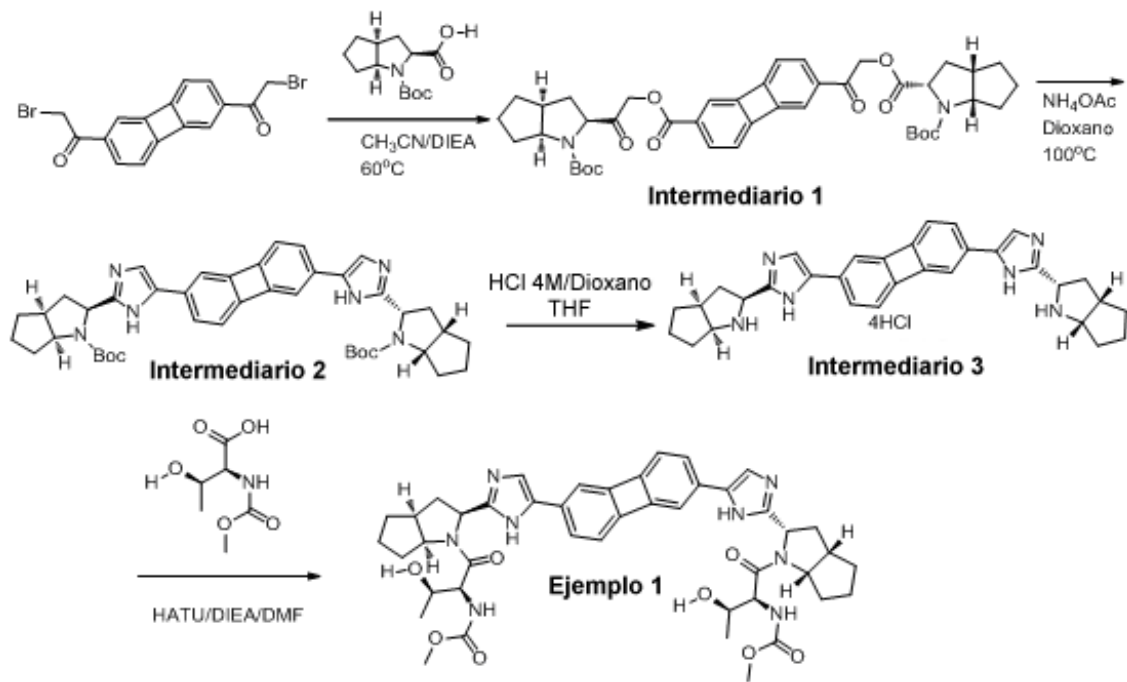
De una manera adecuada, la cantidad del Compuesto A (basándose en
15 el peso de la cantidad no en sal / no en solvato) administrado como parte de la combinación de acuerdo con la presente invención, estará en el intervalo de 0.01 a 100 miligramos por kilogramo de peso corporal del receptor (por ejemplo, un ser humano) al día; de una manera adecuada, la cantidad se seleccionará en el intervalo de 0.1 a 30 miligramos por kilogramo de peso corporal al día; de
20 una manera adecuada, la cantidad se seleccionará en el intervalo de 0.1 a 10 miligramos por kilogramo de peso corporal al día; de una manera adecuada, la cantidad se seleccionará en el intervalo de 0.5 a 10 miligramos por kilogramo de peso corporal al día. La dosis deseada se puede presentar como una, dos, tres,
25 cuatro, cinco, seis o más sub-dosis administradas a intervalos apropiados a

través de todo el día. En algunos casos se puede dar la dosis deseada en días alternados o en otro programa apropiado, por ejemplo, semanalmente o mensualmente. Estas sub-dosis se pueden administrar en formas de dosificación unitaria, por ejemplo, que contengan de 0.5 a 100 miligramos, de 5 a 1,000 miligramos o de 50 a 500 miligramos, o de 20 a 500 miligramos del ingrediente activo por forma de dosificación unitaria.

Los siguientes ejemplos no limitantes ilustran la presente invención.

EJEMPLOS

Preparación del Ejemplo I:



Intermediario 1: 1-diterbutil-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1,2(2H)-dicarboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-O'2,O2-(bifenilen-2,6-diilbis-(2-oxoetan-2,1-di-il))

La 1,1'-(2,6-difenilen-di-il)-bis-(2-bromo-etanona) (1.5 gramos, 1.90 milimoles) se disolvió en acetonitrilo (10 mililitros). Se agregó ácido (2S,3aS,6aS)-1-(terbutoxi-carbonil)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-carboxílico (1.215 gramos, 4.76 milimoles), y DIEA (1 mililitro, 5.71 milimoles), y la solución

se agitó a 65°C durante 4 horas. El material sólido se filtró, y el solvente se evaporó para proporcionar el compuesto crudo, el cual se purificó mediante una columna Isco utilizando un cartucho de 40 gramos de sílice con hexano/acetato de etilo (incrementando el gradiente desde el 0 por ciento hasta el 100 por ciento de EA).

Rendimiento : 92 por ciento; ES LC-MS $m/z = 743 (M+H)^+$;

^1H RMN (400 MHz, *DMSO-d* 6) δ ppm 7.70 (m, 2 H), 7.40 (m, 2 H), 7.06 (m, 2 H), 5.49 (s, 4 H), 4.39 (m, 2 H), 4.10 (m, 2 H), 2.67 (m, 3 H), 2.45 (m, 1 H), 2.33 (m, 1 H), 1.83 -2.02 (m, 3 H), 1.73-1.82 (m, 3 H), 1.68 (m, 4 H), 1.37 (m, 21 H).

Intermediario 2: 2,2'-(5,5'-(bifenilen-2,6-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1(2H)-carboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-diterbutilo

A una solución agitada del 1-diterbutil-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1,2(2H)-dicarboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S, 6aS,6a'S)-O'2,O2-(bifenilen-2,6-diilbis-(2-oxoetan-2,1-di-ilo)) (1.3 gramos, 1.750 milimoles, 92 por ciento de rendimiento) en 1,4-dioxano (10 mililitros), en un tubo sellado, se le agregó acetato de amonio (0.147 gramos, 1.904 milimoles). La mezcla de reacción se puso a reflujo a 100°C durante 10 horas. Después de enfriarse, el sólido del fondo se filtró y se lavó con acetato de etilo. El filtrado se evaporó, y el residuo se purificó mediante una columna por evaporación instantánea utilizando un cartucho de 40 gramos de sílice con hexano/acetato de etilo (incrementando el gradiente desde el 0 por ciento hasta el 100 por ciento de EA), para dar el producto como un sólido color café.

Rendimiento : 45 por ciento; ES LC-MS $m/z = 703 (M+H)^+$;

^1H RMN (400 MHz, *DMSO-d*6) δ ppm 11.43 -12.03 (m, 2 H), 7.40 (m, 2 H), 7.19 - 7.26 (m, 2H), 7.09 - 7.17 (m, 2 H), 6.69 - 6.87 (m, 2 H), 4.81 (m, 2 H), 4.15 (m, 2 H), 2.68 (m, 2 H), 2.30 -2.44 (m, 2 H), 1.87 -2.02 (m, 3 H), 1.83 (m, 3

H), 1.63 (m, 4 H), 1.45 (m, 9 H), 1.28 -1.38 (m, 4H), 1.24 (m, 9 H).

Intermediario 3: Tetraclorhidrato de 2,6-bis-(2-((2S,3aS,6aS)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-il)-1H-imidazol-5-il)-bifenileno

Al 2,2'-(5,5'-(bifenilen-2,6-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1(2H)-carboxilato) de (2S,2'S,3aS, 3a'S,6aS,6a'S)-diterbutilo (500 miligramos, 0.711 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (THF) (2 mililitros), se le agregó lentamente HCl (3.56 mililitros, 14.23 milimoles) en dioxano. La solución se agitó durante 12 horas a temperatura ambiente, y el solvente se evaporó, se agregó éter (50 mililitros), y el sólido color café oscuro se filtró y se secó con una aspiradora (2 horas), lo cual proporcionó la sal de tetra-HCl de la amina, la cual se utilizó en el siguiente paso sin mayor purificación.

Rendimiento : 84 por ciento; ES LC-MS m/z = 503 (M+H)⁺;

¹H RMN (400 MHz, *DMSO-d* 6) δ ppm 10.39 (m, 2 H), 9.51 (m, 2 H), 7.98 (s, 2 H), 7.43 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.31 (s, 2 H), 6.96 (d, J = 7.3 Hz, 2 H), 4.84 (m, 2 H), 4.17 (m, 4 H), 2.99 (m, 2 H), 2.58 -2.76 (m,2 H), 2.06 (m, 3 H), 1.87 - 2.00 (m, 1 H), 1.75 (m, 2 H), 1.65 (m, 6 H).

Ejemplo 1: ((2S,2'S,3R,3'R))((2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-2,2'-(5,5'-(bifenilen-2,6-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2,1(2H)-di-il))-bis-(3-hidroxi-1-oxo-butan-2,1-di-il))-dicarbamato de dimetilo

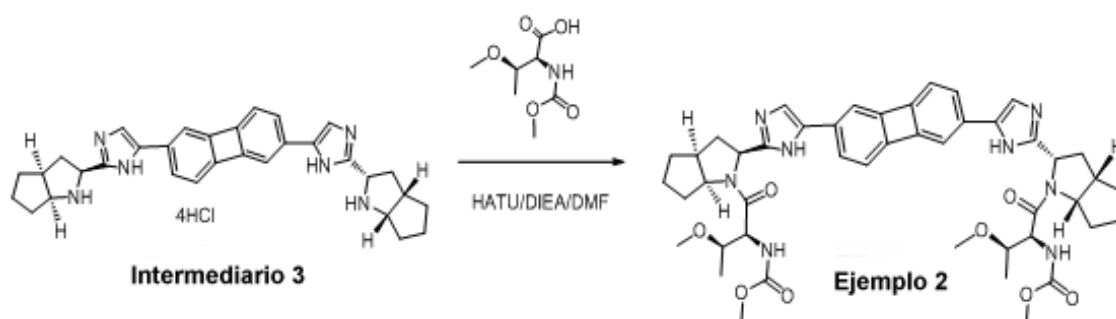
Al 2,6-bis-(2-((2S,3aS,6aS)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-il)-1H-imidazol-5-il)-bifenileno crudo (80 miligramos, 0.16 milimoles) en N,N-dimetil-formamida (DMF) (2 mililitros), se le agregaron ácido (2S,3R)-3-hidroxi-2-((metoxi-carbonil)-amino)-butanoico (71 mili-gramos, 0.4 milimoles), HATU (60.5 miligramos, 0.16 milimoles), y DIEA (0.06 mililitros, 0.32 milimoles), y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La reacción se dividió entre acetato de etilo (5 mililitros) y NaHCO₃ acuoso saturado (2 mililitros). La fase orgánica se separó y se secó sobre sulfato de sodio, y se evaporó al vacío, para dar el producto crudo, el cual se purificó en una Gilson-HPLC, eluyendo con el 5

al 80 por ciento de acetonitrilo/ agua ($\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ al 0.2 por ciento), para dar el producto puro.

Rendimiento : 17 por ciento; ES LC-MS $m/z = 821.3$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺;

¹H RMN (400 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm 12.05 (m, 1 H), 11.65 (m, 1 H),
 5 7.40 (s, 1 H), 7.26 (m, 2H), 7.20 (m, 2 H), 7.14 (s, 1 H), 7.09 (s, 1 H), 6.73 (m, 2
 H), 5.54 (m, 1 H), 5.10 (m, 2 H), 4.80 (m, 2 H), 4.71 (m, 2 H), 4.32 (m, 1 H), 4.19
 (m, 2 H), 3.74 (m, 2 H), 3.56 (s, 6 H), 2.77 (m, 2 H), 2.28 -2.45 (m, 2 H), 2.05 (m,
 4 H), 1.77 (m, 4 H), 1.53 (m, 4 H), 0.99 -1.13 (m, 7 H).

10 Preparación del Ejemplo 2:



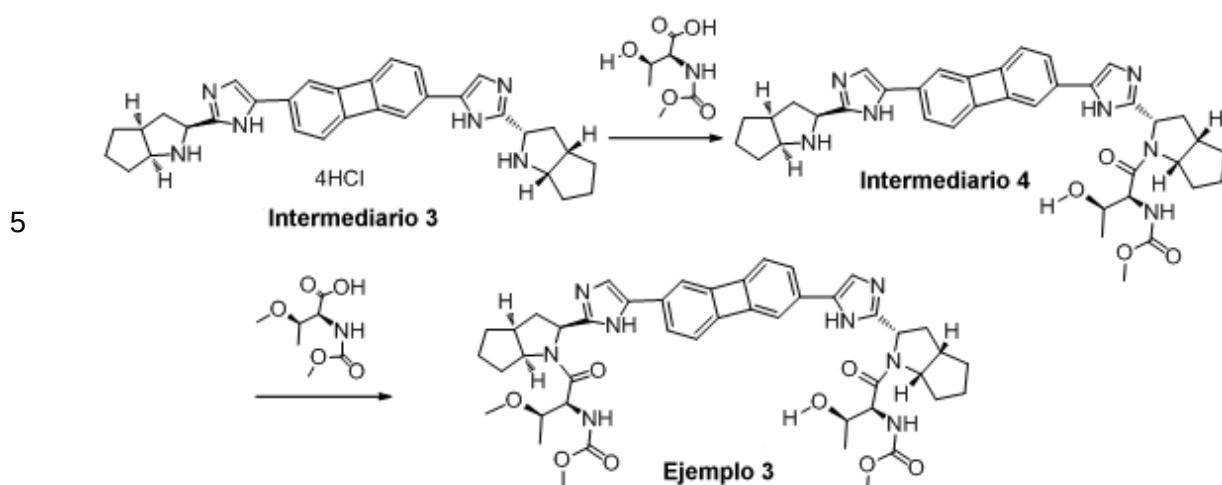
Ejemplo 2: ((2S,2'S,3R,3'R)((2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-2,2'-(5,5'-(bifenilen-2,6-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2,1(2H)-di-il))-bis-(3-metoxi-1-oxo-butan-2,1-di-il))-dicarbamato de dimetilo

15 Este Ejemplo se hizo de una manera similar a aquélla explicada para el Ejemplo 1, utilizando el ácido (2S,3R)-3-metoxi-2-((metoxi-carbonil)-amino)-butanoico.

Rendimiento : 12 por ciento; ES LC-MS $m/z = 849.4$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺;

¹H RMN (400 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm 11.60 – 12.11 (m, 2 H), 7.54 (m, 2
 20 H), 7.39 (s, 2 H), 7.17 (m, 2 H), 7.05 – 7.13 (m, 2 H), 6.94 – 7.04 (m, 1 H), 6.72
 (m, 2 H), 5.07 (m, 2 H), 4.78 (m, 2 H), 4.39 (m, 1 H), 4.25 (m, 2 H), 3.49 – 3.58
 (m, 7 H), 3.44 (m, 2 H), 3.17- 3.22 (m, 6 H), 2.75 (m, 2 H), 2.29 – 2.43 (m, 2 H),
 2.09 (m, 3 H), 1.92 – 2.03 (m, 1 H), 1.80 – 1.89 (m, 2H), 1.68 – 1.79 (m, 2 H),
 25 1.51 (m, 3 H), 0.95 – 1.14 (m, 6 H).

Preparación del Ejemplo 3:



10

Intermediario 4: ((2S,3R)-3-hidroxi-1-((2S,3aS,6aS)-2-(5-(6-(2-((2S,3aS,6aS)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-il)-1H-imidazol-5-il)-bifenilen-2-il)-1H-imidazol-2-il)-hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1(2H)-il)-1-oxo-butan-2-il)-carbamato de metilo

Este intermediario se preparó de una manera similar a aquella explicada para el Ejemplo 1, utilizando 1 equivalente del ácido (2S, 3R)-3-hidroxi-2-((metoxi-carbonil)-amino)-butanoico.

Rendimiento : 18 por ciento; ES LC-MS $m/z = 662.3$ ($M+H$)⁺;

15 ¹H RMN (400 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm 11.53 -12.09 (m, 2 H), 7.41 (m, 1 H), 7.19 (m, 5 H), 6.74 (m, 2 H), 5.10 (s, 1 H), 4.71 (s, 1 H), 4.19 (s, 1 H), 3.98 (m, 1 H), 3.80 - 3.93 (m, 1 H), 3.67 - 3.78 (m, 1 H), 3.60 - 3.68 (m, 1 H), 3.56 (s, 3 H), 2.69 (m, 1 H), 2.54 -2.60 (m, 2 H), 2.35 (m, 2 H), 2.19 -2.31 (m, 1H), 2.07 (m, 2 H), 1.78 (m, 3 H), 1.48 (m, 8 H), 1.07 (m, 4 H).

20 Ejemplo 3: [(1S,2R)-1-[[[(2S,3aS,6aS)-2-[4-(6-{2-[(2S,3aS,6aS)-1-((2S,3R)-3-hidroxi-2-[[[(metiloxi)-carbonil]-amino]-butanoil)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-il]-1H-imidazol-4-il]-2-bifenilenil)-1H-imidazol-2-il]-hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1(2H)-il]-carbonil]-2-(metiloxi)-propil]-carbamato de metilo

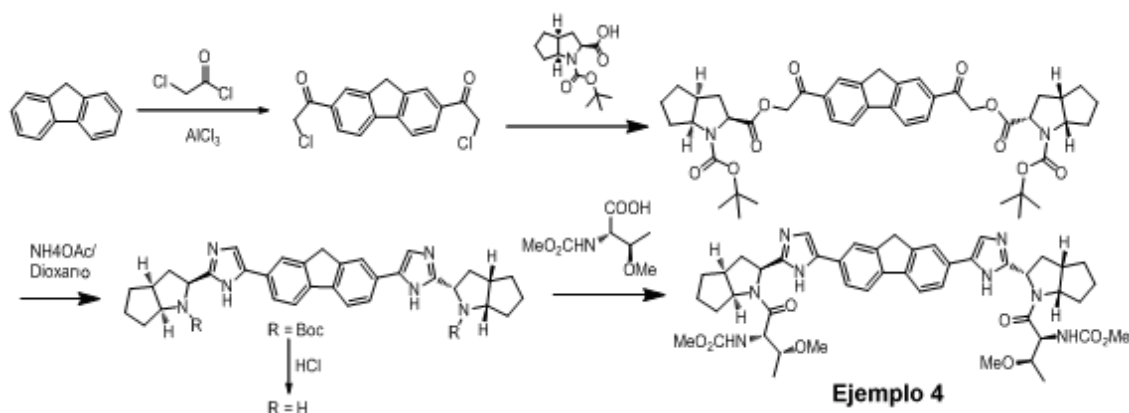
25 Este Ejemplo se hizo de una manera similar a aquella explicada para el Ejemplo 1, utilizando el ácido (2S,3R)-3-metoxi-2-((metoxi-carbonil)-amino)-

butanoico.

Rendimiento : 14 por ciento; ES LC-MS m/z = 835.4 (M+H)⁺;

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 11.50 -12.15 (m, 2 H), 7.55 (m, 1 H), 7.41 (s, 1 H), 7.19 - 7.35 (m, 3H), 7.09 (s, 1 H), 6.74 (m, 2 H), 5.09 (m, 1 H), 4.80 (m, 1 H), 4.65 - 4.76 (m, 1 H), 4.42 (m, 1 H), 4.28 (s, 1 H), 4.13 - 4.25 (m, 1 H), 3.82 - 4.10 (m, 1 H), 3.74 (m, 1 H), 3.56 (s, 6 H), 3.40 (s, 2 H), 3.36 -3.38 (m, 2 H), 3.24 - 3.32 (m, 2 H), 3.17 - 3.24 (m, 1 H), 2.75 (s, 2 H), 2.57 (m, 1 H), 2.47 (m, 1H), 2.35 (m, 1 H), 2.09 (s, 3 H), 2.01 (s, 1 H), 1.77 (m, 4 H), 1.54 (m, 4 H), 1.21 (s, 1 H), 1.07 (m, 5 H).

Preparación del Ejemplo 4:



1,1'-(9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(2-cloro-etano)

A una solución agitada de cloruro de 2-cloro-acetilo (1.589 mililitros, 19.97 milimoles), y tricloruro de aluminio (2.66 gramos, 19.97 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (20 mililitros), se le agregó por goteo 9H-fluoreno (0.83 gramos, 4.99 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (20 mililitros), durante 5 minutos a temperatura ambiente, y se dejó agitando durante 2 horas. La mezcla de reacción se agregó entonces a una mezcla de metanol (50 mililitros) y H₂O (50 mililitros), y se enfrió hasta -5°C. La pasta acuosa se calentó hasta la temperatura ambiente, se agitó durante 30 a 60 minutos, y se recolectaron los sólidos. Los sólidos se lavaron bien con H₂O, y se secaron a 50-60°C hasta obtener un peso constante.

Rendimiento: 1 gramo, 54.6 por ciento; ES LC-MS m/z = 320.7 (M+H)⁺;

^1H RMN (400 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm 8.26 (s, 2H), 8.22 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 8.09 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 5.27 (s, 4H), 4.14 (s, 2H).

1-diterbutil-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1,2(2H)-dicarboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-O'2,O2-((9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(2-oxoetan-2,1-di-ilo))

Se mezclaron 1,1'-(9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(2-cloro-etanona) (1 gramo, 2.73 milimoles), ácido (2S,3aS,6aS)-1-(terbutoxi-carbonil)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-carboxílico (1.461 gramos, 5.72 mili-moles) en acetonitrilo (45 mililitros), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (2.86 mililitros, 16.35 milimoles), y se agitaron durante 6 horas a 70°C. La mezcla de reacción entonces se filtró para remover los sólidos insolubles, los cuales se lavaron con acetonitrilo adicional (5 mililitros, 2 veces). La mezcla orgánica se redujo hasta aproximadamente 20 mililitros y se agregó a H₂O agitando vivamente (100 mililitros). La pasta acuosa resultante se enfrió a 0-5°C, y se añejó durante 2 horas. Los sólidos se recolectaron mediante filtración, se lavaron con H₂O, y se secaron a 50-60°C hasta obtener un peso constante.

Rendimiento: 2.1 gramos, 71.3 por ciento; ES LC-MS *m/z* = 755.4 (*M-H*⁺);

2,2'-(5,5'-(9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1(2H)-carboxilato) de (2S,2'S,3aS, 3a'S,6aS,6a'S)-diterbutilo

A una solución agitada del 1-diterbutil-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1,2(2H)-dicarboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS, 6a'S)-O'2,O2-((9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(2-oxoetan-2,1-di-ilo)) (2 gramos, 1.850 milimoles) en 1,4-dioxano seco (18.50 mililitros), se le agregó acetato de amonio (3.56 gramos, 46.2 milimoles) (25 equivalentes). La reacción se puso a reflujo durante 6 horas. La reacción se enfrió ligeramente, entonces se filtró caliente, y se concentró. Este material crudo se purificó sobre gel de sílice eluido con el 0 al 7 por ciento de amoníaco 2M en metanol (MeOH) en dicloro-metano (DCM). Las fracciones se

concentraron, para dar el compuesto del título como un sólido color café.

Rendimiento: 900 miligramos, 59 por ciento; ES LC-MS m/z = 715.4($M+H^+$);

5 2,7-bis-(2-((2S,3aS,6aS)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-il)-1H-imidazol-5-il)-9H-fluoreno, 4-Clorhidrato

A una solución agitada del 2,2'-(5,5'-(9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1(2H)-carboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-diterbutilo (900 mili-gramos, 1.092 milimoles) en 10 1,4-dioxano seco (10 mililitros), y metanol (MeOH) (2 mililitros), se le agregó HCl (4M en 1,4-dioxano, 7.59 mililitros, 30.4 milimoles). La reacción se agitó durante 1 hora, y entonces el sólido se recolectó mediante filtración. El sólido se lavó dos veces con 1,4-dioxano y dos veces con éter. El sólido se secó para dar un sólido color café.

Rendimiento: 600 miligramos, 83 por ciento; ES LC-MS m/z = 517.4 ($M+H^+$);

^1H RMN (400 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm 10.60 (br. s., 2H), 10.01 (br. s., 2H), 7.93 - 8.33 (m, 8H), 4.97 (br. s., 2H), 4.21 (br. s. 2H), 4.10 (s, 2H), 2.91 - 3.09 (m, 2H), 2.62 -2.79 (m, 2H), 1.91 -2.22 (m, 6H), 1.73 -1.84 (m, 2H), 1.61 - 15 1.72 (m, 6H)

Ejemplo 4: ((2S,2'S,3R,3'R))((2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-2,2'-(5,5'-(9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2,1(2H)-di-il))-bis-(3-metoxi-1-oxo-butan-2,1-di-il))-dicarbamato de dimetilo:

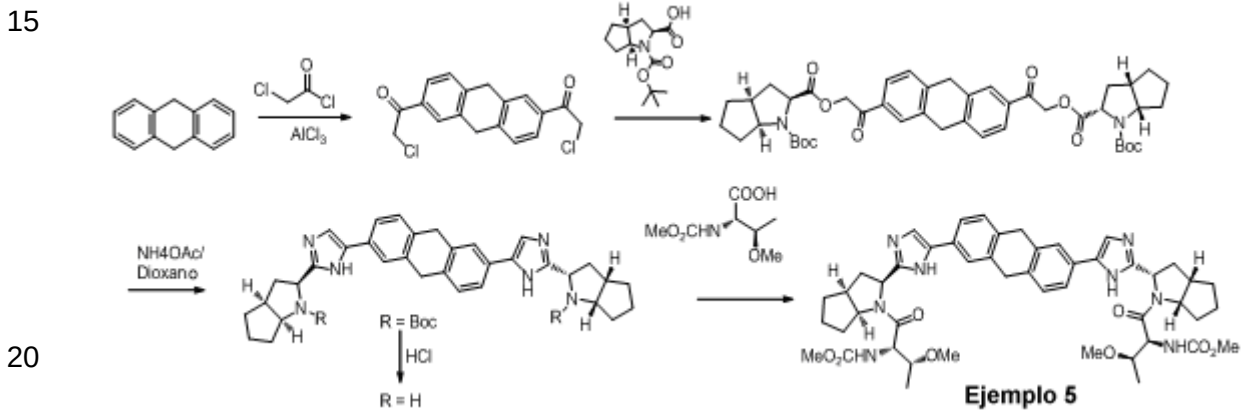
A una solución agitada del ácido (2S,3R)-3-metoxi-2-((metoxi-carbonil)-amino)-butanoico (177 miligramos, 0.928 milimoles) en etanol (5.5 mililitros), se le agregó di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.791 mililitros, 4.53 milimoles), y 2,7-bis-(2-((2S,3aS,6aS)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-il)-1H-imidazol-5-il)-9H-fluoreno, 4-clorhidrato (300 miligramos, 0.453 milimoles). Ésta se colocó en un 20 baño de hielo, y se agregó lentamente T3P al 50 por ciento en acetato de etilo 25

(1.078 mililitros, 1.811 milimoles), manteniendo la temperatura de la reacción por debajo de 10°C. La reacción se agitó a 0°C durante 1 hora. La reacción se filtró y el etanol se removió del filtrado mediante evaporación giratoria. El residuo se disolvió en EtOAc (20 mililitros), y se lavó dos veces con carbonato de sodio 1M, dos veces con cloruro de amonio saturado y luego con salmuera. Los materiales orgánicos se secaron sobre Mg₂SO₄ y se concentraron para dar un sólido color café. Este material crudo se purificó sobre gel de sílice eluido con el 0 al 7 por ciento de amoníaco 2M en metanol (MeOH) hasta dicloro-
10 metano (DCM). Las fracciones deseadas se combinaron y se concentraron para dar un sólido color café.

Rendimiento: 65 miligramos, 15.8 por ciento; ES LC-MS *m/z* = 861.6 (M-
H⁺);

¹H RMN (400 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm 11.30 -12.49 (m, 2H), 6.93 - 8.00 (m, 10H), 5.10 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 4.80 (q, J = 7.6Hz, 2H), 4.33 - 4.49 (m, 1H), 4.15 - 4.33 (m, 2H), 3.83 - 4.03 (m, 2H), 3.50 - 3.59 (m, 8H), 3.12 - 3.27 (m, 6H), 2.58 -2.82 (m, 2H), 2.30 -2.45 (m, 2H), 1.97 -2.21 (m, 4H), 1.69 -1.95 (m, 4H), 1.43 -1.65 (m, 4H), 0.95 -1.28 (m, 7H).

Preparación del Ejemplo 5



1,1'-(9,10-dihidro-antracen-2,6-di-il)-bis-(2-cloro-etanona)

A una solución agitada de cloruro de 2-cloro-acetilo (3.53 mililitros, 44.4 milimoles), y tricloruro de aluminio (5.92 gramos, 44.4 milimoles) en dicloro-
25 metano (DCM) (50 mililitros), se agregó por goteo 9,10-dihidro-antraceno (2

gramos, 11.10 milimoles) en dicloro-metano (DCM) (50 mililitros), durante 5 minutos a temperatura ambiente, y se dejó agitando durante 1 hora. La mezcla de reacción se agregó entonces a una mezcla de metanol (100 mililitros) y H₂O (100 mililitros) enfriada hasta -5°C. La pasta acuosa se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 30 a 60 minutos, y los sólidos se recolectaron y se lavaron bien con H₂O y se secaron a 50-60°C hasta obtener un peso constante.

Rendimiento: 2.2 gramos, 58.9 por ciento; ES LC-MS m/z = 334.9 (M+H⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 7.95 (s, 2H), 7.83 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.52 (d, 2H), 5.17 (s, 4H), 4.08 (s, 4H)

O'2,O2-((9,10-dihidro-antracen-2,6-di-il)-bis-(2-oxoetan-2,1-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1,2(2H)-dicarboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-1-diterbutilo

Se mezclaron 1,1'-(9,10-dihidro-antracen-2,6-di-il)-bis-(2-cloro-etanona) (2 gramos, 6.00 milimoles), ácido (2S,3aS,6aS)-1-(terbutoxi-carbonil)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-carboxílico (3.22 gramos, 12.60 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (6.29 mililitros, 36.0 milimoles) en acetonitrilo (90 mililitros), y se agitaron durante 6 horas a 70°C. La mezcla de reacción entonces se filtró para remover los sólidos insolubles, los cuales se lavaron con acetonitrilo adicional (10 mililitros, 2 veces). La mezcla orgánica se redujo hasta aproximadamente 40 mililitros y, se agregó a H₂O (200 mililitros). La pasta acuosa resultante se enfrió a 0-5°C, y se añejó durante 2 horas. Los sólidos se recolectaron mediante filtración, se lavaron con H₂O, y se secaron a 50-60°C hasta obtener un peso constante.

Rendimiento: 2.5 gramos, 49.2 por ciento; ES LC-MS m/z = 769.3 (M-H⁺);

2,2'-(5,5'-(9,10-dihidro-antracen-2,6-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1(2H)-carboxilato) de (2S,2'S,

3aS,3a'S,6aS,6a'S)-diterbutilo

A una solución agitada del 1-terbutil-hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1,2(2H)-dicarboxilato de (2S,3aS,6aS)-2-(2-(6-(2-(((2R,3aS, 6aS)-1-(terbutoxi-carbonil)-octahidropentalen-2-carbonil)-oxi)-acetil)-9,10-dihidro-antracen-2-il)-2-oxo-etilo) (2.5 gramos, 2.95 mili-moles) en 1,4-dioxano seco (29.5 mililitros), se le agregó acetato de amonio (5.69 gramos, 73.9 milimoles). La reacción se puso a reflujo durante 6 horas. La reacción se enfrió ligeramente, entonces se filtró caliente, y se concentró. Este material crudo se purificó sobre gel de sílice eluido con el 0 al 7 por ciento de amoníaco 2M en metanol (MeOH) en dicloro-
 10 metano (DCM). Las fracciones que estaban limpias se combinaron y se concentraron, para dar un sólido color café.

Rendimiento: 400 miligramos, 17.78 por ciento; ES LC-MS m/z = 731.4($M+H^+$);

2,6-bis-(2-((2S,3aS,6aS)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-il)-1H-imidazol-5-il)-9,10-dihidro-antraceno, 4-Clorhidrato

A una solución agitada del 2,2'-(5,5'-(9,10-dihidro-antracen-2,6-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1(2H)-carboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-diterbutilo (400 miligramos, 0.547 milimoles) en 1,4-dioxano seco (5 mililitros) y metanol (MeOH) (1 mililitro), se le agregó HCl (4M en 1,4-dioxano, 3.80 mililitros, 15.21 milimoles). La reacción se agitó durante 1 hora, entonces el sólido se recolectó mediante filtración. El sólido se lavó dos veces con 1,4-dioxano y dos veces con éter. El sólido se secó para dar un sólido amarillo.

Rendimiento: 250 miligramos, 66.8 por ciento; ES LC-MS m/z = 531.4 ($M+H^+$);

¹H RMN (400 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm 10.53 (br. s., 2H), 9.81 (br. s., 2H),

8.12 (s, 2H), 7.90 (s, 2H), 7.76 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.45 - 7.58 (m, 2H), 4.90 (br. s., 2H), 4.19 (br. s., 2H), 4.02 (s, 4H), 2.90 - 3.04 (m, 2H), 2.61 - 2.75 (m, 2H), 1.93 - 2.17 (m, 6H), 1.73 - 1.84 (m, 2H), 1.61 - 1.71 (m, 6H)

Ejemplo 5: ((2S,2'S,3R,3'R)((2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-2,2'-(5,5'-(9,10-dihidro-antracen-2,6-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2,1(2H)-di-il))-bis-(3-metoxi-1-oxo-butan-2,1-di-il))-dicarbamato de dimetilo:

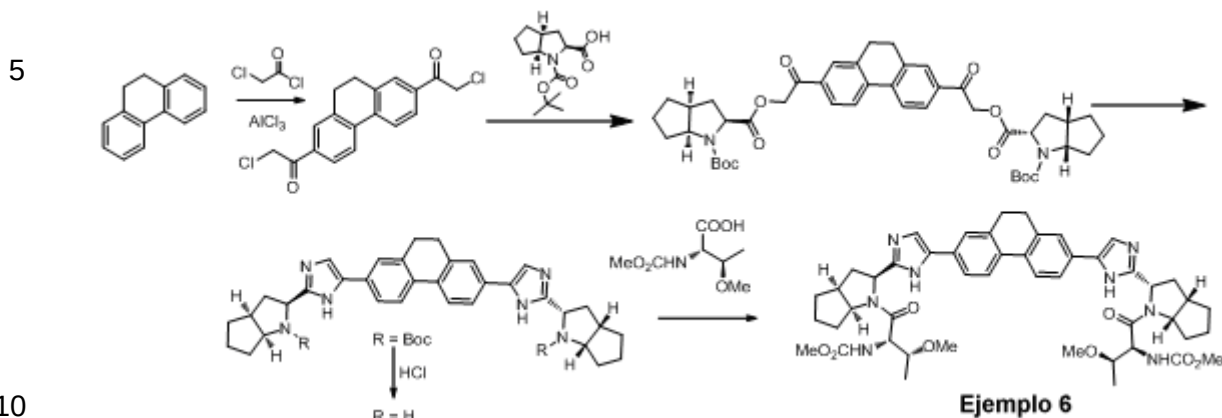
A una solución agitada del ácido (2S,3R)-3-metoxi-2-((metoxi-carbonil)-amino)-butanoico (130 miligramos, 0.682 milimoles) en Etanol (5 mililitros), se le agregaron di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.581 mililitros, 3.33 milimoles), y 2,6-bis-(2-((2S,3aS,6aS)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-il)-1H-imidazol-5-il)-9,10-dihidro-antraceno, 4-Clorhidrato (225 miligramos, 0.333 milimoles). Ésta se colocó en un baño de hielo, y se agregó lentamente T3P al 50 por ciento en acetato de etilo (0.792 mililitros, 1.330 milimoles), manteniendo la temperatura de la reacción por debajo de 10°C. La reacción se agitó a 0°C durante 1 hora. La reacción se filtró y el etanol se removió del filtrado mediante evaporación giratoria. El residuo se disolvió en EtOAc (20 mililitros), y se lavó dos veces con carbonato de sodio 1M, dos veces con cloruro de amonio saturado y luego con salmuera. Los materiales orgánicos se secaron sobre Mg₂SO₄ y se concentraron, para dar un sólido amarillo pálido. Este material crudo se purificó sobre gel de sílice eluido con el 0 al 7 por ciento de amoníaco 2M en metanol (MeOH) hasta dicloro-metano (DCM). Las fracciones deseadas se combinaron y se concentraron para dar un sólido amarillo pálido.

Rendimiento: 29 miligramos -9.45 por ciento; ES LC-MS *m/z* = 875.4 (M-H⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11.96 -12.21 (m, 1H), 11.66 (br. s., 1H), 6.93 - 7.75 (m, 10H), 5.06 - 5.18 (m, 2H), 4.71 - 4.89 (m, 2H), 4.16 - 4.34 (m, 2H), 3.84 - 3.95 (m, 4H), 3.65 (s, 1H), 3.52 - 3.60 (m, 9H), 3.24 - 3.27 (m,

1H), 3.18 - 3.22 (m, 4H), 2.75 (br. s., 2H), 2.31 - 2.43 (m, 2H), 1.97 - 2.20 (m, 4H), 1.70 - 1.95 (m, 4H), 1.41 - 1.68 (m, 4H), 0.97 - 1.27 (m, 7H).

Preparación del Ejemplo 6



1,1'-(9,10-dihydrofenantren-2,7-di-il)-bis-(2-cloro-etanona)

A una solución agitada de cloruro de 2-cloro-acetilo (1.765 mililitros, 22.19 milimoles), y tricloruro de aluminio (2.96 gramos, 22.19 milimoles) en 1,2-dicloro-etano (DCE) (20 mililitros), se le agregó por goteo 9,10-dihydrofenantreno (1 gramo, 5.55 milimoles) en 1,2-dicloro-etano (DCE) (20 mililitros), durante 5 minutos a temperatura ambiente, y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente y durante 1 hora a 60°C. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. Entonces se agregó a una mezcla de metanol (50 mililitros) y H₂O (50 mililitros), y se enfrió hasta -5°C.

15 La pasta acuosa se calentó hasta la temperatura ambiente, se agitó durante 30 a 60 minutos, y se recolectaron los sólidos. Los sólidos se lavaron bien con H₂O y se secaron a 50-60°C hasta obtener un peso constante.

Rendimiento: 500 miligramos, 26.5 por ciento; ES LC-MS m/z = 333.2

(M+H⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8.09 - 8.14 (m, 2H), 7.92 - 7.99 (m, 4H), 5.24 (s, 4H), 2.95 (s, 4H).

O'2,O2'-((9,10-dihydrofenantren-2,7-di-il)-bis-(2-oxoetan-2,1-di-il)) bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1,2(2H)-dicarboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-1-diterbutilo

Se mezclaron 1,1'-(9,10-dihidrofenantren-2,7-di-il)-bis-(2-cloro-etanona) (500 miligramos, 1.501 milimoles), ácido (2S,3aS,6aS)-1-(terbutoxi-carbonil)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-carboxílico (805 miligramos, 3.15 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1.572 mililitros, 9.00 milimoles) en acetonitrilo (22 mililitros), y se agitaron durante 6 horas a 70°C. La mezcla de reacción entonces se filtró para remover los sólidos insolubles, los cuales se lavaron con acetonitrilo adicional (5 mililitros, 2 veces). La mezcla orgánica se redujo hasta aproximadamente 10 mililitros, y se agregó a H₂O (50 mililitros). La pasta acuosa resultante se enfrió a 0-5°C, y se añejó durante 2 horas. Los sólidos se recolectaron mediante filtración, se lavaron con H₂O, y se secaron a 50 - 60°C hasta obtener un peso constante.

Rendimiento: 1 gramo, 86 por ciento; ES LC-MS m/z = 771.3 ($M+H^+$);
2,2'-(5,5'-(9,10-dihidrofenantren-2,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-
(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1(2H)-carboxilato) de (2S,2'S,
3aS,3a'S,6aS,6a'S)-diterbutilo

A una solución agitada del O'2,O2-((9,10-dihidrofenantren-2,7-di-il)-bis-(2-oxoetan-2,1-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1,2(2H)-dicarboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-1-diterbutilo (1.0 gramo, 1.297 milimoles) en 1,4-dioxano seco (12.97 mililitros), se le agregó acetato de amonio (2.500 gramos, 32.4 milimoles) (25 equivalentes). La reacción se puso a reflujo durante 6 horas. La reacción se enfrió ligeramente, entonces se filtró caliente, y se concentró para dar un sólido color café. Este material crudo se purificó sobre gel de sílice eluido con el 0 al 7 por ciento de amoníaco 2M en metanol (MeOH) hasta dicloro-metano (DCM). Las fracciones que estaban limpias se combinaron y se concentraron para dar un sólido color café.

Rendimiento: 800 miligramos a 81 por ciento; ES LC-MS m/z = 731.4($M+H^+$);
2,7-bis-(2-((2S,3aS,6aS)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-il)-1H-imidazol-5-il)-

9,10-dihidrofenantreno, 4-Clorhidrato

A una solución agitada del 2,2'-(5,5'-(9,10-dihidrofenantren-2,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1(2H)-carboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-diterbutilo (800 miligramos, 1.094 milimoles) en 1,4-dioxano seco (10 mililitros) y metanol (MeOH) (2.000 mililitros), se le agregó HCl (4M en 1,4-dioxano, 7.61 mililitros, 30.4 milimoles). La reacción se agitó durante 1 hora, y entonces el sólido se recolectó mediante filtración. El sólido se lavó dos veces con 1,4-dioxano y dos veces con éter, y el sólido se secó para dar un sólido color café.

Rendimiento: 600 miligramos a 67.3 por ciento; ES LC-MS m/z = 529.3 ($M+H^+$);

^1H RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 10.36 (br. s., 1H), 9.49 (br. s., 1H), 8.05 (br. s., 2H), 7.98 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.79 - 7.87 (m, 4H), 4.83 (br. s., 2H), 4.16 (br. s., 4H), 2.96 (br. s., 2H), 2.91 (s, 4H), 2.62 -2.74 (m, 2H), 1.87 -2.16 (m, 6H), 1.75 (br. s., 2H), 1.57 -1.70 (m, 6H).

Ejemplo 6: ((2S,2'S,3R,3'R))((2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-2,2'-(5,5'-(9,10-dihidrofenantren-2,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2,1(2H)-di-il))-bis-(3-metoxi-1-oxo-butan-2,1-di-il))-dicarbamato de dimetilo

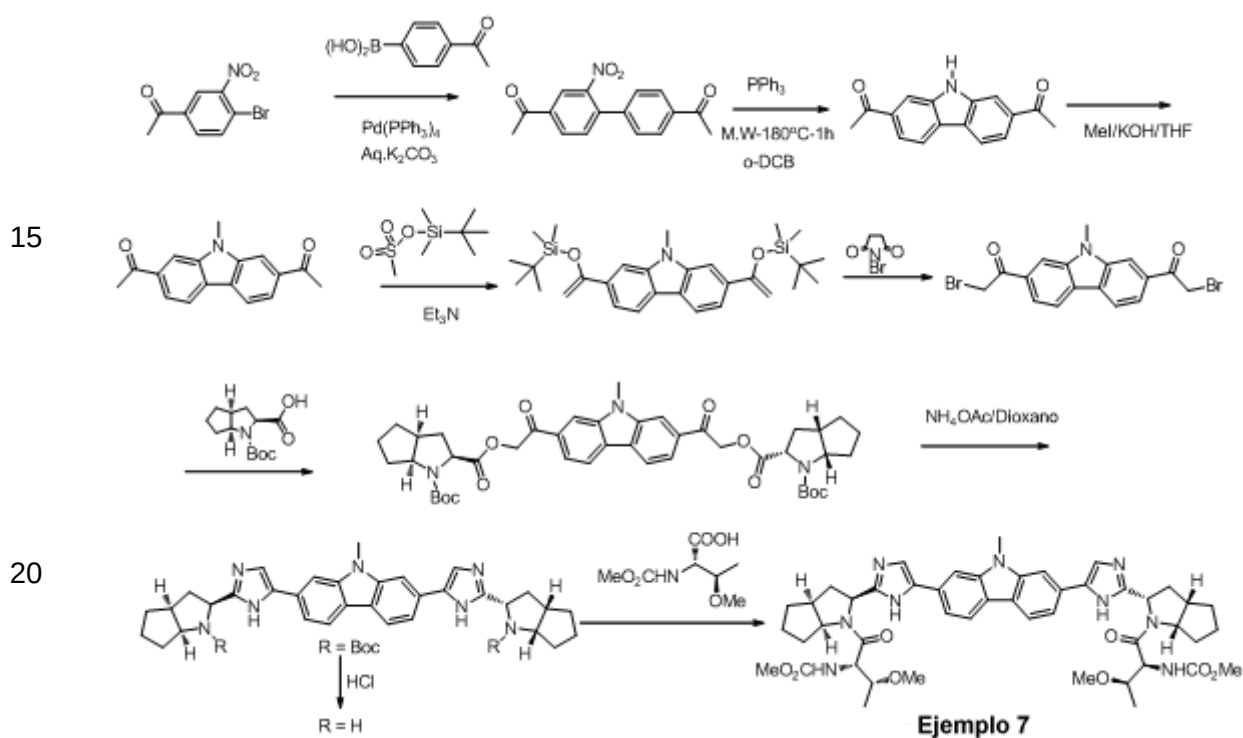
A una solución agitada del ácido (2S,3R)-3-metoxi-2-((metoxi-carbonil)-amino)-butanoico (174 miligramos, 0.909 milimoles) en etanol (6 mililitros), se le agregaron di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.774 mililitros, 4.43 milimoles) y 2,7-bis-(2-((2S,3aS,6aS)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-il)-1H-imidazol-5-il)-9,10-dihidro-fenantreno, 4-clorhidrato (300 miligramos, 0.443 milimoles). Ésta se colocó en un baño de hielo, y se agregó lentamente T3P al 50 por ciento en acetato de etilo (1.056 mililitros, 1.774 milimoles), manteniendo la temperatura de la reacción por debajo de 10°C. La reacción se agitó a 0°C durante 1 hora. La reacción se filtró y el etanol se removió del filtrado mediante evaporación

giratoria. El residuo se disolvió en EtOAc (20 mililitros), y se lavó dos veces con carbonato de sodio 1M, dos veces con cloruro de amonio saturado y luego con salmuera. Los materiales orgánicos se secaron sobre Mg_2SO_4 y se concentraron, para dar un sólido amarillo pálido. Este material crudo se purificó
 5 sobre gel de sílice eluido con el 0 al 7 por ciento de amoníaco 2M en metanol (MeOH) hasta dicloro-metano (DCM). Las fracciones deseadas se combinaron y se concentraron para dar un sólido amarillo pálido.

Rendimiento: 39 miligramos, 11.96 por ciento; ES LC-MS m/z = 875.6
 10 (M-H⁺);

¹H RMN (400 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm 11.99 -12.24 (m, 1H), 11.70 (br. s., 1H), 7.43 - 7.83 (m, 10H), 5.03 - 5.17 (m, 2H), 4.80 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 4.33 - 4.49 (m, 1H), 4.16 - 4.33 (m, 2H), 3.49 - 3.58 (m, 9H), 3.17 - 3.25 (m, 6H), 2.71 - 2.85 (m, 5H), 2.29 - 2.43 (m, 2H), 1.97 - 2.13 (m, 4H), 1.67 - 1.93 (m, 4H), 1.38 - 1.66 (m, 4H), 0.95 - 1.15 (m, 7H).

Preparación del Ejemplo 7



1,1'-(2-nitro-[1,1'-bifenil]-4,4'-di-il)-dietanona

25 La 1-(4-bromo-3-nitro-fenil)-etanona (2 gramos, 8.20 mili-moles), ácido

(4-acetil-fenil)-borónico (2.016 gramos, 12.29 mili-moles), K_2CO_3 acuoso (2M, 12.08 mililitros, 24.17 milimoles), y $Pd(PPh_3)_4$ (0.33 gramos, 0.286 milimoles), se disolvieron en tolueno (40 mililitros), y se calentaron a 110°C durante 2 días. El producto crudo se extrajo con dicloro-metano (DCM), y se purificó sobre gel
 5 de sílice (del 0 al 100 por ciento de EtOAc/Hexano). Las fracciones se concentraron, para dar el compuesto del título como un sólido blanco.

Rendimiento: 1.5 gramos, 64 por ciento; ES LC-MS $m/z = 284.1$ ($M+H^+$);

^1H RMN (CLOROFORMO- d) δ ppm 8.45 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.20 (dd, $J =$
 10 8.0, 1.8 Hz, 1H), 8.00 - 8.05 (m, 2H), 7.54 - 7.58 (m, 1H), 7.39 - 7.44 (m, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.63 (s, 3H).

1,1'-(9H-carbazol-2,7-di-il)-dietanona

La mezcla de trifenil-fosfina (3.47 gramos, 13.24 milimoles), y 1,1'-(2-nitro-[1,1'-bifenil]-4,4'-di-il)-dietanona (1.5 gramos, 5.30 mili-moles) en 1,2-dicloro-benceno (o-DCB) (15.90 mililitros), se calentó a 180°C bajo irradiación con microondas durante 1 hora. La mezcla de reacción se enfrió y se vertió en el hexano (50 mililitros). La mayor parte del impurezas se removieron mediante la precipitación a partir de hexano. El compuesto se purificó adicionalmente sobre gel de sílice ((del 0 al 100 por ciento de EtOAc/Hexano). Las fracciones
 15 se concentraron, para dar el compuesto del título como un sólido amarillo.

Rendimiento: 1 gramo, 74.4 por ciento; ES LC-MS $m/z = 252.1$ ($M+H^+$);

^1H RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 11.79 (s, 1H), 8.31 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 8.10 - 8.18 (m, 2H), 7.81 (dd, $J = 8.2, 1.4$ Hz, 2H), 2.68 (s, 6H).

1,1'-(9-metil-9H-carbazol-2,7-di-il)-dietanona

20 Se agregó yodo-metano (0.747 mililitros, 11.94 milimoles) a la mezcla de 1,1'-(9H-carbazol-2,7-di-il)-dietanona (1 gramo, 3.98 mili-moles) e hidróxido de potasio (0.223 gramos, 3.98 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (20 mililitros), y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El solvente se removió
 25 entonces bajo presión reducida, y el producto crudo se extrajo con dicloro-

metano (DCM), y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó para obtener el producto puro como un sólido amarillo.

Rendimiento: 1 gramo, 93 por ciento; ES LC-MS m/z = 266.1(M+H⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8.33 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 8.25 (s, 2H), 7.79 - 7.87 (m, 2H), 4.03 (s, 3H), 2.71 (s, 6H).

2,7-bis-(1-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-vinil)-9-metil-9H-carbazol

A una mezcla de la 1,1'-(9-metil-9H-carbazol-2,7-di-il)-dietanona (400 miligramos, 1.508 milimoles), y trietil-amina (848 mililitros, 6034 milimoles) en tolueno (12 mililitros), se le agregó trifluoro-metan-sulfonato de terbutil-dimetil-sililo (1.040 mililitros, 4.52 milimoles), a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos a la misma temperatura, y entonces se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrajo entonces con acetato de etilo, la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró hasta la sequedad, para dar el producto deseado.

Rendimiento: 700 miligramos - 94 por ciento;

¹H RMN (CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7.95 - 8.00 (m, 2H), 7.66 (d, J = 1.0 Hz, 2H), 7.47 - 7.51 (m, 2H), 5.03 (d, J = 1.6 Hz, 2H), 4.50 (d, J = 1.6 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 1.05 (s, 18H), 0.24 (s, 12H).

1,1'-(9-metil-9H-carbazol-2,7-di-il)-bis-(2-bromo-etanona)

Se agregó NBS (505 miligramos, 2.83 milimoles) al 2,7-bis-(1-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-vinil)-9-metil-9H-carbazol (700 miligramos, 1.417 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (20 mililitros) a 0°C, y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 30 minutos. La suspensión amarilla se filtró y se secó para dar el producto deseado.

Rendimiento: 500 miligramos, 83 por ciento;

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8.34 - 8.44 (m, 4H), 7.89 (dd, J = 8.3, 1.3 Hz, 2H), 5.10 (s, 4H), 4.06 (s, 4H).

O'2,O2-((9-metil-9H-carbazol-2,7-di-il)-bis-(2-oxoetan-2,1-di-il))-bis-(hexahidro-

ciclopenta-[b]-pirrol-1,2(2H)-dicarboxilato) de (2S,2'S, 3aS,3a'S,6aS,6a'S)-1-diterbutilo

La 1,1'-(9-metil-9H-carbazol-2,7-di-il)-bis-(2-bromo-etanona) (500 miligramos, 1.182 milimoles), ácido (2S,3aS,6aS)-1-(terbutoxi-carbonil)-
 5 octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-carboxílico (634 mili-gramos, 2.482 milimoles), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1.238 mililitros, 7.09 milimoles), se absorbieron en acetonitrilo (20 mili-litros), y se agitaron durante 3 horas a 70°C. La mezcla de reacción se filtró para remover los sólidos insolubles, los cuales se lavaron
 10 con acetonitrilo adicional (5 mililitros, 2 veces). La mezcla orgánica se redujo hasta aproximadamente 10 mililitros, y se agregó a H₂O (50 mililitros). La pasta acuosa resultante se enfrió a 0-5°C, y se añejó durante 2 horas. Los sólidos se recolectaron mediante filtración, se lavaron con H₂O, y se secaron a 50-60°C hasta obtener un peso constante.

Rendimiento: 800 miligramos, 83 por ciento; ES LC-MS m/z = 772.6 (M+H⁺);

2,2'-(5,5'-(9-metil-9H-carbazol-2,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1(2H)-carboxilato) de (2S,2'S, 3aS,3a'S,6aS,6a'S)-diterbutilo

15 A una solución agitada del O'2,O2'-((9-metil-9H-carbazol-2,7-di-il)-bis-(2-oxoetan-2,1-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1,2(2H)-dicarboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-1-diterbutilo (800 miligramos, 0.985 milimoles) en 1,4-dioxano seco (10 mililitros), se le agregó acetato de amonio (1897 miligramos, 24.61 milimoles) (25 equivalentes). La reacción se puso a reflujo
 20 durante 6 horas. La reacción se enfrió ligeramente, se filtró, y se concentró. Este material crudo se purificó sobre gel de sílice eluido con el 0 al 7 por ciento de amoníaco 2M en metanol (MeOH) en dicloro-metano (DCM). Las fracciones que estaban limpias se combinaron y se concentraron para dar un sólido color
 25 café.

Rendimiento: 250 miligramos, 26.4 por ciento; ES LC-MS m/z = 732.7
($M+H^+$);

5 9-metil-2,7-bis-(2-((2S,3aS,6aS)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-il)-1H-imidazol-5-il)-9H-carbazol, 4-Clorhidrato

A una solución agitada del 2,2'-(5,5'-(9-metil-9H-carbazol-2,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1(2H)-carboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-diterbutilo (250 miligramos, 0.260 milimoles) en 1,4-
10 dioxano seco (3 mililitros) y metanol (MeOH) (0.600 mililitros), se le agregó HCl (4M en 1,4-dioxano, 1.804 mililitros, 7.22 milimoles). La reacción se agitó durante 1 hora, y entonces el sólido se recolectó mediante filtración. El sólido se lavó dos veces con 1,4-dioxano y dos veces con éter. El sólido se secó para dar un sólido color café.

Rendimiento: 150 miligramos, 69.9 por ciento; ES LC-MS m/z = 532.3
($M+H^+$);

^1H RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 10.39 (br. s., 2H), 9.60 (br. s., 2H), 8.20 - 8.29 (m, 4H), 8.17 (br. s., 2H), 7.71 - 7.76 (m, 2H), 4.88 (br. s., 2H), 4.18 (br. s., 2H), 3.94 - 4.00 (m, 3H), 2.98 (br. s., 2H), 2.63 - 2.77 (m, 2H), 1.89 - 2.21
15 (m, 6H), 1.75 (br. s., 2H), 1.58 - 1.70 (m, 6H).

Ejemplo 7: ((2S,2'S,3R,3'R))((2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-2,2'-(5,5'-(9-metil-9H-carbazol-2,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2,1(2H)-di-il))-bis-(3-metoxi-1-oxo-butan-2,1-di-il))-dicarbamato de dimetilo
20

A una solución agitada del ácido (2S,3R)-3-metoxi-2-((metoxi-carbonil)-amino)-butanoico (87 miligramos, 0.454 milimoles) en etanol (3 mililitros), se le agregaron di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.387 mililitros, 2.214 milimoles), y 9-metil-2,7-bis-(2-((2S,3aS,6aS)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-il)-1H-imidazol-5-il)-9H-carbazol, 4-Clorhidrato (150 miligramos, 0.221 milimoles). Ésta se colocó
25

en un baño de hielo, y se agregó lentamente T3P al 50 por ciento en acetato de
 etilo (0.527 mililitros, 0.886 milimoles), manteniendo la temperatura de la
 reacción debajo de 10°C. La reacción se agitó a 0°C durante 1 hora. La
 reacción se filtró y el etanol se removió del filtrado mediante evaporación
 5 giratoria. El residuo se disolvió en EtOAc (10 mililitros), y se lavó dos veces con
 carbonato de sodio 1M, dos veces con cloruro de amonio saturado, y luego con
 salmuera. Los materiales orgánicos se secaron sobre Mg_2SO_4 y se
 concentraron, para dar un sólido color café. Este material crudo se purificó
 10 sobre gel de sílice eluido con el 0 al 7 por ciento de amoníaco 2M en metanol
 (MeOH) hasta dicloro-metano (DCM). Las fracciones deseadas se combinaron y
 se concentraron para dar un sólido amarillo pálido.

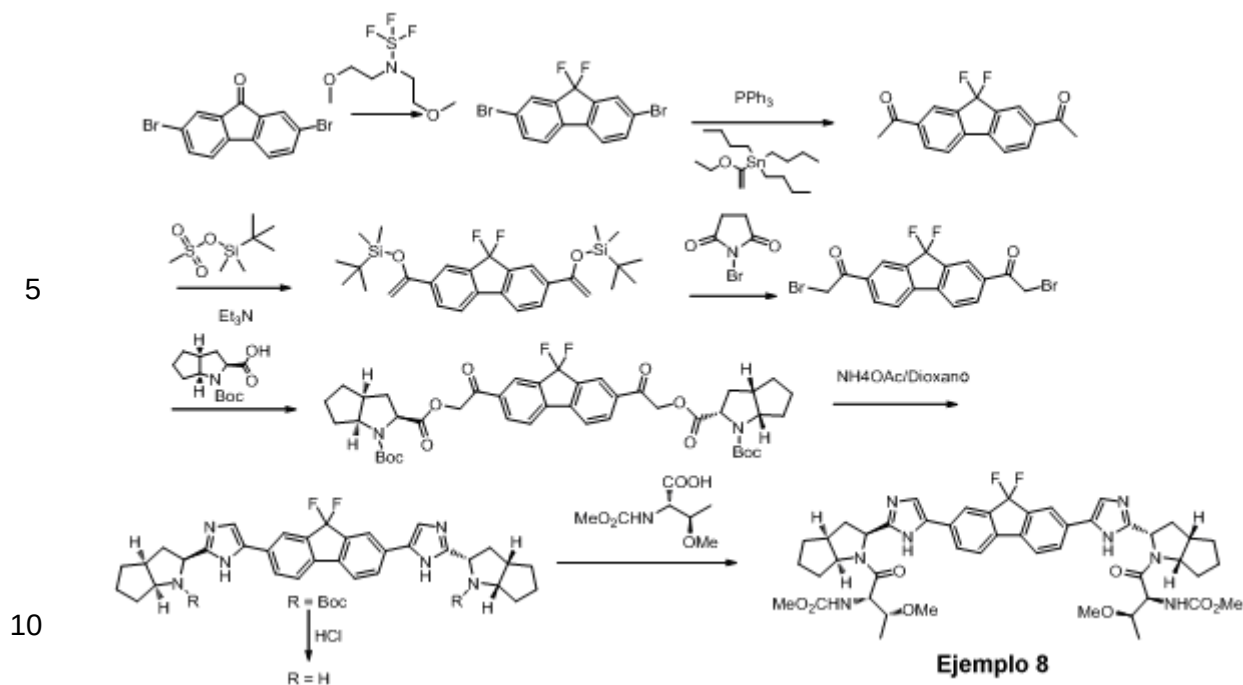
Rendimiento: 25 miligramos – 15.53 por ciento; ES LC-MS m/z = 876.5
 (M-H⁺);

¹H RMN (400 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm 11.89 -12.51 (m, 1H), 11.68 (br. s.,
 1H), 7.25 - 8.19 (m, 10H), 4.98 - 5.22 (m, 2H), 4.70 - 4.88 (m, 2H), 4.34 - 4.45
 (m, 1H), 4.16 - 4.33 (m, 2H), 3.77 - 3.93 (m, 3H), 3.49 - 3.55 (m, 8H), 3.13 - 3.24
 (m, 6H), 2.62 -2.83 (m, 2H), 2.28 -2.42 (m, 2H), 1.95 -2.21 (m, 4H), 1.66 -1.93
 (m, 4H), 1.36 -1.65 (m, 4H), 0.94 -1.19 (m, 7H).

15 Preparación del Ejemplo 8

20

25



2,7-dibromo-9,9-difluoro-9H-fluoreno

Se agregó Desoxofluór (8 mililitros, 43.4 milimoles) a la 2,7-dibromo-9H-fluoreno-9-ona (1 gramo, 2.96 milimoles), seguido por dos gotas de etanol. La mezcla de reacción se calentó a 90°C durante 2 días. La mezcla se enfrió y se vertió en agua helada, y entonces se neutralizó con una solución saturada de bicarbonato de sodio. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo, y se lavó con una solución saturada de bicarbonato de sodio. La capa orgánica se secó (Na₂SO₄), y se concentró. El producto crudo se purificó sobre gel de sílice eluido con el 0 al 20 por ciento de acetato de etilo en hexano. Las fracciones deseadas se concentraron, para dar un sólido blanco.

Rendimiento: 900 miligramos, 84 por ciento;

¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 7.74 (d, J = 1.6 Hz, 2H), 7.60 (dd, J = 7.7, 1.3 Hz, 2H), 7.41 (d, J = 8.2 Hz, 2H).

20

1,1'-(9,9-difluoro-9H-fluoren-2,7-di-il)-dietanona

Una mezcla de 2,7-dibromo-9,9-difluoro-9H-fluoreno (900 mili-gramos, 2.500 milimoles), tributil-(1-etoxivinil)-estaño (3.38 mililitros, 10.00 milimoles), y Pd(Ph₃P)₄ (289 miligramos, 0.250 milimoles) en 1,4-dioxano (25 mililitros), se desgasificó con nitrógeno durante 10 minutos, y entonces se calentó a 90°C

25

durante la noche bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente, y se agregaron 15 mililitros de HCl al 10 por ciento, y entonces se agitó durante 1 hora. La mezcla se extrajo con acetato de etilo, y la capa orgánica se lavó con agua y salmuera. Los materiales orgánicos se
 5 secaron (Na_2SO_4), y se concentraron. El material crudo se purificó sobre gel de sílice utilizando del 0 al 100 por ciento de acetato de etilo en hexano. Las fracciones deseadas se concentraron, para dar un sólido blanco.

Rendimiento: 600 miligramos, 84 por ciento; ES LC-MS m/z =
 10 287.1($\text{M}+\text{H}^+$);

^1H RMN (CLOROFORMO- d) δ ppm 8.22 (d, J = 1.0 Hz, 2H), 8.14 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.73 (d, 2H), 2.65 (s, 6H).

(((9,9-difluoro-9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(eten-1,1-di-il))-bis-(oxi))-bis-(terbutil-dimetil-silano)

A una mezcla de la 1,1'-(9,9-difluoro-9H-fluoren-2,7-di-il)-dietanona (600 miligramos, 2.096 milimoles), y trietil-amina (1.178 mililitros, 8.38 milimoles) en tolueno (20 mililitros), se le agregó trifluoro-metan-sulfonato de terbutil-dimetil-sililo (1.358 mililitros, 6.29 milimoles), a 0°C . La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos a la misma temperatura, y entonces se agitó durante 3
 15 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrajo entonces con acetato de etilo, la capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró hasta la sequedad, para dar el producto deseado.

Rendimiento: 960 miligramos, 89 por ciento;

^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ ppm 7.83 (d, J = 1.2 Hz, 2H),
 20 7.71 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.49 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 4.95 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 4.47 (d, J = 2.1 Hz, 2H), 1.00 (s, 18H), 0.21 (s, 12H).

1,1'-(9,9-difluoro-9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(2-bromo-etanona)

Se agregó NBS (680 miligramos, 3.82 milimoles) al (((9,9-difluoro-9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(eten-1,1-di-il))-bis-(oxi))-bis-(terbutil-dimetil-silano) (0.800
 25

mililitros, 1.865 milimoles) en tetra-hidrofurano (THF) (20 mililitros) a 0°C, y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 1 hora. La mezcla orgánica se redujo a 10 mililitros, y entonces la suspensión blanca se filtró y se secó para dar el producto deseado.

5

Rendimiento: 500 miligramos, 60.4 por ciento;

¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 7.95 - 8.00 (m, 2H), 7.66 (d, J = 1.0 Hz, 2H), 7.47 - 7.51 (m, 2H), 5.03 (d, J = 1.6 Hz, 2H), 4.50 (d, J = 1.6 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 1.05 (s, 18H), 0.24 (s, 12H).

10

O'2,O2-((9,9-difluoro-9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(2-oxoetan-2,1-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1,2(2H)-dicarboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-1-diterbutilo

15

Se mezclaron 1,1'-(9,9-difluoro-9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(2-bromoetanona) (500 miligramos, 1.126 milimoles), ácido (2S,3aS,6aS)-1-(terbutoxicarbonil)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-carboxílico (604 miligramos, 2.365 milimoles) en acetonitrilo (20 mililitros), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (1.180 mililitros, 6.76 milimoles), y se agitaron durante 3 horas a 70°C. La mezcla de reacción entonces se filtró para remover los sólidos insolubles, los cuales se lavaron con acetonitrilo adicional (5 mililitros, 2 veces). La mezcla orgánica se redujo hasta aproximadamente 10 mililitros, y se agregó a H₂O agitándose vivamente (50 mililitros). La pasta acuosa resultante se enfrió a 0-5°C, y se añejó durante 2 horas. Los sólidos se recolectaron mediante filtración, se lavaron con H₂O, y se secaron a 50-60°C hasta obtener un peso constante.

20

Rendimiento: 800 miligramos, 89 por ciento; ES LC-MS *m/z* = 791.4 (M-H⁺);

2,2'-(5,5'-(9,9-difluoro-9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1(2H)-carboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-diterbutilo

25

A una solución agitada del O'2,O2-((9,9-difluoro-9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-

(2-oxoetan-2,1-di-il))-bis-(hexahidrociclopenta-[b]-pirrol-1,2(2H)-dicarboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-1-diterbutilo (800 miligramos, 1.009 milimoles) en 1,4-dioxano seco (10 mililitros), se le agregó acetato de amonio (1.944 gramos, 25.2 milimoles) (25 equivalentes). La reacción se puso a reflujo durante 6 horas.

5 La reacción se enfrió ligeramente, entonces se filtró caliente, y se concentró. Este material crudo se purificó sobre gel de sílice eluido con el 0 al 7 por ciento de amoníaco 2M en metanol (MeOH) en dicloro-metano (DCM). Las fracciones que estaban limpias se combinaron y se concentraron para dar un sólido color

10 café.

Rendimiento: 350 miligramos, 41.5 por ciento; ES LC-MS m/z = 753.4 (M+H⁺);

(2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-2,2'-(5,5'-(9,9-difluoro-9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol), 4-Clorhidrato

A una solución agitada del 2,2'-(5,5'-(9,9-difluoro-9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1-(2H)-carboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-diterbutilo (350 miligramos, 0.465 milimoles) en 1,4-dioxano seco (3 mililitros) y metanol (MeOH) (0.600 mililitros), se le agregó HCl (4M en 1,4-dioxano, 3.23 mililitros, 12.92 milimoles). La reacción se agitó

15 durante 1 hora, y entonces el sólido se recolectó mediante filtración. El sólido se lavó dos veces con 1,4-dioxano y dos veces con éter. El sólido se secó para dar un sólido color café.

Rendimiento: 150 miligramos, 44.8 por ciento; ES LC-MS m/z = 551.2 (M-H⁺);

20 Ejemplo 8: ((2S,2'S,3R,3'R))((2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-2,2'-(5,5'-(9,9-difluoro-9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2,1(2H)-di-il))-bis-(3-metoxi-1-oxo-butan-2,1-di-il))-dicarbamato de dimetilo

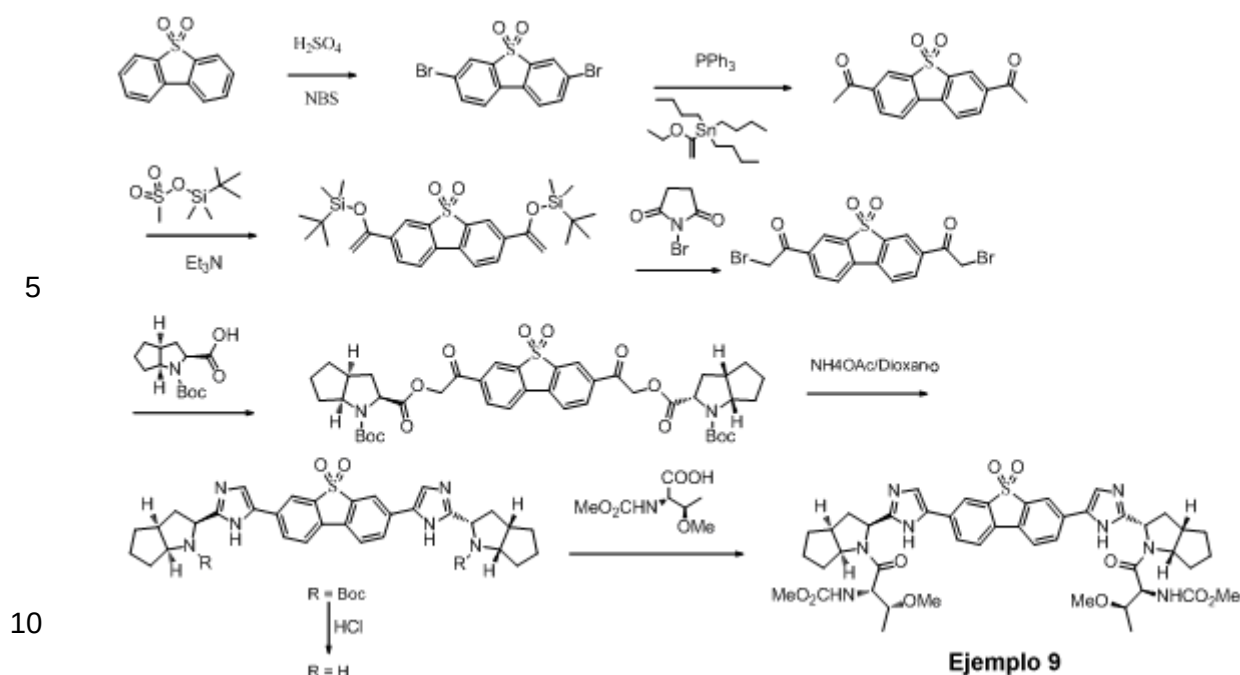
25 A una solución agitada del ácido (2S,3R)-3-metoxi-2-((metoxi-carbonil)-

amino)-butanoico (46.0 miligramos, 0.241 milimoles) en etanol (3 mililitros), se le agregaron di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.205 mililitros, 1.174 milimoles), y (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-2,2'-(5,5'-(9,9-difluoro-9H-fluoren-2,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol), 4-Clorhidrato (100 miligramos, 0.117 milimoles). Ésta se colocó en un baño de hielo, y se agregó lentamente T3P al 50 por ciento en acetato de etilo (0.279 mililitros, 0.470 milimoles), manteniendo la temperatura de la reacción por debajo de 10°C. La reacción se agitó a 0°C durante 1 hora. La reacción se filtró y el etanol se removi6 del filtrado mediante evaporaci6n giratoria. El residuo se disolvi6 en EtOAc (10 mililitros), y se lav6 dos veces con carbonato de sodio 1M, dos veces con cloruro de amonio saturado, y luego con salmuera. Los materiales org6nicos se secaron sobre Mg₂SO₄ y se concentraron, para dar un s6lido color caf6. Este material crudo se purific6 sobre gel de s6lice eluido con el 0 al 7 por ciento de amon6aco 2M en metanol (MeOH) en dicloro-metano (DCM). Las fracciones deseadas que estaban limpias se combinaron y se concentraron para dar un s6lido amarillo p6lido.

Rendimiento: 8 miligramos, 6.97 por ciento; ES LC-MS *m/z* = 897.4 (M-H⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11.73 -12.46 (m, 2H), 7.36 - 8.04 (m, 10H), 5.07 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 4.78 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 4.14 - 4.45 (m, 2H), 3.46 - 3.54 (m, 7H), 3.14 - 3.22 (m, 6H), 2.60 -2.83 (m, 2H), 2.28 -2.39 (m, 2H), 2.01 -2.19 (m, 3H), 1.90 -2.01 (m, 2H), 1.66 -1.90 (m, 4H), 1.54 (br. s., 3H), 1.38 -1.47 (m, 2H), 0.93 -1.13 (m, 7H).

Preparaci6n del Ejemplo 9



5,5-dióxido de 3,7-dibromo-dibenzo-[b,d]-tiofeno

A una solución del 5,5-dióxido de dibenzo-[b,d]-tiofeno (2 gramos, 9.25 milimoles) en H_2SO_4 concentrado (60 mililitros), se le agregó NBS (3.29 gramos, 18.50 milimoles), a temperatura ambiente. Después de 24 horas, la solución se vertió en agua helada cuidadosamente. Los sólidos incoloros se filtraron y se lavaron con agua y metanol (MeOH). Los sólidos obtenidos se recrystalizaron a partir de cloro-benceno para proporcionar agujas incoloras.

Rendimiento: 1.6 gramos, 44.9 por ciento;

15 ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 8.33 (d, $J = 1.8$ Hz, 2H), 8.11 - 8.16 (m, 2H), 7.99 (dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz, 2H).

1,1'-(5,5-dióxido-dibenzo-[b,d]-tiofen-3,7-di-il)-dietanona

20 Una mezcla del 5,5-dióxido de 3,7-dibromo-dibenzo-[b,d]-tiofeno (600 miligramos, 1.604 milimoles), tributil-(1-etoxivinil)-estaño (2.251 mililitros, 6.67 milimoles), y $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (185 miligramos, 0.160 milimoles) en 1,4-dioxano (15 mililitros), se desgasificaron con nitrógeno durante 10 minutos, y entonces se calentaron a 90°C durante la noche bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente, y se le agregaron 15 mililitros de HCl al

25 10 por ciento, y entonces se agitó durante 1 hora. La mezcla se extrajo con

acetato de etilo, y la capa orgánica se lavó con agua y salmuera. Los materiales orgánicos se secaron (Na_2SO_4), y se concentraron. El material crudo se purificó sobre gel de sílice utilizando del 0 al 100 por ciento de acetato de etilo en hexano. Las fracciones deseadas se concentraron, para dar un sólido blanco.

5

Rendimiento: 400 miligramos, 81 por ciento;

^1H RMN (CLOROFORMO- d) δ ppm 8.39 (d, $J = 1.2$ Hz, 2H), 8.28 (dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, 2H), 7.96 (d, 2H), 2.68 (s, 6H).

5,5-dióxido de 3,7-bis-(1-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-vinil)-dibenzo-[b,d]-tiofeno

10

A una mezcla de la 1,1'-(5,5-dióxido-dibenzo-[b,d]-tiofen-3,7-di-il)-dietanona (350 miligramos, 1.165 milimoles), y trietil-amina (0.655 mililitros, 4.66 milimoles) en tolueno (12 mililitros), se le agregó trifluoro-metan-sulfonato de terbutil-dimetil-sililo (0.804 mililitros, 3.50 milimoles), a 0°C . La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos a la misma temperatura, y entonces se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrajo entonces con acetato de etilo, la capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró hasta la sequedad, para dar el producto deseado.

Rendimiento: 600 miligramos, 95 por ciento; ES LC-MS $m/z = 529.2(\text{M}+\text{H}^+)$;

15

^1H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ ppm 8.02 (d, $J = 1.2$ Hz, 2H), 7.86 (dd, $J = 8.1, 1.7$ Hz, 2H), 7.72 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 5.01 (d, $J = 2.3$ Hz, 2H), 4.56 (d, $J = 2.3$ Hz, 2H), 1.01 (s, 18H), 0.23 (s, 12H).

1,1'-(5,5-dióxido-dibenzo-[b,d]-tiofen-3,7-di-il)-bis-(2-bromoetanona):

20

Se agregó NBS (404 miligramos, 2.269 milimoles) al 5,5-dióxido de 3,7-bis-(1-((terbutil-dimetil-silil)-oxi)-vinil)-dibenzo-[b,d]-tiofeno (600 miligramos, 1.135 milimoles) en tetrahidrofurano (THF) (15 mililitros) a 0°C , y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 1 hora. La suspensión blanca se filtró y se secó para dar el producto deseado. El producto no se purificó adicionalmente.

25

Rendimiento: 350 miligramos, 68.7 por ciento;

^1H RMN (400 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm 8.34 - 8.44 (m, 4H), 7.89 (dd, *J* = 8.3, 1.3 Hz, 2H), 5.10 (s, 4H), 4.06 (s, 4H).

5 O'2,O2-((5,5-dióxido-dibenzo-[b,d]-tiofen-3,7-di-il)-bis-(2-oxoetan-2,1-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1,2(2H)-dicarboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-1-diterbutilo

10 Se mezclaron 1,1'-(5,5-dióxido-dibenzo-[b,d]-tiofen-3,7-di-il)-bis-(2-bromo-etanona) (350 miligramos, 0.764 milimoles), ácido (2S, 3aS,6aS)-1-(terbutoxi-carbonil)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-carboxílico (410 miligramos, 1.604 milimoles) en acetonitrilo (15 mililitros), y di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.801 mililitros, 4.58 milimoles), y se agitaron durante 3 horas a 70°C. La mezcla de reacción entonces se filtró para remover los sólidos insolubles, los cuales se lavaron con acetonitrilo adicional (5 mililitros, 2 veces). La mezcla orgánica se redujo hasta aproximadamente 10 mililitros, y se agregó a H₂O agitándose vivamente (50 mililitros). La pasta acuosa resultante se enfrió a 0 - 5°C, y se añejó durante 2 horas. Los sólidos se recolectaron mediante filtración, se lavaron con H₂O, y se secaron a 50 - 60°C hasta obtener un peso constante.

15 Rendimiento: 600 miligramos, 92 por ciento; ES LC-MS *m/z* = 805.3 (*M*-H⁺);

^1H RMN (400 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm 8.62 (d, *J* = 19.0 Hz, 2H), 8.48 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 8.36 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 5.42 - 5.79 (m, 4H), 4.31 - 4.46 (m, 2H), 3.98 - 4.14 (m, 2H), 2.66 (br. s., 2H), 1.53 - 1.97 (m, 12H), 1.34 (d, *J* = 9.6 Hz, 22H).

20 2,2'-(5,5'-(5,5-dióxido-dibenzo-[b,d]-tiofen-3,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1(2H)-carboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-diterbutilo

25 A una solución agitada del O'2,O2-((5,5-dióxido-dibenzo-[b,d]-tiofen-3,7-di-il)-bis-(2-oxoetan-2,1-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1,2(2H)-

dicarboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-1-di-terbutilo (600 miligramos, 0.706 milimoles) en 1,4-dioxano seco (10 mililitros), se le agregó acetato de amonio (1361 miligramos, 17.66 milimoles) (25 equivalentes). La reacción se puso a reflujo durante 6 horas. La reacción se enfrió ligeramente, entonces se
 5 filtró caliente, y se concentró. Este material crudo se purificó sobre gel de sílice eluido con el 0 al 7 por ciento de amoníaco 2M en metanol (MeOH) en diclorometano (DCM). Las fracciones que estaban limpias se combinaron y se concentraron para dar un sólido amarillo pálido.

10 Rendimiento: 250 miligramos, 40.6 por ciento; ES LC-MS m/z = 765.3(M-H⁺);

5,5-dióxido de 3,7-bis-(2-((2S,3aS,6aS)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-il)-1H-imidazol-5-il)-dibenzo-[b,d] tiofeno, 4-Clorhidrato

A una solución agitada del 2,2'-(5,5'-(5,5-dióxido-dibenzo-[b,d]-tiofen-3,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-1(2H)-carboxilato) de (2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-diterbutilo (250 miligramos, 0.326 milimoles) en 1,4-dioxano seco (3 mililitros) y metanol (MeOH) (0.600 mililitros), se le agregó HCl (4M en 1,4-dioxano, 2.265 mililitros, 9.06 milimoles). La reacción se agitó durante 1 hora, y entonces el sólido se recolectó mediante
 15 filtración. El sólido se lavó dos veces con 1,4-dioxano y dos veces con éter. El sólido se secó para dar un sólido amarillo pálido.

Rendimiento: 100 miligramos, 32.3 por ciento; ES LC-MS m/z = 565.2 (M-H⁺);

20 Ejemplo 9: ((2S,2'S,3R,3'R))((2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-2,2'-(5,5'-(5,5-dióxido-dibenzo-[b,d]-tiofen-3,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2,1(2H)-di-il))-bis-(3-metoxi-1-oxo-butan-2,1-di-il))-dicarbamato de dimetilo

A una solución agitada del ácido (2S,3R)-3-metoxi-2-((metoxi-carbonil)-amino)-butanoico (55.0 miligramos, 0.288 milimoles) en Etanol (3 mililitros), se
 25

le agregaron di-isopropil-etil-amina (DIPEA) (0.245 mililitros, 1.403 milimoles), y 5,5-dióxido de 3,7-bis-(2-((2S,3aS,6aS)-octa-hidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-il)-1H-imidazol-5-il)-dibenzo-[b,d]-tiofeno, 4-Clorhidrato (100 miligramos, 0.140 milimoles). Ésta se colocó en un baño de hielo, y se agregó lentamente T3P al 50 por ciento en acetato de etilo (0.334 mililitros, 0.561 milimoles), manteniendo la temperatura de la reacción por debajo de 10°C. La reacción se agitó a 0°C durante 1 hora. La reacción se filtró y el etanol se removió del filtrado mediante evaporación giratoria. El residuo se disolvió en EtOAc (10 mililitros), y se lavó dos veces con carbonato de sodio 1M, dos veces con cloruro de amonio saturado, y luego con salmuera. Los materiales orgánicos se secaron sobre Mg₂SO₄ y se concentraron, para dar un sólido color café. Este material crudo se purificó sobre gel de sílice eluido con el 0 al 7 por ciento de amoníaco 2M en metanol (MeOH) hasta dicloro-metano (DCM). Las fracciones deseadas se combinaron y se concentraron para dar un sólido amarillo pálido.

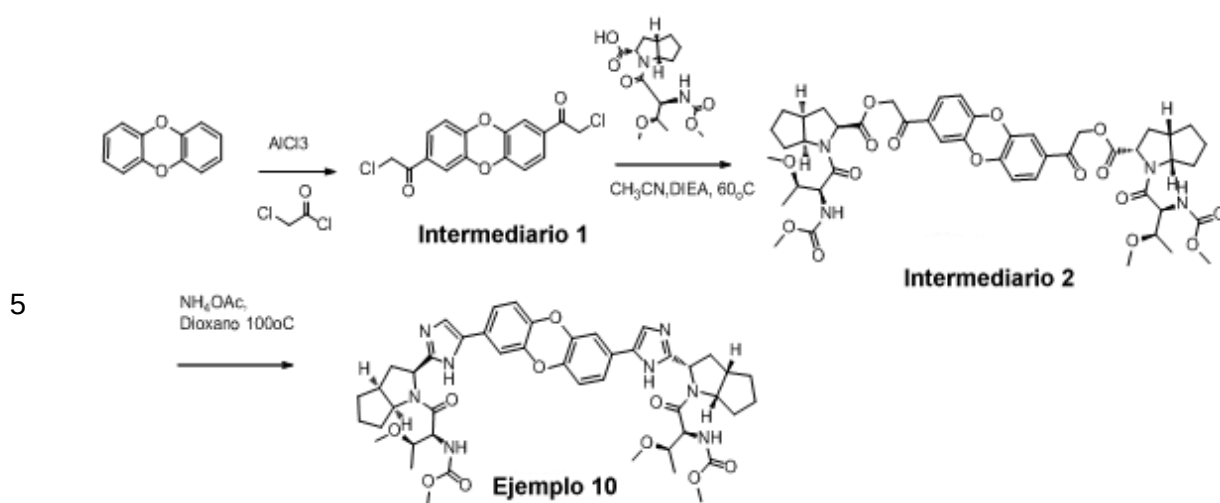
Rendimiento: 9 miligramos, 10.43 por ciento; ES LC-MS m/z = 911.2 (M-H⁺);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11.60 -12.73 (m, 2H), 7.46 - 8.38 (m, 10H), 4.99 - 5.16 (m, 2H), 4.72 - 4.84 (m, 2H), 4.22 - 4.47 (m, 2H), 3.49 - 3.54 (m, 6H), 3.38 - 3.48 (m, 2H), 3.14 - 3.24 (m, 6H), 2.59 -2.83 (m, 2H), 2.31 - 2.42 (m, 2H), 2.10 (br. s., 3H), 1.90 -2.00 (m, 1H), 1.67 -1.89 (m, 4H), 1.35 -1.66 (m, 5H), 0.88 -1.10 (m, 7H).

Preparación del Ejemplo 10

20

25



Intermediario 1: 1,1'-(dibenzo-[b,e][1,4]-dioxin-2,7-di-il)-bis-(2-cloro-etanona)

10 La dibenzo-[b,e][1,4]-dioxina (2 gramos, 10.86 milimoles) se absorbió en dicloro-metano (DCM) (10 mililitros), se agregó cloruro de 2-cloro-acetilo (2.0 mililitros, 24.97 milimoles), y la reacción se enfrió a -78°C . Se agregó cuidadosamente cloruro de aluminio (5.79 gramos, 43.4 milimoles), y se agitó durante 2 horas adicionales a -78°C , entonces lentamente se dejó alcanzar la temperatura ambiente, y se agitó durante 2 horas adicionales. Se enfrió hasta 0°C , y se agregó hielo, se agitó durante unos cuantos minutos, se observó una precipitación blanca, se agregó metanol (5 mililitros), y se agitó durante 1 hora. El precipitado se filtró y se lavó con agua, y se utilizó en el siguiente paso.

Rendimiento: 1.8 gramos, 50 por ciento; ES LC-MS $m/z = 337$ ($\text{M}-\text{H}^{+}$);

15 Intermediario 2: bis-(1-((2S,3R)-3-metoxi-2-((metoxi-carbonil)-amino)-butanoil)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-carboxilato) de (S,R,2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-dibenzo-[b,e][1,4]-dioxin-2,7-diilbis-(2-oxoetan-2,1-di-ilo)

20 Bajo una atmósfera de N_2 , a una suspensión agitada de la 1,1'-(dibenzo-[b,e][1,4]-dioxin-2,7-di-il)-bis-(2-cloro-etanona) (130 mili-gramos, 0.270 milimoles) en acetonitrilo (5.00 mililitros), se le agregó ácido (2S,3aS,6aS)-1-((2S,3R)-3-metoxi-2-((metoxi-carbonil)-amino)-butanoil)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-carboxílico (177 mili-gramos, 0.540 milimoles), seguido por la adición de

25 DIEA (0.094 mililitros, 0.540 milimoles). La mezcla se agitó a 60°C durante 12

horas. Después de la evaporación del solvente, el material se utilizó en el siguiente paso. Una pequeña cantidad se sometió a purificación mediante HPLC, para proporcionar dos productos en una proporción de aproximadamente 4:1 como una mezcla del Intermediario 2 y otro regioisómero.

5 Rendimiento: 130 miligramos, 52 por ciento; ES LC-MS m/z = 921.3 (M- H^+);

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.65 - 7.76 (m, 3 H), 7.52 - 7.63 (m, 2 H), 7.07 - 7.29 (m, 2 H), 5.49 - 5.61 (m, 2 H), 5.39 (d, J = 16.9 Hz, 2 H), 4.77 (d, J = 6.1 Hz, 2 H), 4.59 (t, J = 8.3 Hz, 2 H), 4.23 (t, J = 8.5 Hz, 2H), 3.33 (s, 12 H), 3.23 (s, 6 H), 2.80 (br. s., 2 H), 2.09 (br. s., 2 H), 1.85 -1.94 (m, 2 H), 1.79 (br. s., 5 H), 1.55 (br. s., 4 H), 1.05 (d, J = 5.9 Hz, 6 H).

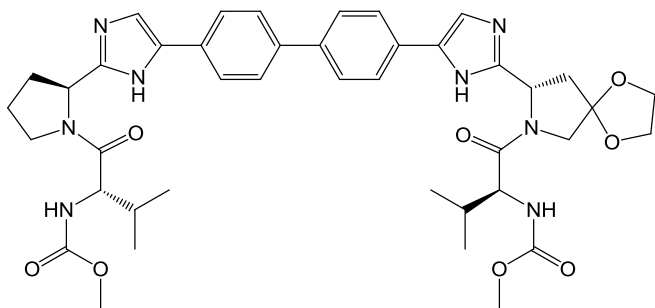
Ejemplo 10: ((2S,2'S,3R,3'R)((2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-2,2'-(5,5'-(dibenzo-[b,e][1,4]-dioxin-2,7-di-il)-bis-(1H-imidazol-5,2-di-il))-bis-(hexahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2,1(2H)-di-il))-bis-(3-metoxi-1-oxo-butan-2,1-di-il))-dicarbamato de dimetilo

A una solución agitada del bis-(1-((2S,3R)-3-metoxi-2-((metoxi-carbonil)-amino)-butanoil)-octahidro-ciclopenta-[b]-pirrol-2-carboxilato) de (S,R,2S,2'S,3aS,3a'S,6aS,6a'S)-dibenzo-[b,e][1,4]-dioxin-2,7-di-il-bis-(2-oxoetan-2,1-di-ilo) (130 miligramos, 0.141 mili-moles) en 1,4-dioxano (5 mililitros), en un tubo sellado, se le agregó acetato de amonio (416 miligramos, 5.40 milimoles). La mezcla de reacción se puso a reflujo a 100°C durante 10 horas. Se enfrió a temperatura ambiente, y se filtró el exceso de acetato de amonio. El filtrado se evaporó, y el residuo se purificó mediante columna (ISCO-gel de sílice, del 0 al 15 por ciento de metanol en acetato de etilo), y entonces mediante HPLC (ACN:H₂O-NH₄OH al 0.1 por ciento), para dar el producto como un sólido.

25 Rendimiento: 30 miligramos, 25 por ciento; ES LC-MS m/z = 881.4 (M- H^+);

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 11.61 -12.20 (m, 2 H), 7.52 - 7.65 (m, 2 H), 7.45 (d, J = 1.8 Hz, 2 H), 7.32 - 7.36 (m, 2 H), 7.27 - 7.31 (m, 2 H), 6.97 (d, J = 8.3 Hz, 2 H), 5.10 (t, J = 7.5 Hz, 2 H), 4.82 (d, J = 7.7 Hz, 2 H), 4.28 (t, J = 8.4 Hz, 2 H), 3.56 (s, 5 H), 3.43 - 3.50 (m, 2 H), 3.41 (s, 1 H), 3.31 (s, 1 H), 3.25 - 3.28 (m, 2 H), 3.22 (s, 4 H), 2.67 -2.83 (m, 2 H), 2.39 (dt, J = 13.1, 8.8 Hz, 2 H), 2.14 (br. s., 3 H), 1.91 -2.03 (m, 2 H), 1.86 (d, J = 12.2 Hz, 2H), 1.69 -1.81 (m, 2 H), 1.45 -1.67 (m, 3 H), 1.20 -1.32 (m, 1 H), 1.08 (d, J = 6.1 Hz, 6 H).

Ejemplo 11: [(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-((2S)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino}-butanoil)-1,4-dioxa-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1H-imidazol-4-il)-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo



El [(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-((2S)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino}-butanoil)-1,4-dioxa-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1H-imidazol-4-il)-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo se puede preparar de acuerdo con los procedimientos descritos en la Publicación de la Solicitud Internacional de Patente Número WO 2011/028596.

Ejemplo 12: Composición Farmacéutica

Tabla 2

Componente	Cantidad (mg/tableta)
Compuesto del Ejemplo 11, Dispersión secada por aspersión	14.00
Celulosa microcristalina (~100 μm)	5.50

	Componente	Cantidad (mg/tableta)
	Celulosa microcristalina (~20 µm)	4.31
5	Croscarmelosa de sodio	0.752
	Dióxido de silicio coloidal	0.25
	Estearato de magnesio	0.188
10	Peso Total de la Tableta (mg/tableta)	25.0

Se prepara una solución de [(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-((2S)-3-metil-2-{[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-1,4-dioxa-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1*H*-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo y succinato de acetato de hipromelosa en acetona para el secado por aspersión. La solución se seca por aspersión, y entonces el polvo resultante se seca para proporcionar una dispersión amorfa secada por aspersión. La dispersión secada por aspersión se mezcla con celulosa microcristalina (tamaño de partículas de aproximadamente 20 micras).
Entonces se agregan croscarmelosa de sodio, dióxido de silicio coloidal, y celulosa microcristalina (tamaño de partículas de aproximadamente 100 micras), y se mezclan. Se agrega estearato de magnesio, y se mezcla adicionalmente. La mezcla se comprime en tabletas.

Ejemplo 13: Composición Farmacéutica

Tabla 3

	Componente	Cantidad (mg/tableta)
25	Compuesto del Ejemplo 11, Dispersión Secada por Aspersión	420

	Componente	Cantidad (mg/tableta)
	Celulosa microcristalina (~100 µm)	165
5	Celulosa microcristalina (~20 µm)	129.3
	Croscarmelosa de sodio	22.56
	Dióxido de silicio coloidal	7.5
	Estearato de magnesio	5.64
10	Peso Total de la Tableta (mg/tableta)	750

Se puede preparar una tableta de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 12 utilizando las cantidades de la tabla anterior.

Ejemplo 14: Composición Farmacéutica

Tabla 4

	Componente	Cantidad (mg/tableta)
15	Compuesto del Ejemplo 11, Dispersión secada por aspersión	420
	Ribavirina	400
	Celulosa microcristalina (~100 µm)	165
20	Celulosa microcristalina (~20 µm)	129.3
	Croscarmelosa de sodio	22.56
25	Dióxido de silicio coloidal	7.5

5

Componente	Cantidad (mg/tableta)
Estearato de magnesio	5.64
Peso Total de la Tableta (mg/tableta)	1150

Se puede preparar una tableta, la cual comprenda además ribavirina, de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 12, utilizando las cantidades de la tabla anterior.

10

Ejemplo 15: Composición Farmacéutica

Tabla 5

15

20

Componente	Cantidad (mg/tableta)
Compuesto del Ejemplo 11, Dispersión secada por aspersión	420
Ritonavir	100
Celulosa microcristalina (~100 µm)	165
Celulosa microcristalina (~20 µm)	129.3
Croscarmelosa de sodio	22.56
Dióxido de silicio coloidal	7.5
Estearato de magnesio	5.64
Peso Total de la Tableta (mg/tableta)	850

25

Se puede preparar una tableta, la cual comprenda además ritonavir, de

acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 12, utilizando las cantidades de la tabla anterior.

Ejemplo 16: Actividad Biológica

5 Las células de replicón del genotipo 1b, referidas en lo sucesivo como células ET, fueron recibidas en licencia de ReBLikon GmbH (Mainz, Alemania). Las células son portadoras del replicón subgenómico bicistrónico con-1 NS3-5B adaptado. Las células frescas se mantuvieron en DMEM que contenía suero bovino fetal (FBS) al 10 por ciento complementado con GlutaMAX^{MR}-1, 10 penicilina-estreptomicina, geneticina, y aminoácidos no esenciales (medio completo) como cultivos subconfluentes, y se dividieron a 1:4 - 1:6 dos veces por semana.

Las células ET frescas se mantuvieron subconfluentes en matraces T225 antes del ensayo. El medio se aspiró de los matraces, y se llevaron a cabo dos lavados con suero regulado con fosfato (PBS). Las células se tripsinizaron y se volvieron a suspender en el medio que contenía suero bovino fetal (FBS) al 5 por ciento, complementado con GlutaMAX^{MR}-1, penicilina-estreptomicina, y aminoácidos no esenciales (medio de ensayo). Entonces las células se reservaron, se contaron en un hemacitómetro, y se diluyeron a 1.5×10^5 15 células/mililitro. Se agregaron 92 microlitros del medio de ensayo a todos los pozos de tres placas de ensayo blancas de 96 pozos y tres placas de ensayo negras de 96 pozos. Se agregaron 4 microlitros a partir de tanto la primera como la segunda placas de compuestos a cada una de las placas de ensayo utilizando el Biomek FX (Beckman Coulter). Las placas de ensayo entonces se 20 centrifugaron brevemente durante 10 segundos a 3 mil revoluciones por minuto. Se agregaron 100 microlitros de la suspensión celular a todos los pozos de las placas de ensayo con la excepción de 8 pozos de referencia, los cuales recibieron el medio de ensayo. Las placas se cubrieron con cinta selladora 25 respirable y se incubaron a 37°C, con CO₂ al 5 por ciento, durante

aproximadamente 48 horas.

El medio se aspiró a partir de las placas de ensayo, y se agregaron 100 microlitros del medio de ensayo a temperatura ambiente a cada pozo. Entonces se agregaron 100 microlitros de reactivo Steady-Glo[®] a cada pozo de las placas de ensayo. Las placas se sellaron y se agitaron a 600-700 revoluciones por minuto durante 1 minuto, y se incubaron durante 30 minutos en la oscuridad antes de leer la luminiscencia en el lector Envision Multilabel Reader (PerkinElmer).

El Interferón- α (IFN α) y la ribavirina se adquirieron en Sigma. Los compuestos sólidos, con la excepción de IFN α , se disolvieron en sulfóxido de dimetilo (DMSO). El IFN α se disolvió en suero regulado con fosfato (PBS) complementado con albúmina de suero bovino (BSA), se puso en alícuotas, se almacenó a -80°C, y entonces se diluyó en el día del experimento.

La concentración EC₅₀ del compuesto requerida para inhibir el 50 por ciento de la respuesta del ensayo, se definió aquí como la concentración que da una respuesta a la mitad del camino entre el promedio de los pozos que contienen células sin compuesto y los pozos que no contienen células. Con el fin de estimar la EC₅₀, todos los análisis de datos se llevaron a cabo sobre los valores de datos transformados a la raíz cuadrada (sqrt). Los valores de la raíz cuadrada promedio de los controles no tratados y los controles sin células se utilizaron para calcular la inhibición sobre cada una de tres placas replicadas para la respuesta transformada a la raíz cuadrada para cada combinación. El ajuste de la curva y la estimación de la EC₅₀ se llevaron a cabo para el compuesto diluido horizontalmente en cada nivel experimental del compuesto diluido verticalmente y *viceversa*. En cada caso, se ajustó una curva de Hill de cuatro parámetros (véase la ecuación a continuación) a los datos de inhibición de las tres placas replicadas utilizando XLfit5.1 (IDBS), y la EC₅₀ se estimó a partir de la curva ajustada.

$$y = a + [(b-a) / (1 + (x/c)^d)]$$

En donde y = respuesta, es decir, la inhibición de los datos transformados a la raíz cuadrada, a = asíntota inferior, es decir, respuesta mínima (es decir, ninguna inhibición), b = asíntota superior, es decir, respuesta máxima, x = concentración del compuesto, $c = EC_{50}$, es decir, Concentración que da una respuesta a la mitad del camino entre la asíntota superior y la asíntota inferior b y a , y d = coeficiente de Hill. En algunas instancias, los puntos de datos que parecían valores atípicos fueron excluidos manualmente y se volvieron a ajustar las curvas.

El índice de combinación CI se basa en el modelo de aditividad por dosis. Una inhibición del 50 por ciento se calcula como $CI = (d_A/EC_{50A}) + (d_B/EC_{50B})$, en donde EC_{50A} y EC_{50B} son las concentraciones de los compuestos A y B que dan como resultado una inhibición del 50 por ciento para cada compuesto solo respectivo, y (d_A, d_B) son las concentraciones de cada compuesto en la mezcla que proporcionan una inhibición del 50 por ciento. El CI mide el tipo y la cantidad de interacción entre dos compuestos, A y B . $CI < 1$ implica el sinergismo por dosis entre los compuestos A y B , $CI = 1$ implica la aditividad por dosis, y $CI > 1$ implica el antagonismo por dosis entre los compuestos A y B . Para cada concentración fija del compuesto A en el despliegue de la placa, se calcularon la concentración del compuesto B requerida para dar una inhibición del 50 por ciento, y el índice de combinación CI para estas concentraciones de los componentes. Se repitió un cálculo similar para cada concentración fija del compuesto B . El CI reportado es el promedio a través de todos los CI s individuales.

Tabla 6

CI	Resultado de aditividad por dosis (Recomendado por CalcuSyn)
------	---

5

10

15

20

<i>CI</i>	Resultado de aditividad por dosis (Recomendado por CalcuSyn)
< 0.1	Sinergismo muy fuerte
0.1-0.3	Sinergismo fuerte
0.3-0.7	Sinergismo
0.7-0.85	Sinergismo moderado
0.85-0.9	Sinergismo ligero
0.9-1.1	Casi aditivo
1.1-1.2	Antagonismo ligero
1.2-1.45	Antagonismo moderado
1.45-3.3	Antagonismo
3.3-10	Antagonismo fuerte
>10	Antagonismo muy fuerte

Los datos reportados en la Tabla 1 son para tres estudios independientes llevados a cabo por triplicado que evaluaron la combinación del compuesto del Ejemplo 11 con IFN α , y dos estudios independientes llevados a cabo por triplicado que evaluaron la combinación del compuesto del Ejemplo 11 con ribavirina.

25

Tabla 7

Compuesto combinado con el compuesto del Ejemplo 11	<i>CI</i>	Resultado de aditividad por dosis
--	-----------	--------------------------------------

5

10

Compuesto combinado con el compuesto del Ejemplo 11	CI	Resultado de aditividad por dosis
IFNα	0.98	Casi aditivo
	1.09	Casi aditivo
Ribavirina	1.11	Antagonismo ligero
	1.11	Antagonismo ligero
	1.23	Antagonismo moderado

15

20

Los volúmenes de sinergismo y antagonismo se basan en el modelo de independencia de Bliss, el cual asume que ambos compuestos actúan independientemente sobre diferentes objetivos. Un conjunto de respuestas fraccionarias predichas fa_{AB} bajo el modelo de independencia de Bliss se calculó como $fa_{AB} = fa_A + fa_B - fa_A \bullet fa_B$, siendo fa_A y fa_B la fracción de posibles respuestas, por ejemplo, el porcentaje de inhibición, de los compuestos A y B en las cantidades d_A y d_B , respectivamente, y siendo fa_{AB} el porcentaje de inhibición de una combinación de los compuestos A y B en la cantidad (d_A+d_B) . Si $fa_{AB} > fa_A + fa_B - fa_A \bullet fa_B$ entonces hay sinergismo de Bliss; si $fa_{AB} < fa_A + fa_B - fa_A \bullet fa_B$ entonces hay antagonismo de Bliss. Los volúmenes de sinergismo/antagonismo del 95 por ciento son la suma de las diferencias entre la inhibición observada y el límite de confianza del 95 por ciento sobre la predicción de fa_{AB} bajo el modelo de independencia de Bliss. Se utilizó el MacSynergy II para el análisis de los datos.

Tabla 8

25

Descripción de Volúmenes de Sinergismo/Antagonismo en MacSynergy II @ 95 por ciento de Confianza
--

5

10

Volumen	Descripción de Volumen
<25	Sinergismo/antagonismo insignificante
25-50	Sinergismo/antagonismo menor pero significativo
50-100	Sinergismo/antagonismo moderado - tal vez importante <i>in vivo</i>
>100	Sinergismo/antagonismo fuerte - probablemente importante <i>in vivo</i>
>1000	Probables Errores

Los datos reportados en la Tabla 2 son para tres estudios independientes llevados a cabo por triplicado que evaluaron la combinación del compuesto del Ejemplo 11 con IFN α , y dos estudios independientes llevados a cabo por triplicado que evaluaron la combinación del compuesto del Ejemplo 11 con ribavirina.

Tabla 9

15

20

25

Compuesto combinado con compuesto del Ejemplo 11	Volumen de Siner-gismo	Volumen de Antago-nismo	Resultado de análisis de indepen-dencia de Bliss Sinergismo	Resultado de análisis de indepen-dencia de Bliss Antagonismo
IFN α	21.72 54.6	-9.11 -4.14	Insignificante Moderado	Insignificante Insignificante

Ribavirina	55.1	-2.8	Moderado	Insignificante
	17.63	-0.17	Insignificante	Insignificante
	77.24	0	Moderado	Insignificante

5

Ejemplo 17: Actividad con Combinaciones del Compuesto del Ejemplo 11 y Agentes Terapéuticos contra el Virus de Hepatitis C (HCV) Alternativos

El compuesto del Ejemplo 11 es un potente inhibidor de los virus y replicones de virus de hepatitis C (HCV). Tiene actividad picomolar en los replicones de los genotipos 1a, 1b y 2a (JFH-1), así como en un virus del genotipo 2a. Se evaluó la capacidad del compuesto del Ejemplo 1 para funcionar en combinación con un inhibidor del sitio II de la polimerasa del virus de hepatitis C (HCV) y con un inhibidor de ciclofilina. También se evaluó la citotoxicidad en paralelo.

10

15

20

En este estudio, se probó el Ejemplo 11 en combinación con un inhibidor del sitio II de la polimerasa del virus de hepatitis C (HCV) y con un inhibidor de ciclofilina, utilizando el sistema de replicones del virus de hepatitis C (HCV). Los datos se analizaron por medio de dos modelos – el modelo de aditividad por dosis y el modelo de independencia de Bliss. Aunque el modelo de aditividad por dosis encontró un antagonismo ligero con las combinaciones del Ejemplo 11/inhibidor de ciclofilina, el análisis mostró que las combinaciones del Ejemplo 11/sitio II de la polimerasa del virus de hepatitis C (HCV) fueron casi aditivas. El modelo de independencia de Bliss encontró un sinergismo insignificante y un antagonismo insignificante para ambas combinaciones probadas. La conclusión a partir de esta serie de datos es que el Ejemplo 11 no es antagonista con los compuestos probados. La citotoxicidad se evaluó en paralelo con los estudios de combinación. No se vio una toxicidad apreciable en este estudio con cualquiera de las combinaciones probadas.

25

Preparación de la placa de compuestos:

La concentración inicial para cada compuesto es $\cong 4X$ la EC_{50} determinada en el ensayo de replicones de ET. Los suministros de compuestos se prepararon a 400X la concentración final deseada. Se emplacaron 40 microlitros del suministro 400X del primer compuesto en todos los 8 pozos de la columna 2 de una placa de fondo en V de 96 pozos. Se preparó una placa separada de la misma manera para el segundo compuesto que se probó en el ensayo de combinación. Los compuestos se diluyeron en serie a 1:2 en sulfóxido de dimetilo (DMSO) utilizando un Biomek 2,000 (Beckman Coulter) para crear una placa de respuesta a la dosis de 7 puntos. Se agregó sulfóxido de dimetilo (DMSO) a los pozos de control apropiados, y se agregaron 140 microlitros del medio de ensayo a todos los pozos que contenían el compuesto o el sulfóxido de dimetilo (DMSO). Para el segundo compuesto, el material de todos los pozos se cambió con un pipeteador manual de múltiples canales hasta una nueva placa de fondo en V de 96 pozos, y se transpuso para crear una curva de respuesta a la dosis de 7 puntos verticalmente.

Preparación de células y establecimiento del estudio de combinación:

Las células ET frescas se mantuvieron subconfluentes en matraces T225 antes del ensayo. El medio se aspiró a partir de los matraces, y se llevaron a cabo dos lavados con suero regulado con fosfato. Las células se desprendieron utilizando una solución de Versene más tripsina al 10 por ciento (0.25 por ciento), y se volvieron a suspender en DMEM complementado con suero bovino fetal (FBS) al 5 por ciento, GlutaMAX^{MR}-1, penicilina-estreptomicina, y aminoácidos no esenciales (medio de ensayo). Las células se reservaron, se contaron en un hemacitómetro, y se diluyeron a 1.5×10^4 células/mililitro. Se agregaron 92 microlitros del medio de ensayo a todos los pozos de tres placas de ensayo blancas de 96 pozos y tres placas de ensayo negras de 96 pozos. Se agregaron 4 microlitros a partir de tanto la primera como la segunda placas de compuestos a cada una de las placas de ensayo utilizando el Biomek FX

(Beckman Coulter). Entonces las placas de ensayo se centrifugaron brevemente durante 10 segundos a 3 mil revoluciones por minuto. Se agregaron 100 microlitros de suspensión celular a todos los pozos de las placas de ensayo con la excepción de 8 pozos de referencia, los cuales recibieron el
 5 medio de ensayo. Las placas se cubrieron con cinta selladora respirable y se incubaron a 37°C, con CO₂ al 5 por ciento, durante aproximadamente 48 horas.

Ensayos de luciferasa y citotoxicidad

Se aspiró el medio a partir de las placas de ensayo, y se agregaron 100
 10 microlitros del medio de ensayo a temperatura ambiente a cada pozo. Entonces se agregaron 100 microlitros de reactivo Steady-Glo^{MR} a cada pozo de las tres placas de ensayo blancas. Para la evaluación de la citotoxicidad, se agregaron 100 microlitros del reactivo CellTiter-Glo^{MR} a cada pozo de las tres placas de ensayo negras. Las placas se sellaron y se agitaron a 600-700 revoluciones por minuto durante 1 minuto, y se incubaron durante 30 minutos en la oscuridad antes de leer la luminiscencia en el lector Envision Multilabel Reader (PerkinElmer).

Fármacos y Materiales:

El compuesto del Ejemplo 11 y un inhibidor del sitio II de la polimerasa
 15 del virus de hepatitis C (HCV), y un inhibidor de ciclofilina, se obtuvieron a partir de una colección interna de compuestos en forma de polvo. Los compuestos sólidos se disolvieron en sulfóxido de dimetilo (DMSO) y se diluyeron como se describe en la sección de métodos.

Materiales:

20 DMEM (Invitrogen #11965-092).
 Suero bovino fetal (FBS) (SAFC #12176C).
 MEM aminoácidos no esenciales (Invitrogen #1140-035).
 Geneticina (Invitrogen #10131-027).
 25 Penicilina-estreptomicina (Invitrogen #25030-024).

GlutaMAX^{MR}-1 (Invitrogen #35035-061).

Suero regulado con fosfato (Invitrogen #14190).

Tripsina al 0.25 por ciento (Invitrogen #25200-056).

Versene (Invitrogen #15040-066).

5

Steady-Glo^{MR} Sistema de ensayo de luciferasa (Promega #E2550).

CellTiter-Glo^{MR} Ensayo luminiscente de viabilidad celular (Promega #G7573).

Placa de ensayo blanca de 96 pozos (PerkinElmer #6005680).

10

Placa de ensayo negra de 96 pozos (Corning #3904).

Placa de fondo en V de 96 pozos (Corning #3357).

Cinta selladora respirable (Corning #3345).

Película selladora TopSeal^{MR}-A (PerkinElmer #6005185).

Cálculo de Valores EC₅₀

15

El modelo de aditividad por dosis requiere de estimaciones de los valores EC₅₀ de los replicones para cada compuesto en combinación o solos. La EC₅₀, la concentración del compuesto requerida para inhibir el 50 por ciento de la respuesta del ensayo, se definió aquí como la concentración que da una respuesta a la mitad del camino entre el promedio de los pozos que contienen células sin el compuesto y los pozos que no contienen células. Con el fin de

20

estimar la EC₅₀, todos los análisis de datos se llevaron a cabo sobre los valores de datos transformados a la raíz cuadrada (sqrt). Los valores de la raíz cuadrada promedio de los controles no tratados y los controles sin células se utilizaron para calcular la inhibición sobre cada una de las tres placas replicadas para la respuesta transformada a la raíz cuadrada para cada combinación. Se llevaron a cabo el ajuste de la curva y la estimación de la EC₅₀ para el compuesto diluido horizontalmente en cada nivel experimental del compuesto diluido verticalmente, y *viceversa*. En cada caso, se ajustó una curva de Hill de

25

cuatro parámetros (véase la ecuación a continuación) a los datos de inhibición

de las tres placas replicadas utilizando XLfit5.1 (IDBS), y se estimó la EC₅₀ a partir de la curva ajustada.

$$y = a + [(b-a) / (1 + (x/c)^d)]:$$

5 en donde y = respuesta, es decir, la inhibición de los datos transformados a la raíz cuadrada, a = asíntota inferior, es decir, respuesta mínima (es decir, ninguna inhibición), b = asíntota superior, es decir, respuesta máxima, x = concentración del compuesto, c = EC₅₀, es decir, la concentración que da una respuesta a la mitad del camino entre la asíntota superior y la asíntota inferior b y a , y d = coeficiente de Hill. En algunas instancias, los puntos de datos que
10 parecían valores atípicos fueron excluidos manualmente y se volvieron a ajustar las curvas.

Cálculos de Índice de Combinación:

El índice de combinación CI se basa en el modelo de aditividad por dosis. Una inhibición del 50 por ciento se calcula como $CI = (d_A/EC_{50A}) + (d_B/EC_{50B})$, en donde EC_{50A} y EC_{50B} son las concentraciones de los compuestos A y B que dan como resultado una inhibición del 50 por ciento para cada compuesto solo respectivo, y (d_A, d_B) son las concentraciones de cada compuesto en la mezcla que proporcionan una inhibición del 50 por ciento. Los cálculos de los valores
15 EC_{50} se describen en la sección 0. El CI mide el tipo y la cantidad de interacción entre dos compuestos, A y B . $CI < 1$ implica el sinergismo por dosis entre los compuestos A y B , $CI = 1$ implica la aditividad por dosis, y $CI > 1$ implica el antagonismo por dosis entre los compuestos A y B . Para cada concentración fija del compuesto A en el despliegue de la placa, calculamos la concentración
20 del compuesto B requerida para dar una inhibición del 50 por ciento, y calculamos el índice de combinación CI para estas concentraciones de los componentes. Se repite un cálculo similar para cada concentración fija del compuesto B . El número CI que se está reportando aquí es el promedio a través de todos los CI s individuales. A continuación hay una tabla que muestra
25

el resultado de aditividad para el *CI* calculado.

	<i>CI</i>	Resultado de aditividad por dosis (Recomendado por CalcuSyn)
5	< 0.1	Sinergismo muy fuerte
	0.1-0.3	Sinergismo fuerte
	0.3-0.7	Sinergismo
10	0.7-0.85	Sinergismo moderado
	0.85-0.9	Sinergismo ligero
	0.9-1.1	Casi aditivo
	1.1-1.2	Ligeramente antagonista
	1.2-1.45	Antagonista moderado
	1.45-3.3	Antagonismo
	3.3-10	Antagonismo fuerte
15	>10	Antagonismo muy fuerte

Cálculos para el volumen de sinergismo/antagonismo (Modelo de Independencia de Bliss):

Los volúmenes de sinergismo y antagonismo se basan en el modelo de independencia de Bliss, el cual asume que ambos compuestos actúan independientemente sobre diferentes objetivos. Un conjunto de respuestas fraccionarias predichas fa_{AB} bajo el modelo de independencia de Bliss se calcula como $fa_{AB} = fa_A + fa_B - fa_A \bullet fa_B$, siendo fa_A y fa_B la fracción de posibles respuestas, por ejemplo, el porcentaje de inhibición, de los compuestos *A* y *B*

en las cantidades d_A y d_B respectivamente, y siendo fa_{AB} el porcentaje de inhibición de una combinación de los compuestos A y B en una cantidad (d_A+d_B) . Si $fa_{AB} > fa_A + fa_B - fa_A \bullet fa_B$, entonces tenemos el sinergismo de Bliss; si $fa_{AB} < fa_A + fa_B - fa_A \bullet fa_B$, entonces tenemos el antagonismo de Bliss. Los volúmenes de sinergismo/antagonismo del 95 por ciento son la suma de las diferencias entre la inhibición observada y el límite de confianza del 95 por ciento sobre la predicción de fa_{AB} bajo el modelo de independencia de Bliss. La siguiente tabla muestra los volúmenes y las descripciones de volumen correspondientes para los resultados del análisis de independencia de Bliss. Se utilizó el MacSynergy II para el análisis de los datos.

Descripción de Volúmenes de Sinergismo/Antagonismo de MacSynergy II @ 95 por ciento de Confianza	
Volumen	Descripción de Volumen
<25	Sinergismo/antagonismo insignificante
25-50	Sinergismo/antagonismo menor pero significativo
50-100	Sinergismo/antagonismo moderado – tal vez importante in vivo
>100	Sinergismo/antagonismo fuerte – probablemente importante <i>in vivo</i>
>1000	Probables Errores

Cálculos para la toxicidad de la combinación:

Para los estudios de toxicidad de la combinación, se utilizó un despliegue

de patrón de tablero de ajedrez idéntico para las respuestas a la dosis de cada compuesto solo y en combinación en diferentes concentraciones. En cada concentración de cada compuesto en la combinación, se calculó el porcentaje de inhibición promedio y se graficó en relación con la concentración apropiada del segundo compuesto.

Combinación del Ejemplo 11 con un inhibidor de polimerasa del virus de hepatitis C (HCV) del sitio II o con un inhibidor de ciclofilina, analizada utilizando el modelo de aditividad por dosis

Los resultados del análisis de aditividad por dosis del Ejemplo 11 combinado con un inhibidor de polimerasa del virus de hepatitis C (HCV) del sitio II o con un inhibidor de ciclofilina, se enlistan en la Tabla 11.

Combinación del Ejemplo 11 con un inhibidor de polimerasa del virus de hepatitis C (HCV) del sitio II o con un inhibidor de ciclofilina, analizada mediante el modelo de independencia de Bliss

Los resultados del análisis de independencia de Bliss del Ejemplo 11 combinado con un inhibidor de polimerasa del virus de hepatitis C (HCV) del sitio II o con un inhibidor de ciclofilina, se enlistan en la Tabla 12. Se utilizó el MacSynergy II para llevar a cabo el análisis de independencia de Bliss.

Toxicidad de la combinación del Ejemplo 11 con un inhibidor de polimerasa del virus de hepatitis C (HCV) del sitio II

Los resultados del ensayo de toxicidad de la combinación del Ejemplo 11 con un inhibidor de polimerasa del virus de hepatitis C (HCV) del sitio II se muestran en la Figura 1 y en la Figura 2.

Toxicidad de la combinación del Ejemplo 11 con un inhibidor de ciclofilina

Los resultados del ensayo de toxicidad de la combinación del Ejemplo 11 con un inhibidor de ciclofilina se muestran en la Figura 3 y en la Figura 4.

Los estudios de la combinación llevados a cabo *in vitro* demuestran que el Ejemplo 11 es un buen candidato para la terapia de combinación contra el

virus de hepatitis C (HCV) ya sea con un inhibidor del sitio II de la polimerasa del virus de hepatitis C (HCV) o bien con un inhibidor de ciclofilina.

El análisis utilizando el modelo de aditividad por dosis mostró que el Ejemplo 11 fue casi aditivo cuando se combinó con el inhibidor del sitio II de la polimerasa del virus de hepatitis C (HCV). El análisis de los datos también se llevó a cabo utilizando el modelo de independencia de Bliss por medio del programa MacSynergy II, y las combinaciones del Ejemplo 11 con el inhibidor del sitio II de la polimerasa del virus de hepatitis C (HCV) dieron como resultado un sinergismo insignificante y un antagonismo insignificante. Los dos métodos de análisis estuvieron de acuerdo en que no había antagonismo entre el Ejemplo 11 y el inhibidor del sitio II de la polimerasa del virus de hepatitis C (HCV).

Para la combinación del Ejemplo 11 con el inhibidor de ciclofilina, el análisis utilizando el modelo de aditividad por dosis dio como resultado un antagonismo ligero. Sin embargo, el modelo de independencia de Bliss, por medio del programa MacSynergy II, concluyó que las combinaciones del Ejemplo 11 y el inhibidor de ciclofilina mostraron un sinergismo insignificante y un antagonismo insignificante. Los métodos de análisis de los datos son diferentes, y no llegaron a la misma conclusión.

No existe un acuerdo general sobre cuál modelo predice mejor el resultado *in vivo*, pero creemos que ambos modelos están en general de acuerdo en que no hay un antagonismo significativo entre los compuestos probados y el Ejemplo 11. Aunque se detectó un antagonismo con el análisis de aditividad por dosis para las combinaciones con ciclofilina, se clasificó como "ligero", y esta interpretación no fue apoyada por el análisis de independencia de Bliss sobre la misma serie de datos. En un estudio anterior, cuando dosificamos un inhibidor de nucleósido del virus de hepatitis C (HCV) en combinación con ribavirina, ambos métodos de análisis detectaron un

antagonismo o un fuerte antagonismo, demostrando que se puede detectar el antagonismo con nuestros métodos.

Los estudios de toxicidad de la combinación demuestran que el Ejemplo 11 no es citotóxico cuando se dosifica con cualquiera de los dos compuestos probados en este estudio. Para ambas combinaciones, la toxicidad máxima fue del 5 al 10 por ciento en las concentraciones más altas probadas. Esto es comparable con la toxicidad que se ve cuando el Ejemplo 11 se combina consigo mismo. Hipotetizamos que esta pequeña cantidad de toxicidad aparente podría ser un artificio del despliegue de la placa. Después de conducir un número de experimentos para resolver esta cuestión, concluimos que en realidad estábamos observando un efecto de la placa, y que la pequeña cantidad de toxicidad observada en la mayoría de las combinaciones era un artificio del sistema experimental.

Concluimos a partir de éstos y de los estudios anteriores, que el Ejemplo 11 es un buen candidato para la terapia de combinación contra el virus de hepatitis C (HCV), y que el efecto observado de este agente no se debe a la toxicidad.

Tabla 11

Combinación del Ejemplo 11 con un inhibidor del sitio II de la polimerasa del virus de hepatitis C (HCV) o con un inhibidor de ciclofilina analizado utilizando el modelo de aditividad por dosis

Compuesto en combinación con el Ejemplo 11	CI	Resultado de aditividad por dosis
Inhibidor del sitio II de la polimerasa NS5B	1.08	Casi aditivo
	1.06	Casi aditivo

5

Compuesto en combinación con el Ejemplo 11	CI	Resultado de aditividad por dosis
Inhibidor de ciclofilina	1.16	Antagonismo ligero
	1.13	Antagonismo ligero

10

Tabla 12

Combinación del Ejemplo 11 con un inhibidor del sitio II de la polimerasa del virus de hepatitis C (HCV) o con un inhibidor de ciclofilina analizado utilizando el modelo de independencia de Bliss

15

Compuesto en combinación con el Ejemplo 11	Volumen de Sinergismo	Volumen de Antagonismo	Resultado de Análisis de Independencia de Bliss Sinergismo	Resultado de Análisis de Independencia de Bliss Antagonismo
Inhibidor del sitio II de la polimerasa NS5B	5.27	0	Insignificante	Insignificante
	18.11	-8.08	Insignificante	Insignificante
Inhibidor de ciclofilina	24.81	-5.78	Insignificante	Insignificante
	17.1	-2.63	Insignificante	Insignificante

20

Ejemplo 18: Actividad de la Combinación

25

El Ejemplo 11 es un potente inhibidor de virus y replicones del virus de hepatitis C (HCV). Tiene una actividad picomolar en los replicones de los

genotipos 1a, 1b y 2a (JFH-1) así como en un virus del genotipo 2a. Aunque tiene una actividad impresionante, el alto índice de mutación del virus de hepatitis C (HCV) da como resultado un rápido surgimiento de resistencia viral durante la monoterapia. Por consiguiente, el Ejemplo 11 se utilizará en
5 combinación ya sea con interferón- α y ribavirina (SOC), con otros antivirales de acción directa (DDAs), o bien con una combinación de otros DAAs y SOC.

El Ejemplo 11 se probó en combinación utilizando el sistema de replicones del virus de hepatitis C (HCV) con inhibidores representativos de
10 proteasa, polimerasa, replicasa, y NS4B, así como con ciclosporina A, interferón- α , y ribavirina. Los datos se analizaron por medio de dos modelos – el modelo de aditividad por dosis y el modelo de independencia de Bliss. Aunque el modelo de aditividad por dosis encontró un antagonismo ligero con una combinación del Ejemplo 11/ribavirina y con ambas combinaciones del Ejemplo 11/inhibidor de NS4B, el análisis mostró que todas las demás combinaciones probadas fueron casi aditivas o moderadamente sinérgicas. El modelo de independencia de Bliss encontró que todas las combinaciones eran fuertemente sinérgicas. El antagonismo identificado por la aditividad por dosis no fue apoyado por el análisis de independencia de Bliss, y se clasificó como
15 ‘antagonismo ligero’. Se llevó a cabo un experimento de control para demostrar que se podía detectar el antagonismo. La ribavirina se combinó con un inhibidor de nucleósido del virus de hepatitis C (HCV), y el análisis de los datos utilizando el modelo de aditividad por dosis mostró que la combinación era antagonista, mientras que el modelo de independencia de Bliss encontró un antagonismo
20 fuerte, demostrando se puede detectar el antagonismo utilizando este ensayo. La conclusión a partir de esta serie de datos es que el Ejemplo 11 no es antagonista con cualquiera de los compuestos probados.

Células de replicón del genotipo 1b – células ET

25 Las células de replicón del genotipo 1b, referidas como células ET,

fueron concedidas en licencia por ReBLikon GmbH (Mainz, Alemania). Las células son portadoras del replicón subgenómico bicistrónico con-1 NS3-5B adaptado. Se mantuvieron células frescas en DMEM que contenía suero bovino fetal (FBS) al 10 por ciento, complementado con Gluta-max, penicilina-
 5 estreptomicina, y aminoácidos no esenciales (medio completo) como cultivos subconfluentes, y se dividieron a 1:4-1:6 dos veces por semana.

Protocolos Experimentales

Preparación de la placa de compuestos

10 La concentración inicial para cada compuesto es $\cong 4X$ la EC_{50} determinada en el ensayo de replicones de ET. Los suministros de compuestos se prepararon a 400X la concentración final deseada. Se emplacaron 40 microlitros del suministro 400X del primer compuesto en todos los 8 pozos de la columna 2 de una placa de fondo en V de 96 pozos. Se preparó una placa separada de la misma manera para el segundo compuesto que se probó en el ensayo de combinación. Los compuestos se diluyeron en serie a 1:2 en sulfóxido de dimetilo (DMSO) utilizando un Biomek 2000, para crear una placa de respuesta a la dosis de 7 puntos. Se agregó sulfóxido de dimetilo (DMSO) a los pozos de control apropiados, y se agregaron 140 microlitros del medio de
 15 ensayo a todos los pozos que contenían el compuesto o sulfóxido de dimetilo (DMSO). Para el segundo compuesto, el material de todos los pozos se cambió con un pipeteador manual de múltiples canales a una nueva placa de fondo en V de 96 pozos, y se transpuso para crear una curva de respuesta a la dosis de 7 puntos verticalmente.

20 Preparación de Células y Establecimiento del Estudio de la Combinación

Las células ET frescas se mantuvieron subconfluentes en matraces T225 antes del ensayo. El medio se aspiró a partir de los matraces, y se llevaron a cabo dos lavados con suero regulado con fosfato. Las células se tripsinizaron y
 25 se volvieron a suspender en un medio que contenía suero bovino fetal (FBS) al

5 por ciento, complementado con Gluta-max, penicilina-estreptomicina, y aminoácidos no esenciales (medios de ensayo). Entonces las células se reservaron, se contaron en un hemacitómetro, y entonces se diluyeron a 2×10^5 células/mililitro. Se agregaron 92 microlitros de las células resuspendidas a todos los pozos de tres placas de ensayo de 96 pozos, y luego 4 microlitros a partir de tanto la primera como la segunda placas de compuestos, a cada una de las placas de ensayo, utilizando el Biomek FX. Entonces las placas de ensayo se centrifugaron brevemente durante 10 segundos a 3 mil revoluciones por minuto. Las placas luego se incubaron a 37°C, con CO₂ al 5 por ciento, durante aproximadamente 48 horas.

Ensayo de Luciferasa

Se aspiró el medio a partir de las placas de ensayo, y se agregaron 100 microlitros del medio de cultivo celular a temperatura ambiente a cada pozo. Entonces se agregaron 100 microlitros de reactivo Steady-Glo a cada pozo, las placas se sellaron y se agitaron a 600-700 revoluciones por minuto durante 1 minuto, y entonces se incubaron durante 15 minutos en la oscuridad antes de leer la luminiscencia en el lector Envision Multilabel Reader.

Fármacos y Materiales

Fármacos

El Ejemplo 11 se obtuvo a partir de una colección interna de compuestos en forma de polvo. El Interferón- α (IFN α), la ribavirina, y la ciclosporina A se adquirieron en Sigma. Todos los otros inhibidores se obtuvieron a partir de una colección interna de compuestos como sólidos. Los compuestos sólidos, con la excepción del IFN α , se disolvieron en sulfóxido de dimetilo (DMSO), y se diluyeron como se describe en la sección de métodos. El IFN α se disolvió en suero regulado con fosfato (PBS) complementado con albúmina de suero bovino (BSA), se puso en alícuotas, se almacenó a -80°C, y entonces se diluyó como se describe en la sección de métodos en el día del experimento.

Materiales

- DMEM (Gibco #12430; Invitrogen 31053-028).
- Suero bovino fetal, (SAFC #12176C).
- MEM aminoácidos no esenciales (Invitrogen #1140-035).
- 5 Penicilina-estreptomicina (Invitrogen #25030-024).
- Glutamax (Invitrogen #35035-061).
- Suero regulado con fosfato (Invitrogen #14190).
- Tripsina al 0.25 por ciento (Gibco #25200-056).
- 10 Versene (Invitrogen #15040-066).
- Reactivo Steady Glo (Promega #E2548).
- Placa de ensayo de 96 pozos Perkin Elmer (Perkin Elmer #6005680).
- Charolas de fondo en V de 96 pozos (Costar #3357).
- Interferón-α humano A/D (Sigma #I4401).
- Ribavirina (Sigma #R9644).
- Ciclosporina A (Sigma #C3662).
- Albúmina de suero bovino (Sigma #A7906).

Análisis de Datos

Cálculo de los valores EC₅₀

- 15 El modelo de aditividad por dosis requiere de estimaciones de los valores EC₅₀ del replicón para cada compuesto en combinación o solo. La EC₅₀, la concentración del compuesto requerida para inhibir el 50 por ciento de la respuesta del ensayo, se definió aquí como la concentración que da una
- 20 respuesta a la mitad del camino entre el promedio de los pozos que contienen células sin el compuesto, y los pozos que no contienen células. Con el fin de estimar la EC₅₀, todos los análisis de datos se llevaron a cabo sobre los valores de datos transformados a la raíz cuadrada (sqrt). Los valores de raíz cuadrada promedio de los controles no tratados y de los controles sin células se utilizaron
- 25 para calcular la inhibición sobre cada una de las tres placas replicadas para la

respuesta transformada a la raíz cuadrada para cada combinación. Se llevaron a cabo el ajuste de la curva y la estimación de la EC_{50} para el compuesto diluido horizontalmente en cada nivel experimental del compuesto diluido verticalmente, y *viceversa*. En cada caso, se ajustó una curva de Hill de cuatro parámetros (véase la ecuación a continuación) a los datos de inhibición de las tres placas replicadas utilizando XLfit5.1 (IDBS), y la EC_{50} se estimó a partir de la curva ajustada.

$$y = a + [(b-a) / (1 + (x/c)^d)]$$

En donde y = respuesta, es decir, la inhibición de los datos transformados a la raíz cuadrada, a = asíntota inferior, es decir, respuesta mínima (es decir, ninguna inhibición), b = asíntota superior, es decir, respuesta máxima, x = concentración del compuesto, $c = EC_{50}$, es decir, Concentración que da una respuesta a la mitad del camino entre la asíntota superior y la asíntota inferior b y a , y d = coeficiente de Hill. En algunas instancias, los puntos de datos que parecían valores atípicos fueron excluidos manualmente y se volvieron a ajustar las curvas.

Cálculos de Índice de Combinación

El índice de combinación CI se basa en el modelo de aditividad por dosis. Una inhibición del 50 por ciento se calcula como $CI = (d_A/EC_{50A}) + (d_B/EC_{50B})$, en donde EC_{50A} y EC_{50B} son las concentraciones de los compuestos A y B que dan como resultado una inhibición del 50 por ciento para cada compuesto solo respectivo, y (d_A, d_B) son las concentraciones de cada compuesto en la mezcla que proporcionan una inhibición del 50 por ciento. Los cálculos de los valores EC_{50} se describen en la sección 3.4.2. El CI mide el tipo y la cantidad de interacción entre dos compuestos, A y B . $CI < 1$ implica el sinergismo por dosis entre los compuestos A y B , $CI = 1$ implica la aditividad por dosis, y $CI > 1$ implica el antagonismo por dosis entre los compuestos A y B . Para cada concentración fija del compuesto A en el despliegue de la placa, calculamos la

concentración del compuesto B requerida para dar una inhibición del 50 por ciento, y calculamos el índice de combinación *CI* para estas concentraciones de los componentes. Se repite un cálculo similar para cada concentración fija del compuesto B. El número *CI* que se está reportando aquí es el promedio a través de todos los *CI*s individuales. A continuación hay una tabla que muestra el resultado de aditividad para el *CI* calculado.

10	<i>CI</i>	Resultado de Aditividad por Dosis (Recomendado por CalcuSyn)
	< 0.1	Sinergismo muy fuerte
	0.1-0.3	Sinergismo fuerte
	0.3-0.7	Sinergismo
	0.7-0.85	Sinergismo moderado
	0.85-0.9	Sinergismo ligero
	0.9-1.1	Casi aditivo
15	1.1-1.2	Ligeramente antagonista
	1.2-1.45	Antagonista moderado
	1.45-3.3	Antagonismo
20	3.3-10	Antagonismo fuerte
	>10	Antagonismo muy fuerte

Cálculos para el Volumen de Sinergismo/Antagonismo (Modelo de Independencia de Bliss)

Los volúmenes de sinergismo y antagonismo se basan en el modelo de independencia de Bliss, el cual asume que ambos compuestos actúan independientemente sobre diferentes objetivos. Un conjunto de respuestas fraccionarias predichas fa_{AB} bajo el modelo de independencia de Bliss se está calculando como $fa_{AB} = fa_A + fa_B - fa_A \bullet fa_B$, siendo fa_A y fa_B la fracción de posibles respuestas, por ejemplo, el porcentaje de inhibición, de los compuestos A y B en las cantidades d_A y d_B respectivamente, y siendo fa_{AB} el porcentaje de inhibición de una combinación de compuestos A y B en la cantidad (d_A+d_B) . Si $fa_{AB} > fa_A + fa_B - fa_A \bullet fa_B$, entonces tenemos sinergismo de Bliss; si $fa_{AB} < fa_A + fa_B - fa_A \bullet fa_B$, entonces tenemos antagonismo de Bliss. Los volúmenes de sinergismo/antagonismo del 95 por ciento son la suma de las diferencias entre la inhibición observada y el límite de confianza del 95 por ciento sobre la predicción de fa_{AB} bajo el modelo de independencia de Bliss. La siguiente tabla muestra los volúmenes y las descripciones de Volumen correspondientes para los resultados del análisis de independencia de Bliss. Se utilizó MacSynergy II para el análisis de los datos.

Descripción de Volúmenes de Sinergismo/Antagonismo de MacSynergy II @ 95 por ciento de Confianza	
Volumen	Descripción de Volumen
<25	Sinergismo/antagonismo insignificante
25-50	Sinergismo/antagonismo menor pero significativo
50-100	Sinergismo/antagonismo moderado – tal vez importante <i>in vivo</i>
>100	Sinergismo/antagonismo fuerte – probablemente

5

Descripción de Volúmenes de Sinergismo/Antagonismo de MacSynergy II @ 95 por ciento de Confianza	
	importante <i>in vivo</i>
>1000	Probables Errores

RESULTADOS

10

Combinación del Ejemplo 11 con IFNα o ribavirina (SOC) analizada utilizando el modelo de aditividad por dosis

Los resultados del análisis de aditividad por dosis del Ejemplo 11 combinado con IFNα o ribavirina se enlistan en la Tabla 13.

Combinación del Ejemplo 11 con otros DAAs analizada utilizando el modelo de aditividad por dosis

Los resultados del análisis de aditividad por dosis del Ejemplo 11 combinado consigo mismo o con otros DAAs se enlistan en la Tabla 14.

Combinación del Ejemplo 11 con IFNα o ribavirina (SOC) analizada mediante el modelo de independencia de Bliss

15

Los resultados del análisis de independencia de Bliss del Ejemplo 11 combinado con IFNα o ribavirina se enlistan en la Tabla 15. Se utilizó el MacSynergy II para llevar a cabo el análisis de independencia de Bliss.

Combinación del Ejemplo 11 con otros DAAs analizada mediante el modelo de independencia de Bliss

20

Los resultados del análisis de independencia de Bliss del Ejemplo 11 combinado consigo mismo o con otros DAAs se enlistan en la Tabla 16. Se utilizó el MacSynergy II para llevar a cabo el análisis de independencia de Bliss.

Control de antagonismo analizado mediante el modelo de aditividad por dosis

25

El resultado del análisis de aditividad por dosis de un inhibidor de

nucleósido del virus de hepatitis C (HCV) combinado con ribavirina se enlista en la Tabla 17.

Control de antagonismo analizado mediante el modelo de independencia de Bliss

5 El resultado del análisis de independencia de Bliss de un inhibidor de nucleósido del virus de hepatitis C (HCV) combinado con ribavirina se enlista en la Tabla 18. Se utilizó el MacSynergy II para llevar a cabo el análisis de independencia de Bliss.

10 Los estudios de combinación *in vitro* llevados a cabo demuestran que el Ejemplo 11 es un buen candidato para la terapia de combinación contra el virus de hepatitis C (HCV), ya sea con SOC, con otras clases de DAAs, o bien en una combinación con tanto SOC como otros DAAs.

El análisis utilizando el modelo de aditividad por dosis mostró que el Ejemplo 11 es casi aditivo o moderadamente sinérgico cuando se combina con IFN α , ciclosporina A, un inhibidor de proteasa NS3, un inhibidor de replicasa, dos inhibidores de nucleósido del virus de hepatitis C (HCV), y con inhibidores que se dirijan a los sitios aloestéricos 1, 3, y 4 de la polimerasa NS5B, así como consigo mismo. La combinación del Ejemplo 11 con ribavirina se llevó a cabo
15 dos veces independientes por triplicado – una vez que condujo al análisis de antagonismo ligero y una vez que condujo a un resultado casi aditivo. La combinación del Ejemplo 11 con el inhibidor de NS4B también se llevó a cabo en dos ocasiones independientes, y dio un resultado de ligeramente antagonista.

20 También se llevó a cabo el análisis de los datos utilizando el modelo de independencia de Bliss por medio del programa MacSynergy II. En todas las combinaciones probadas, las combinaciones produjeron un sinergismo fuerte y un antagonismo insignificante.

Los métodos del análisis de datos son diferentes y no llegaron a las mismas conclusiones. El modelo de independencia de Bliss muestra un sinergismo fuerte para cada combinación probada , mientras que la aditividad por dosis encontró una casi aditividad o un sinergismo moderado a partir de la misma serie de datos cuando se combinó el Ejemplo 11 con IFN α , ciclosporina A, un inhibidor de proteasa, dos inhibidores de nucleósido, y con inhibidores aloestéricos de NS5B, así como consigo mismo. El modelo de aditividad por dosis también encontró un antagonismo ligero una vez cuando se dosificó ribavirina, y dos veces cuando se utilizaron los inhibidores de NS4B en combinación con el Ejemplo 11.

No existe un acuerdo general sobre cuál modelo predice mejor el resultado *in vivo*, pero creemos que ambos modelos están en un acuerdo general de que no hay antagonismo entre los compuestos probados y el Ejemplo 11. Aunque se detectó un antagonismo ligero con el análisis de aditividad por dosis para las combinaciones con NS4B y para una combinación con ribavirina, se clasificó como ‘ligero’, y esta interpretación no fue apoyada por el análisis de independencia de Bliss sobre la misma serie de datos. Cuando dosificamos un inhibidor de nucleósido del virus de hepatitis C (HCV) en combinación con ribavirina, ambos métodos de análisis detectaron un antagonismo o un antagonismo fuerte, demostrando que se puede detectar el antagonismo con nuestros métodos.

A partir de estos estudios, concluimos que el Ejemplo 11 es un buen candidato para la terapia de combinación contra el virus de hepatitis C (HCV).

Tabla 13
Combinación del Ejemplo 11 con IFN α o Ribavirina (SOC) analizada
utilizando el modelo de aditividad por dosis

5

Compuesto en combinación con el Ejemplo 11	CI	Resultado de aditividad por dosis
IFN α	0.99	Casi aditivo
Ribavirina	1.12	Ligeramente antagonista
	1.01	Casi aditivo

10

Tabla 14
Combinación del Ejemplo 11 con otros DAAs analizados utilizando el modelo de aditividad por dosis

15

DAA combinado con el Ejemplo 11	CI	Resultado de aditividad por dosis
Proteasa	1.02	Casi aditivo
NS4B	1.11	Ligeramente antagonista
	1.16	Ligeramente antagonista
Ejemplo 11	0.9	Casi aditivo
HCV Nucleósido – 1	1.01	Casi aditivo
HCV Nucleósido – 2	0.98	Casi aditivo
Polimerasa NS5B sitio I	0.92	Casi aditivo
Polimerasa NS5B sitio III	0.81	Sinergismo moderado
Polimerasa NS5B sitio IV	1.01	Casi aditivo

20

25

5

DAA combinado con el Ejemplo 11	CI	Resultado de aditividad por dosis
Replicasa	0.94	Casi aditivo
	0.94	Casi aditivo
Ciclosporina A	1.01	Casi aditivo

10

Tabla 15
Combinación del Ejemplo 11 con IFNα o ribavirina (SOC) analizada mediante el modelo de independencia de Bliss

15

Compuesto en combinación con el Ejemplo 11	Volumen de Siner- gismo	Volumen de Anta- gonismo	Resultado de Análisis de Independencia de Bliss Sinergismo	Resultado de Análisis de Independencia de Bliss Antagonismo
IFNα	172.88	-3.03	Sinergismo fuerte	Antagonismo insignificante
Ribavirina	102.28	0	Sinergismo fuerte	Antagonismo insignificante
	256.71	0	Sinergismo fuerte	Antagonismo insignificante

20

Tabla 16
Combinación del Ejemplo 11 con otros DAAs analizada mediante el modelo de independencia de Bliss

25

5

10

15

20

25

DAA combinado con el Ejemplo 11	Volumen de Siner- gismo	Volumen de Anta- gonismo	Resultado de Análisis de Independencia de Bliss Sinergismo	Resultado de Análisis de Independencia de Bliss Antagonismo
Proteasa	110.6	-14.68	Sinergismo fuerte	Antagonismo insignificante
NS4B	121.49	-1.49	Sinergismo fuerte	Antagonismo insignificante
	196.46	-0.5	Sinergismo fuerte	Antagonismo insignificante
GSK233580 5A	289.03	-4.36	Sinergismo fuerte	Antagonismo insignificante
Nucleó-sido – 1	151.59	-6.03	Sinergismo fuerte	Antagonismo insignificante
Nucleó-sido – 2	219.71	-2.01	Sinergismo fuerte	Antagonismo insignificante
Polime-rasa NS5B sitio I	273.73	0	Sinergismo fuerte	Antagonismo insignificante
Polime-rasa NS5B sitio III	214.65	-0.5	Sinergismo fuerte	Antagonismo insignificante
Polime-rasa NS5B sitio IV	103.92	-3.57	Sinergismo fuerte	Antagonismo insignificante

5

10

DAA combinado con el Ejemplo 11	Volumen de Siner- gismo	Volumen de Anta- gonismo	Resultado de Análisis de Independencia de Bliss Sinergismo	Resultado de Análisis de Independencia de Bliss Antagonismo
Replicasa	443.54	0	Sinergismo fuerte	Antagonismo insignificante
	245.05	0	Sinergismo fuerte	Antagonismo insignificante
Ciclos- porina A	233.68	-1.34	Sinergismo fuerte	Antagonismo insignificante

Tabla 17

Control de Antagonismo analizado mediante el modelo de aditividad por dosis

15

20

Compuestos en combinación	CI	Resultado de aditividad por dosis
Inhibidor de Nucleósido de HCV + ribavirina	2.77	Antagonismo

Tabla 18

Control de Antagonismo analizado mediante el modelo de independencia de Bliss

25

5

10

Compuestos en combinación	Volumen de Siner- gismo	Volumen de Anta- gonismo	Resultado de Análisis de Independencia de Bliss Sinergismo	Resultado de Análisis de Independencia de Bliss Antagonismo
Inhibidor de Nucleó-sido de HCV + ribavirina	0	-394.2	Sinergismo insignificante	Antagonismo fuerte

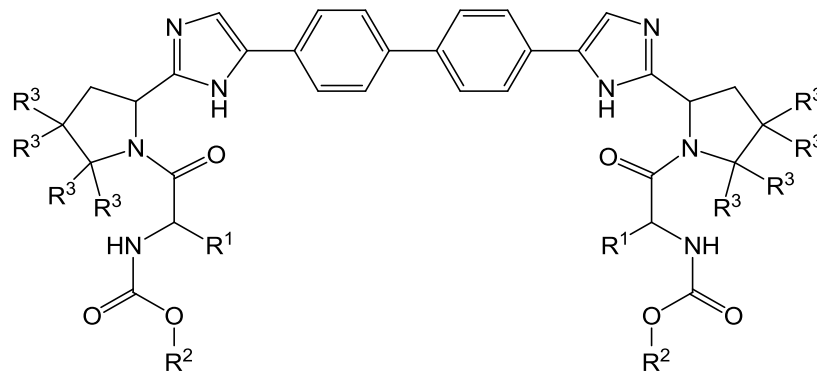
15

20

25

REIVINDICACIONES

1. Un método para el tratamiento de Hepatitis C (HCV) en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar al ser humano, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (III):



(III)

en donde:

cada R^1 es independientemente H o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

cada R^2 es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

en cada átomo de carbono con el que hay grupos R^3 unidos, cualquiera de ambos R^3 s son H, o los grupos R^3 junto con el átomo de carbono con el que están enlazados, forman un anillo espiro saturado de 4, 5 o 6 miembros, con la condición de que no hay más de 1 anillo espiro sobre cada anillo que contiene nitrógeno saturado;

cada espiro saturado formado a partir de los grupos R^3 es independientemente cicloalquilo, o puede contener 1 o 2 átomos de oxígeno, o 1 o 2 átomos de azufre, o 1 SO_2 , o 1 NR^4 ;

cada R^4 es independientemente H, $C(O)O$ -alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, $C(O)$ alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, $C(O)N$ -alquilo de 1 a 4

átomos de carbono, o SO₂-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; y

cada anillo espiro puede estar opcionalmente sustituido con deuterio, flúor, o con 1 o 2 grupos metilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

5

en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales

seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV),

10

un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los grupos R³ forman un anillo espiro sobre cada uno de los dos anillos que contienen nitrógeno saturados ilustrados.

15

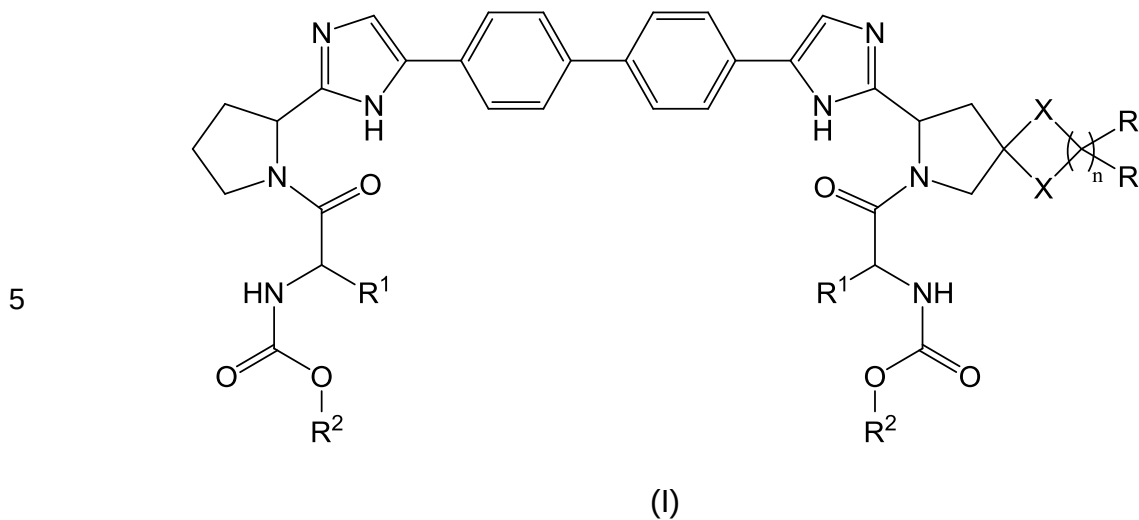
3. El método de acuerdo con la reivindicación 2, en donde cada uno de dichos anillos espiro está enlazado al mismo átomo de carbono relativo en cada anillo que contiene nitrógeno saturado.

4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los grupos R³ forman un anillo espiro sobre solamente uno de los dos anillos que contienen nitrógeno saturados ilustrados.

20

5. Un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV) en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I):

25



10 en donde:

 n es 2 o 3;

 cada R¹ es independientemente H o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

 cada R² es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

 cada X es independientemente CRR, O, o S; y

 cada R es independientemente metilo, hidrógeno, o deuterio;

 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y

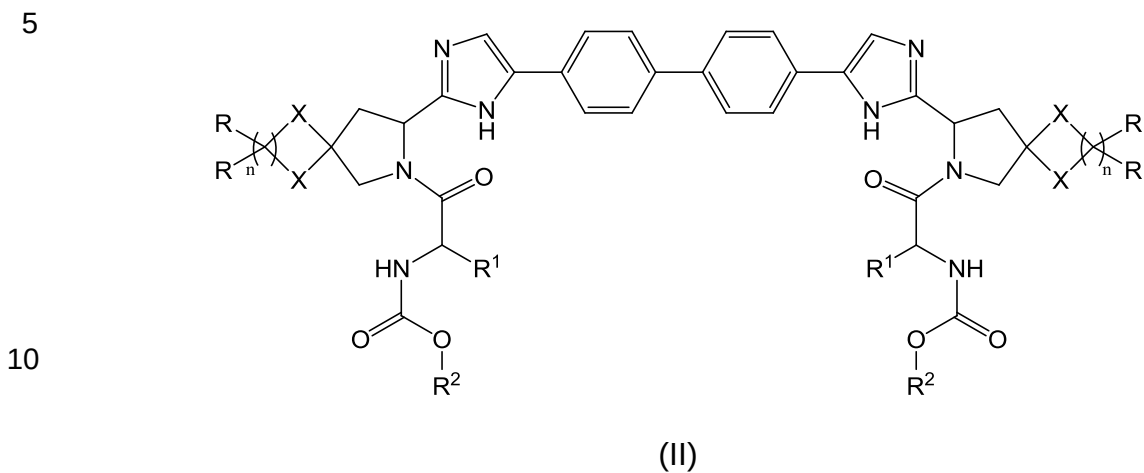
15 uno o más agentes terapéuticos adicionales seleccionados a partir

 del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa

20 NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α-glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un

25 interferón, y un análogo de nucleósido.

6. Un método para el tratamiento del virus de hepatitis C (HCV) en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (II):



en donde:

n es 2 o 3;

cada R¹ es independientemente H o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

cada R² es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

cada X es independientemente CRR, O, o S; y

15 cada R es independientemente metilo, hidrógeno, o deuterio;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y

uno o más agentes terapéuticos adicionales seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α-glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor

20

25

de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido.

7. El método de acuerdo con la reivindicación 5 o con la reivindicación 6, en donde cada X es idéntico.

5 8. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde X es S u O.

9. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en donde cada CRR es CH₂.

10 10. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en donde no más de dos Rs en cada espiro son metilo.

11. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde cada R¹ es isopropilo.

12. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde cada R² es metilo.

13. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto de la fórmula (III) se selecciona a partir del grupo que consiste en:

15 [(1S)-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S,7S,9S)-7,9-dimetil-2-((2S)-3-metil-2-
{[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-6,10-dioxa-2-azaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1H-
imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-2-metil-propil]-
carbamato de metilo;

(4,4'-bifenil-diilbis-{1H-imidazol-4,2-diil[(3S,7S,9S)-7,9-dimetil-6,10-
dioxo-2-azaespiro-[4.5]-decan-3,2-diil][(2S)-3-metil-1-oxo-1,2-butandiil}))-
biscarbamato de dimetilo;

20 (4,4'-bifenil-diilbis-{1H-imidazol-4,2-diil-(8S)-1,4-dioxo-7-azaespiro-
[4.4]-nonan-8,7-diil[(2S)-3-metil-1-oxo-1,2-butandiil}))-biscarbamato de dimetilo;

25 ((1S)-1-metil-2-((3S)-3-[4-(4'-{2-[(2S)-1-((2S)-3-metil-2-[(metiloxi)-
carbonil]-amino}-butanoil)-2-pirrolidinil]-1H-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1H-imidazol-
2-il]-6,10-dioxo-2-azaespiro-[4.5]-dec-2-il]-2-oxo-etil)-carbamato de metilo;

[(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S)-2-((2S)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino]-butanoil)-6,10-dioxa-2-azaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1H-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

5 [(1S)-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S)-8,8-dimetil-2-((2S)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino]-butanoil)-6,10-dioxa-2-azaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1H-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

10 [(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(3S)-2-((2S)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino]-butanoil)-6,10-dioxa-2-azaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1H-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato- d_6 de metilo;

[(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-((2S)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino]-butanoil)-1,4-dioxa-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1H-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato- d_4 de metilo;

15 [(1S)-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(2R,3R,8S)-2,3-dimetil-7-((2S)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino]-butanoil)-1,4-dioxa-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1H-imidazol-5-il}-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

20 [(1S)-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(2S,3S,8S)-2,3-dimetil-7-((2S)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino]-butanoil)-1,4-dioxa-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1H-imidazol-5-il}-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

[(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-((2S)-3-metil-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino]-butanoil)-1,4-ditia-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1H-imidazol-4-il}-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

25 [(1S)-2-metil-1-({(2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-((2S)-2-[[metiloxi]-carbonil]-amino]-butanoil)-1,4-ditia-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1H-imidazol-4-il}-

4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

[(1S)-2-metil-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[(8S)-7-(((metiloxi)-carbonil]

amino}acetil)-1,4-ditia-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1H-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1H-

imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

5

[(1S)-2-metil-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[2-((2S)-3-metil-2-(((metiloxi)-

carbonil]-amino)-butanoil)-8-oxa-2-azaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1H-imidazol-4-il]-4-

bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

[(1S)-2-metil-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[2-((2S)-3-metil-2-(((metiloxi)-

10

carbonil]-amino)-butanoil)-8,8-dióxido-8-tia-2-azaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1H-

imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-propil]-

carbamato de metilo;

[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[8,8-difluoro-2-((2S)-3-metil-2-(((metiloxi)-

carbonil]-amino)-butanoil)-2-azaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1H-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-

1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

(4,4'-bifenil-diilbis-{1H-imidazol-4,2-diil-(3S)-8-oxa-2-azaespiro-

[4.5]-decan-3,2-diil[(2S)-3-metil-1-oxo-1,2-butandiil}))-biscarbamato de dimetilo;

2-{N-[(metiloxi)-carbonil]-L-valil}-3-(4-{4'-[2-((2S)-1-{N-[(metiloxi)-

carbonil]-L-valil}-2-pirrolidinil)-1H-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il)-2,8-

15

diazaespiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de 1,1-dimetil-etilo;

[(1S)-2-metil-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[2-((2S)-3-metil-2-(((metiloxi)-

carbonil]-amino)-butanoil)-2,8-diazaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1H-imidazol-4-il]-4-

bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

[(1S)-1-((2S)-2-[4-(4'-{2-[8-acetil-2-((2S)-3-metil-2-(((metiloxi)-

20

carbonil]-amino)-butanoil)-2,8-diazaespiro-[4.5]-dec-3-il]-1H-imidazol-4-il]-4-

bifenilil)-1H-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de

metilo;

2-{N-[(metiloxi)-carbonil]-L-valil}-3-(4-{4'-[2-((2S)-1-{N-[(metiloxi)-

25

carbonil]-L-valil}-2-pirrolidinil)-1H-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1H-imidazol-2-il)-2,8-

diazaespiro-[4.5]-decan-8-carboxilato de metilo;

6-{*N*-[(metiloxi)-carbonil]-*L*-valil}-7-(4-{4'-[2-((2*S*)-1-{*N*-[(metiloxi)-carbonil]-*L*-valil}-2-pirrolidinil)-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil}-1*H*-imidazol-2-il)-2,6-diazaespiro-[3.4]-octan-2-carboxilato de 1,1-dimetil-etilo;

5

[(1*S*)-2-metil-1-((2*S*)-2-[4-(4'-{2-[6-((2*S*)-3-metil-2-[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-2,6-diazaespiro-[3.4]-oct-7-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

10

[(1*S*)-1-((2*S*)-2-[4-(4'-{2-[2-acetil-6-((2*S*)-3-metil-2-[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-2,6-diazaespiro-[3.4]-oct-7-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

6-{*N*-[(metiloxi)-carbonil]-*L*-valil}-7-(4-{4'-[2-((2*S*)-1-{*N*-[(metiloxi)-carbonil]-*L*-valil}-2-pirrolidinil)-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil}-1*H*-imidazol-2-il)-2,6-diazaespiro-[3.4]-octan-2-carboxilato de metilo;

[(1*S*)-2-metil-1-((2*S*)-2-[4-(4'-{2-[2-[(metil-amino)-carbonil]-6-((2*S*)-3-metil-2-[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-2,6-diazaespiro-[3.4]-oct-7-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

15

[(1*S*)-2-metil-1-((2*S*)-2-[4-(4'-{2-[6-((2*S*)-3-metil-2-[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-2-(metil-sulfonil)-2,6-diazaespiro-[3.4]-oct-7-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

20

[(1*S*)-1-((2*S*)-2-[4-(4'-{2-[(7*S*)-2,2-difluoro-6-((2*S*)-3-metil-2-[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-6-azaespiro-[3.4]-oct-7-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil)-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

25

[(1*S*)-2-metil-1-((2*S*)-2-[4-(4'-{2-[1-((2*S*)-3-metil-2-[(metiloxi)-carbonil]-amino}-butanoil)-8-oxa-1-azaespiro-[4.5]-dec-2-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-

bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

((1*S*)-1-[[[(2*S*)-2-(4-{4'-[2-(1-acetil-8-oxa-1-azaespiro-[4.5]-dec-2-il)-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil]-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

5

[(1*S*)-1-((2*S*)-2-[4-(4'-{2-[8,8-difluoro-1-((2*S*)-3-metil-2-[[[(metiloxi)-carbonil]-amino]-butanoil)-1-azaespiro-[4.5]-dec-2-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-2-metil-propil]-carbamato de metilo;

10

[(1*S*)-1-((8,8-difluoro-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-((2*S*)-3-metil-2-[[[(metiloxi)-carbonil]-amino]-butanoil)-2-pirrolidinil]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-azaespiro-[4.5]-dec-1-il}-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

((1*S*)-2-{8,8-difluoro-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-((2*S*)-3-metil-2-[[[(metiloxi)-carbonil]-amino]-butanoil)-2-pirrolidinil]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-azaespiro-[4.5]-dec-1-il}-1-metil-2-oxo-etil)-carbamato de metilo;

[(1*S*)-1-((8,8-difluoro-2-[4-(4'-{2-[(2*S*)-1-((2*S*)-3-metil-2-[[[(metiloxi)-carbonil]-amino]-butanoil)-2-pirrolidinil]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-azaespiro-[4.5]-dec-1-il}-carbonil)-3-metil-butyl]-carbamato de metilo;

15

((1*S*)-1-[[[(2*S*)-2-(4-{4'-[2-(1-acetil-8,8-difluoro-1-azaespiro-[4.5]-dec-2-il)-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil]-2-metil-propil]-carbamato de metilo; y

20

[(1*S*)-2-metil-1-((2*S*)-2-[4-(4'-{2-[1-((2*S*)-3-metil-2-[[[(metiloxi)-carbonil]-amino]-butanoil)-8,8-dióxido-8-tia-1-azaespiro-[4.5]-dec-2-il]-1*H*-imidazol-4-il]-4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-propil]-carbamato de metilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

14. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto de la fórmula (III) es:

25

[(1*S*)-2-metil-1-((2*S*)-2-[4-(4'-{2-[(8*S*)-7-((2*S*)-3-metil-2-[[[(metiloxi)-carbonil]-amino]-butanoil)-1,4-dioxa-7-azaespiro-[4.4]-non-8-il]-1*H*-imidazol-4-il]-

4-bifenilil)-1*H*-imidazol-2-il]-1-pirrolidinil}-carbonil)-propil]-carbamato de metilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde el segundo agente terapéutico es un interferón.

5

16. El método de acuerdo con la reivindicación 15, en donde el interferón se selecciona a partir del grupo que consiste en interferón alfa-2a, peginterferón alfa-2a, interferón alfa-2b, peginterferón alfa-2b, un análogo de interferón alfa-2b, interferón alfa-2b XL, interferón alfacon-1, interferón alfa-n1, interferón omega, interferón-HDV, peginterferón beta, peginterferón lambda, e interferón-alfa5.

10

17. El método de acuerdo con la reivindicación 15, en donde el interferón se selecciona a partir del grupo que consiste en interferón alfa-2a, peginterferón alfa-2a, interferón alfa-2b, peginterferón alfa-2b, un análogo de interferón alfa-2b, interferón alfacon-1, e interferón alfa-n1.

18. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15 a 17, el cual además comprende administrar un análogo de nucleósido.

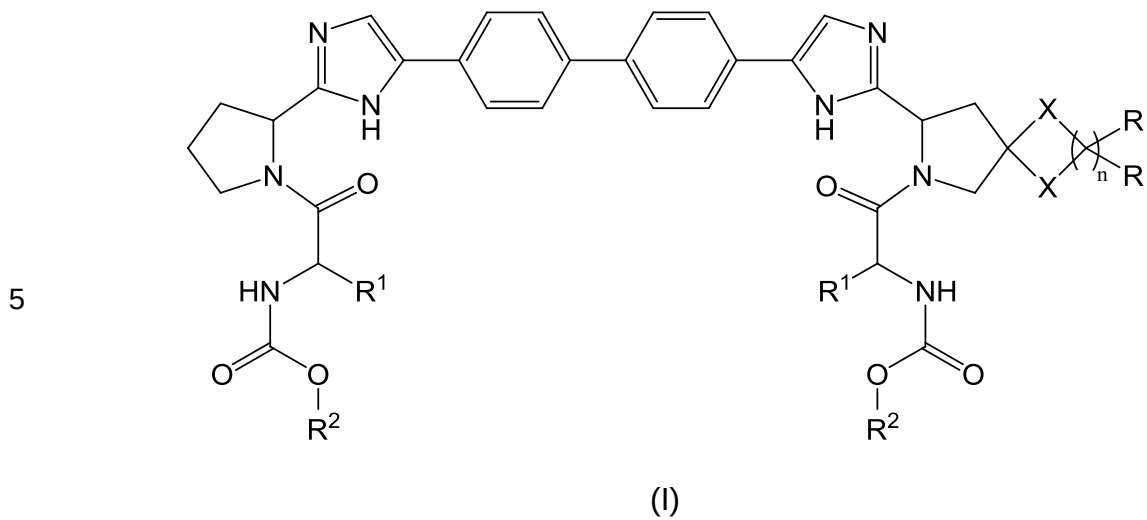
19. El método de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el análogo de nucleósido es ribavirina.

15

20. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan a partir de aquellos agentes enlistados en la Tabla 1.

21. Una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la fórmula (I):

20



10 en donde:

 n es 2 o 3;

 cada R¹ es independientemente H o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

 cada R² es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

 cada X es independientemente CRR, O, o S; y

 cada R es independientemente metilo, hidrógeno, o deuterio;

 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y

 uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C

15 seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de

20 entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α-glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido;

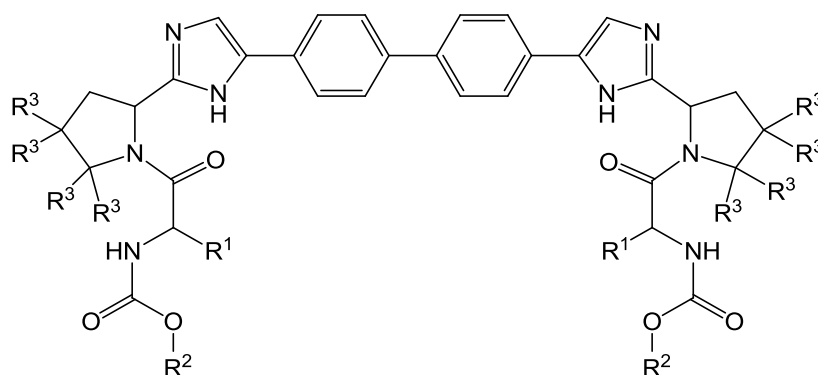
25 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

23. Una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la fórmula (III):

5

10



(III)

en donde:

cada R¹ es independientemente H o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

cada R² es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

15

en cada átomo de carbono con el que hay grupos R³ unidos, cualquiera de ambos R³s son H, o los grupos R³ junto con el átomo de carbono con el que están enlazados, forman un anillo espiro saturado de 4, 5 o 6 miembros, con la condición de que no hay más de 1 anillo espiro sobre cada anillo que contiene nitrógeno saturado;

20

cada espiro saturado formado a partir de los grupos R³ es independientemente cicloalquilo, o puede contener 1 o 2 átomos de oxígeno, o 1 o 2 átomos de azufre, o 1 SO₂, o 1 NR⁴;

cada R⁴ es independientemente H, C(O)O-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, C(O)alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, C(O)N-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, o SO₂-alquilo de 1 a 4 átomos de carbono; y

25

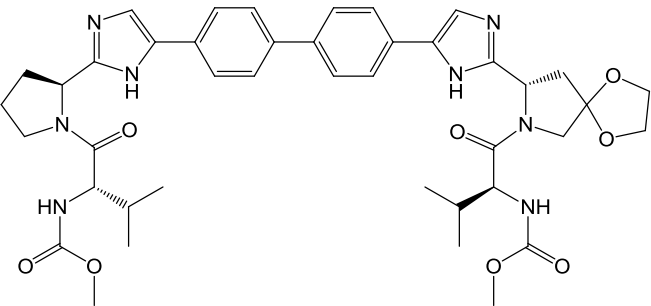
cada anillo espiro puede estar opcionalmente sustituido con deuterio, flúor, o con 1 o 2 grupos metilo;

de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido;

5 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

25. Una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto que tiene la estructura:

10

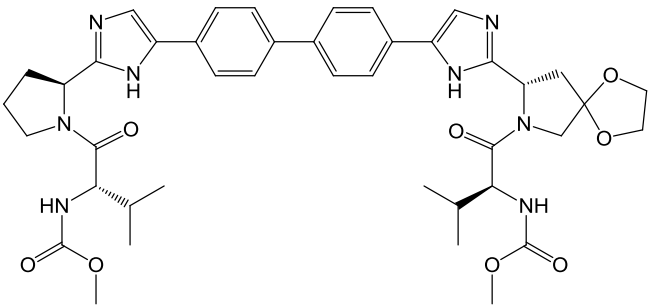


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más compuestos enlistados en la Tabla
1;

y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

26. Una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto que tiene la estructura:

15



20

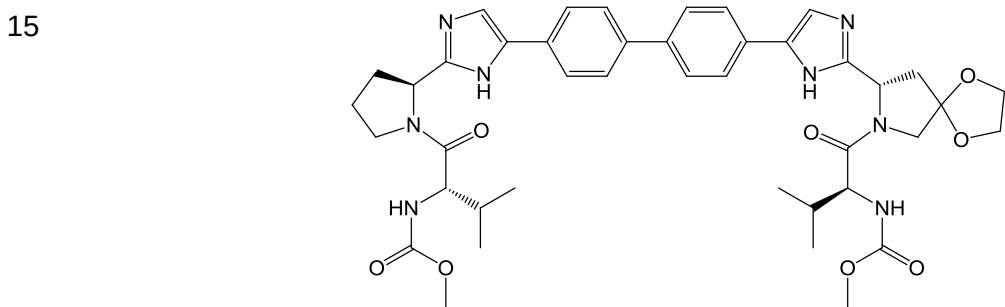
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en combinación con uno o más compuestos seleccionados a partir
del grupo de:

25	Telaprevir	Vertex
	Boceprevir	Merck
	Vaniprevir (MK-7009)	Merck

5	MK-5172	Merck
	Danoprevir (RG7227) (ITMN-191)	Roche
	Simeprevir (TMC-435)	JNJ Tibotec
	IDX-077	Idenix
	IDX-791	Idenix
10	ACH-1625	Achillion
	ACH-2684	Achillion
	ABT-450	Abbott
	VX-222	Vertex
	Setrobuvir (RG-7790) (ANA-598)	Roche
15	TMC-647055	J&J
	IDX-375	Idenix
	ALS-2200	Vertex
	ALS-2158	Vertex
	Mericitabina (RG-7128)	Roche
20	IDX-184	Idenix
	MK-4882	Merck
	IDX-719	Idenix
	IDX-19370	Idenix
	IDX-19368	Idenix
25	ACH-2928	Achillion
	ACH-3102	Achillion
	PPI-461	Presidio
	PPI-668	Presidio
	PPI-437	Presidio
	EDP-239	Novartis
	MK-4882	Merck
	GS-5885	Gilead

	Daclatasvir (BMS-790052)	BMS
	BMS-824393	BMS
	ABT-267	Abbott
5	BI-201335	BI
	BI-207127	BI
	Filibuvir (PF-868554)	Pfizer
	BMS-791325	BMS
	INX-189	BMS
10	ABT-333	Abbott
	ABT-072	Abbott
	Debio-025	Novartis
	SCY-635	Scynexes:
	Tegobuvir (GS-9190)	Gilead
	GS-9669, y	Gilead
	GS-7977	Gilead;
	y un excipiente farmacéuticamente aceptable.	

27. Una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto que tiene la estructura:



20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más compuestos seleccionados a partir del grupo de:

	Danoprevir (RG7227) (ITMN-191)	Roche
	Simeprevir (TMC-435)	JNJ Tibotec
25	Setrobuvir (RG-7790) (ANA-598)	Roche

en donde cada R es independientemente $-\text{CH}(\text{R}^1)-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^2$;

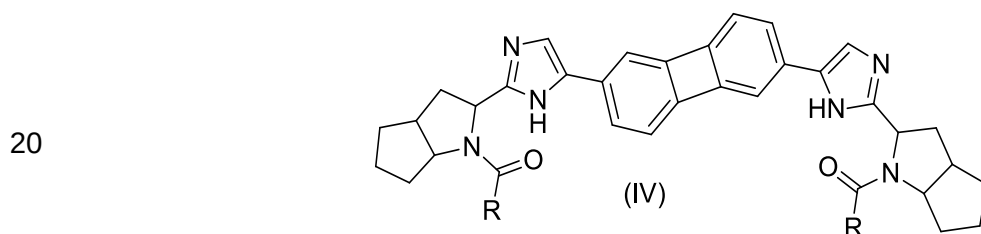
en donde cada R^1 es independientemente $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_3$ o $-\text{CH}(\text{OCH}_3)-\text{CH}_3$; y

5 cada R^2 es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido.

15 30. Un método para prevenir o tratar Hepatitis C en un ser humano que lo necesite, el cual comprende administrar al ser humano, un compuesto de la fórmula (IV):



en donde cada R es independientemente $-\text{CH}(\text{R}^1)-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^2$;

en donde cada R^1 es independientemente $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_3$ o $-\text{CH}(\text{OCH}_3)-\text{CH}_3$; y

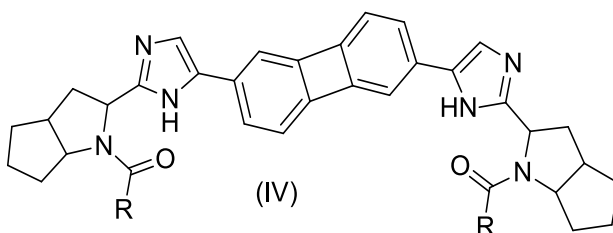
25 cada R^2 es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de

carbono;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de nucleósido.

31. Una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la fórmula (IV):



en donde cada R es independientemente $-\text{CH}(\text{R}^1)-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^2$;

en donde cada R^1 es independientemente $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_3$ o $-\text{CH}(\text{OCH}_3)-\text{CH}_3$; y

cada R^2 es independientemente alquilo de 1 a 3 átomos de carbono;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C seleccionados a partir del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa NS2 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteasa

NS3/4A del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de helicasa NS3 del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del factor de replicación NS4B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de polimerasa NS5B del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de entrada del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor del
5 sitio de entrada al ribosoma interno del virus de hepatitis C (HCV), un inhibidor de proteína microsomal de transferencia de triglicéridos, un inhibidor de α -glucosidasa, un inhibidor de caspasa, un inhibidor de ciclofilina, un inmunomodulador, un inhibidor de la senda metabólica, un interferón, y un análogo de
10 nucleósido,
y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15

20

25

PCT/US12/52216

Sheet No.

Box No. VIII(ii) DECLARATION: ENTITLEMENT TO APPLY FOR AND BE GRANTED A PATENT

The declaration must conform to the standardized wording provided for in Section 212; see Notes to Boxes Nos. VIII, VIII(I) to (v) (in general and the specific Notes to Box No. VIII(ii)). If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.

Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51*bis*.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate:
in relation to international application No. PCT/US12/52216

GLAXOSMITHKLINE LLC is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:

an assignment from

Jill Walker, c/o GlaxoSmithKline, Global Patents, Five Moore Drive, PO Box 13398, Research Triangle Park, NC 27709 USA, to GLAXOSMITHKLINE LLC, One Franklin Plaza, 200 North 16th Street, Philadelphia, Pennsylvania 19102 dated Sept. 28, 2012

Christian Voitenleitner, c/o GlaxoSmithKline, Global Patents Dept., Five Moore Drive, PO Box 13398, Research Triangle Park, NC 27709 USA, to GLAXOSMITHKLINE LLC, One Franklin Plaza, 200 North 16th Street, Philadelphia, Pennsylvania 19102 dated Oct. 8, 2012

Assignment recorded on October 30, 2012, 2012 at Reel/Frame 029211/0921

☐ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII(ii)".

Form PCT/RO/101 (declaration sheet (ii)) (March 2001; reprint January 2003)
the request form

See Notes to

(21) No. de solicitud:				(51) Int Cl: A01N 43/38	
(22) Fecha de solicitud: 26-02-14				(71) Solicitante(s): GLAXOSMITHKLINE LLC	
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País	(72) Inventor(es): WALKER, Jill y VOITENLEITNER, Christian.	
	61/526,798	24-08-11	US		
	61/529,358	31-08-11	US		
	61/617,813	30-03-12	US		
				(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE	
(85)	Fecha límite inicio fase nacional: 24-03-14			(87) Publicación internacional	
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT			Fecha: 28-02-13	
	Fecha de presentación de la solicitud: 24-08-12			No. publicación: WO 2013/028953 A1	
	No. de solicitud: PCT/US2012/052216				
(54) Titulo:				"TRATAMIENTOS DE COMBINACIÓN PARA HEPATITIS C"	

Resumen - Reivindicación(es):

Resumen.-

La presente invención proporciona métodos y composiciones farmacéuticas para el tratamiento de Hepatitis C en un ser humano que lo necesite, los cuales comprenden administrar un compuesto de la fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI) descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C.

Sector: Sector Farmacéutico. Métodos y composiciones farmacéuticas para el tratamiento de la Hepatitis C.

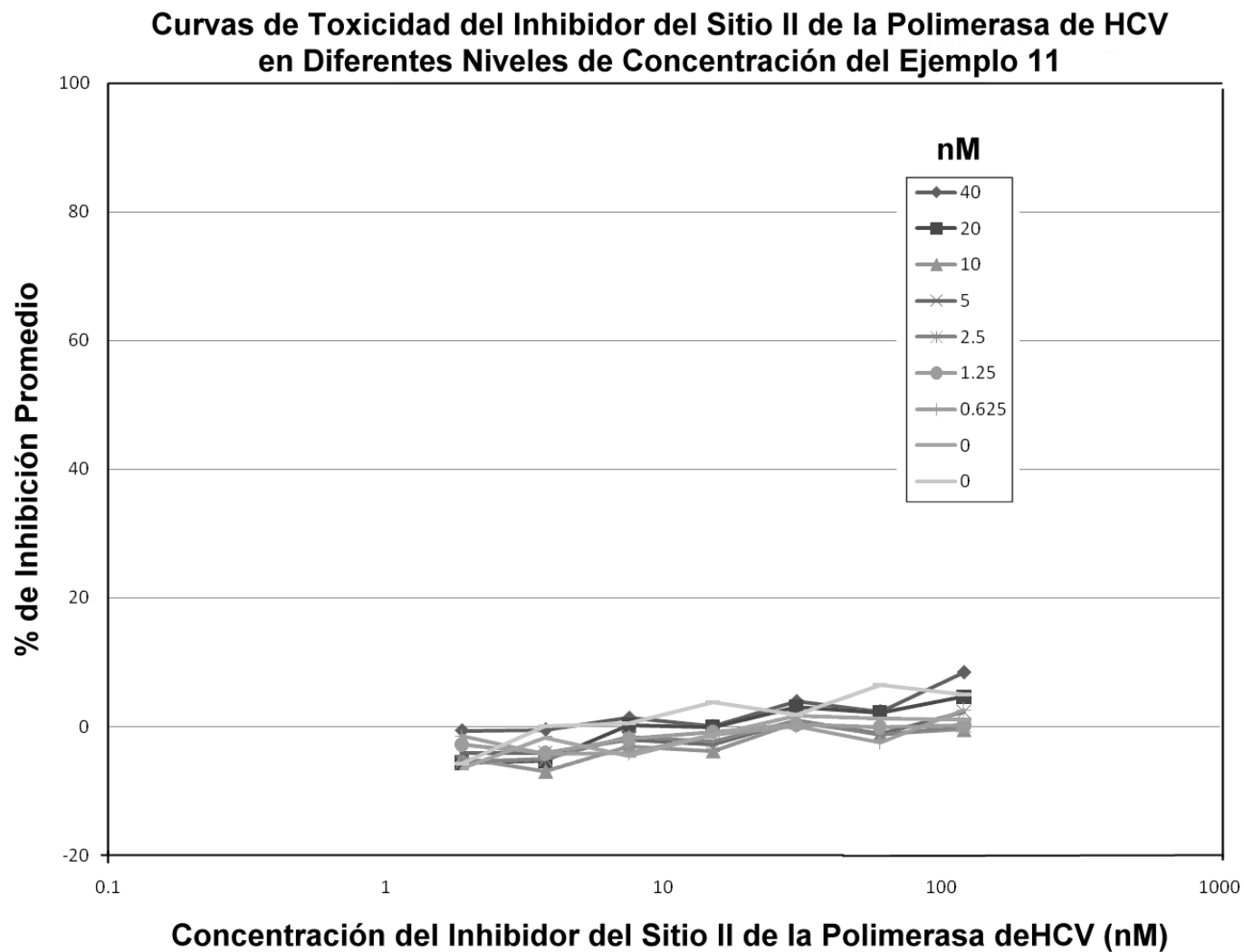


FIG. 1

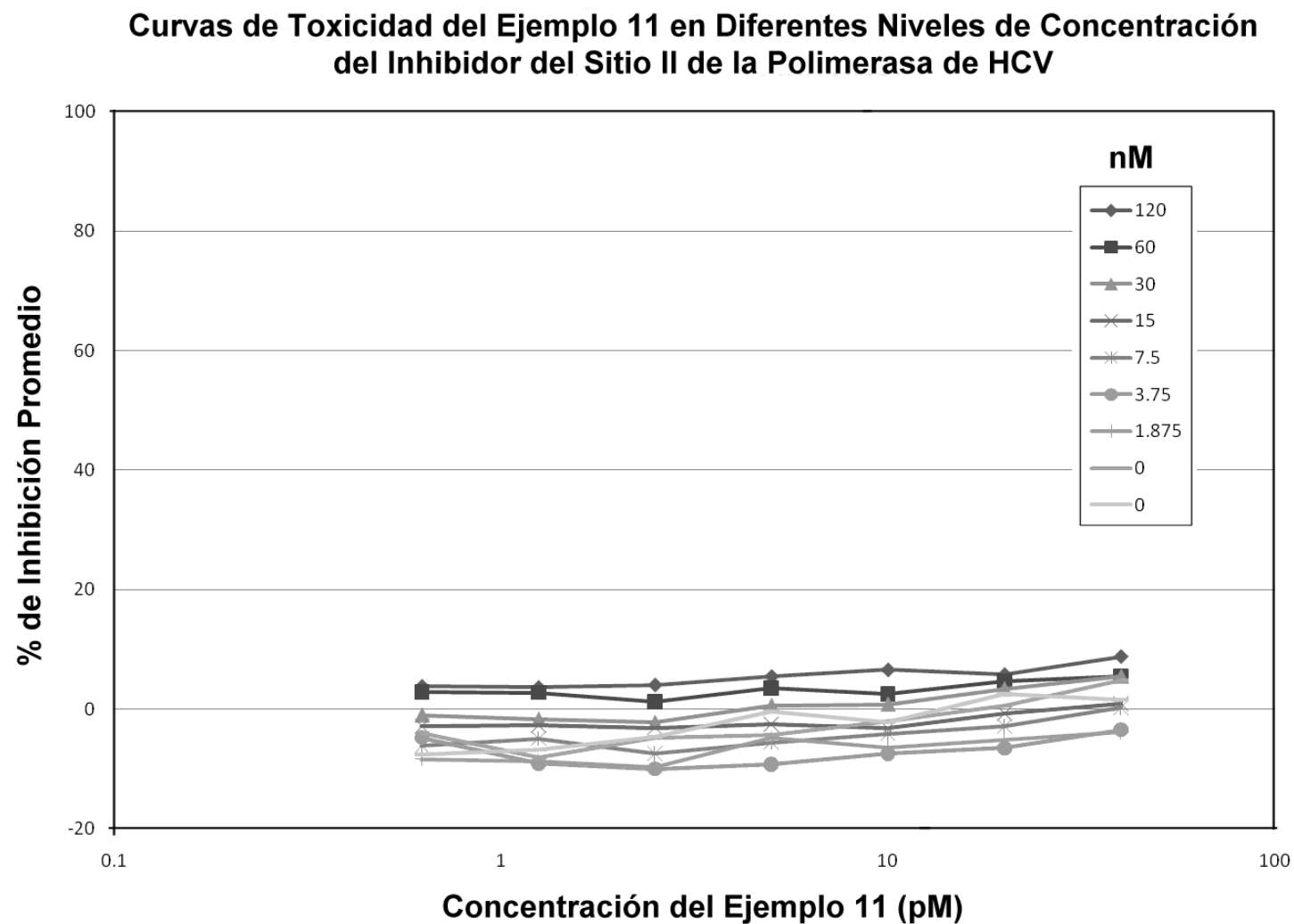


FIG. 2A

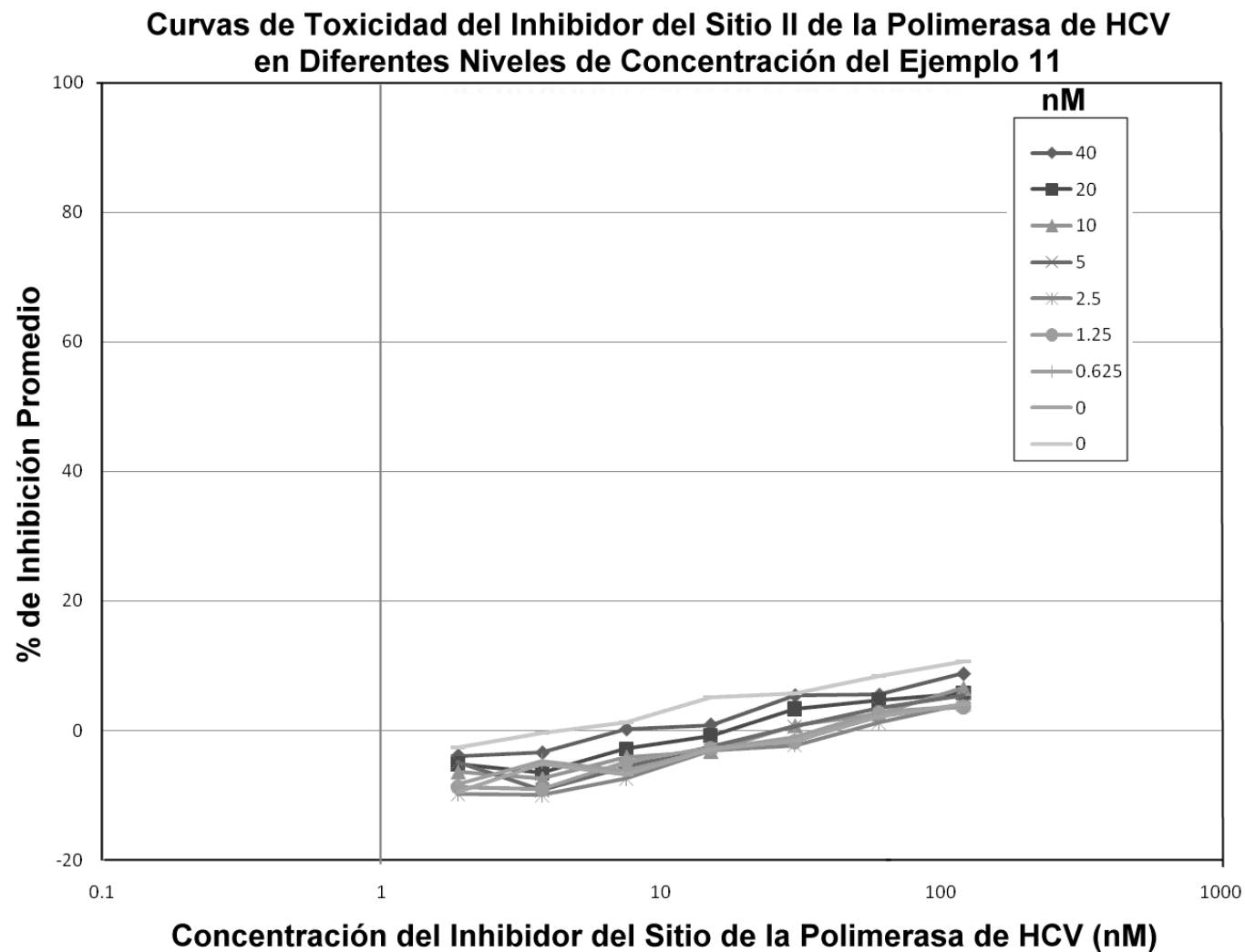


FIG. 2B

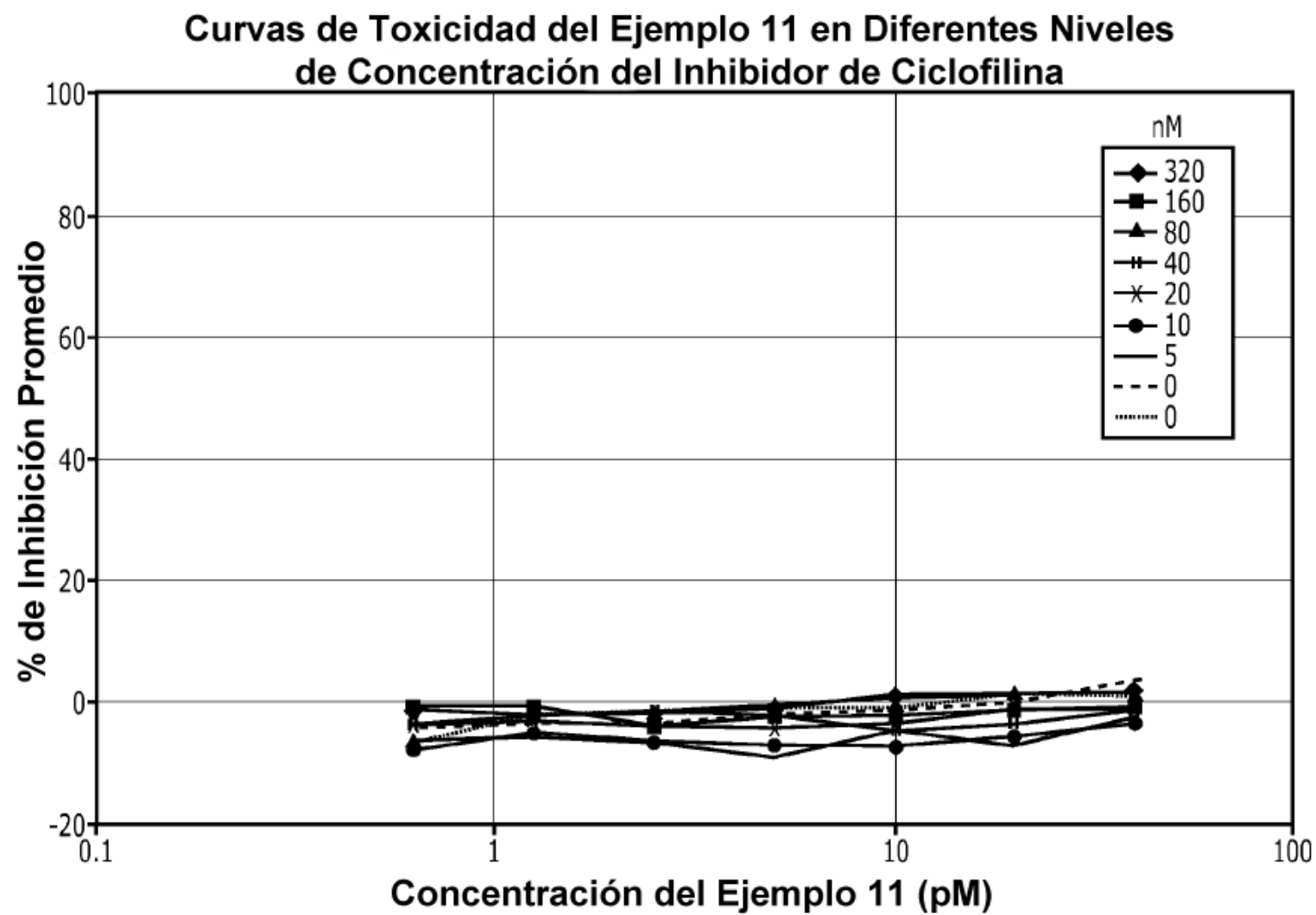


FIG. 3A

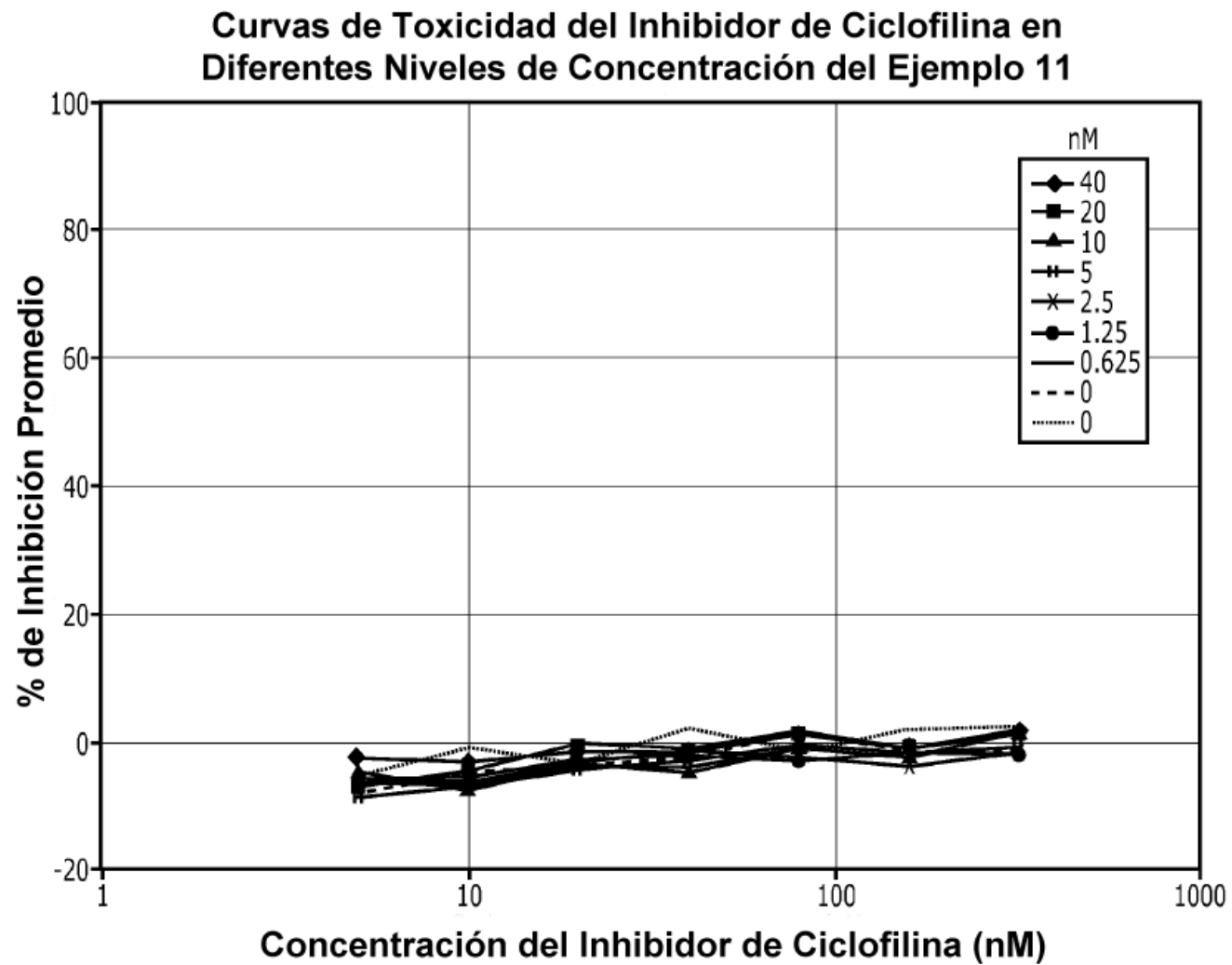


FIG. 3B

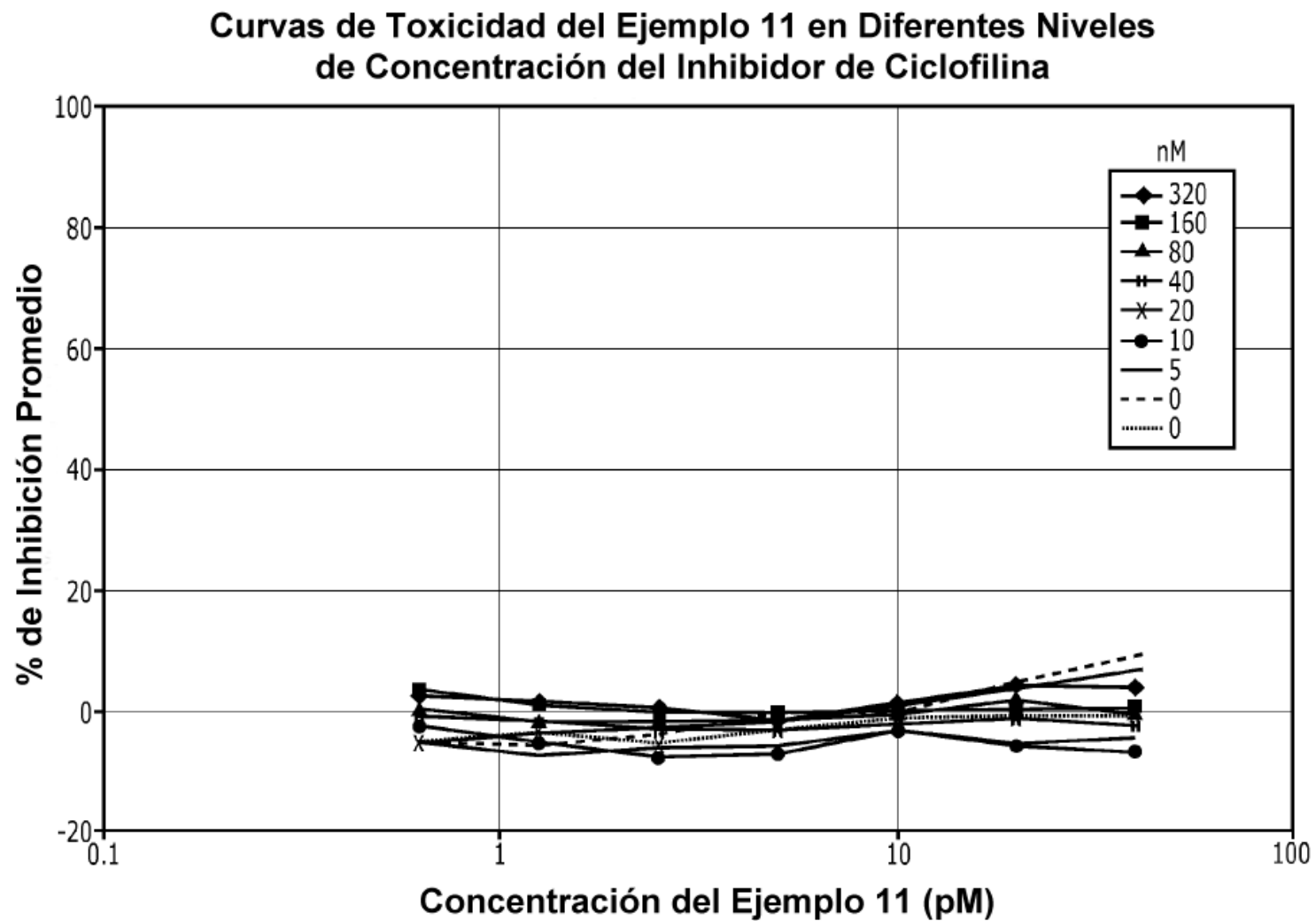


FIG. 4A

**Curvas de Toxicidad del Inhibidor de Ciclofilina en
Diferentes Niveles de Concentración del Ejemplo 11**

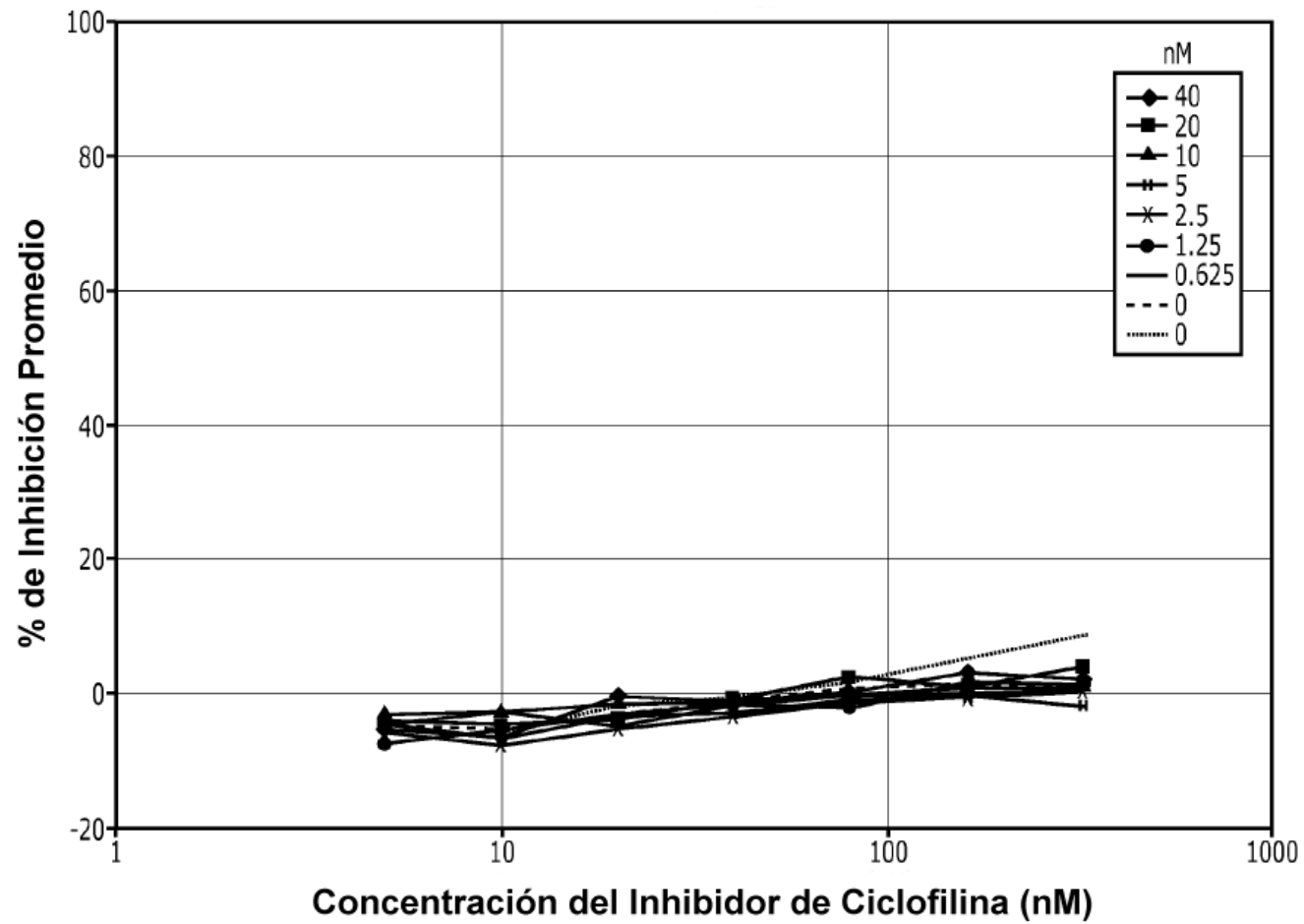


FIG. 4B

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

THOMAS, Robert (Steve)
 GlaxoSmithKline
 Global Patents
 Five Moore Drive
 PO Box 13398
 Research Triangle Park, North Carolina 27709
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 21 January 2014 (21.01.2014)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference PR64747WO	
International application No. PCT/US2012/052216	International filing date (day/month/year) 24 August 2012 (24.08.2012)

1. The following indications appeared on record concerning:		
☒ the applicant	☐ the inventor	☐ the agent
☐ the common representative		
Name and Address GLAXOSMITHKLINE LLC One Franklin Plaza 200 North 16th Street Philadelphia, Pennsylvania 19102 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No. 919-483-2370	
	Facsimile No. 919-483-7977	
	E-mail address usciprtp@gsk.com	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
☐ the person	☐ the name	☒ the address
☐ the nationality		
☐ the residence		
Name and Address GLAXOSMITHKLINE LLC 5 Crescent Drive Philadelphia, Pennsylvania 19112 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No. 919-483-2370	
	Facsimile No. 919-483-7977	
	E-mail address usciprtp@gsk.com	
☐ Notifications by e-mail authorized		
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to:		
☒ the receiving Office	☐ the International Preliminary Examining Authority	
☐ the International Searching Authority	☒ the designated Offices concerned	
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search	☐ the elected Offices concerned	
	☐ other:	

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 80 40	Authorized officer Seymany Malathib e-mail ept.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 78 78
---	--

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To: ROBERT (STEVE) THOMAS
GLAXOSMITHKLINE
GLOBAL PATENTS
FIVE MOORE DRIVE, PO BOX 13398
RESEARCH TRIANGLE PARK, NC 27709

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year)

24 OCT 2012

Applicant's or agent's file reference
PR64747WO

FOR FURTHER ACTION

See paragraph 2 below

International application No.

PCT/US 12/52216

International filing date (day/month/year)

24 August 2012 (24.08.2012)

Priority date (day/month/year)

24 August 2011 (24.08.2011)

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC

IPC(8) - A01N 43/38, 37/18; A61K 31/40; A61P 1/16 (2012.01)

USPC - 514/4.3; 514/409

Applicant GLAXOSMITHKLINE LLC

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1 bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA/US
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. 571-273-3201

Date of completion of this opinion

01 October 2012 (01.10.2012)

Authorized officer:

Lee W. Young

PCT Helpdesk: 571-272-4300
PCT OSP: 571-272-7774

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US 12/52216

Box No. I Basis of this opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed.
 - ☐ a translation of the international application into _____ which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:
 - a. (means)
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - b. (time)
 - ☐ in the international application as filed
 - ☐ together with the international application in electronic form
 - ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US 12/52216

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application.

☒ claims Nos. 8-12, 15-19

because:

☐ the said international application, or the said claims Nos. _____ relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

☒ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. 8-12, 15-19 are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

Claims 8-12 and 15-19 are improper multiple dependent claims because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☒ no international search report has been established for said claims Nos. 8-12, 15-19

☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit

☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rule 13ter.1(a) or (b).

☐ See Supplemental Box for further details.

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.

PCT/US 12/52216

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

I. Statement

Novelty (N)	Claims	2-7, 13-14, 21-22, 24-31	YES
	Claims	1, 20, 23	NO
Inventive step (IS)	Claims	None	YES
	Claims	1-7, 13-14, 20-31	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-7, 13-14, 20-31	YES
	Claims	None	NO

2. Citations and explanations:

Claims 1, 20 and 23 lack novelty under PCT Article 33(2) as being anticipated by US 2009/0068140 A1 to Bachand, et al. (hereinafter 'Bachand '140').

As to claim 1, Bachand '140 discloses a method of treating Hepatitis C in a human in need thereof comprising administering to the human a therapeutically effective amount (para[0084]) of a compound of Formula(III): [pictured structure] wherein:

each R1 is C3alkyl;

each R2 is C1alkyl; and wherein

on each carbon to which there are R3 groups attached both R3s are H (para[0453])

or a pharmaceutically acceptable salt thereof (para[0009]) in combination with a one or more additional therapeutic agents selected from the group consisting of an HCV NS2 protease inhibitor, an HCV NS3/4A protease inhibitor, an HCV NS3 helicase inhibitor, an HCV NS4B replication factor inhibitor, an HCV NS5B polymerase inhibitor, an HCV entry inhibitor, an HCV internal ribosome entry site inhibitor, a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor, an α -glucosidase inhibitor, a caspase inhibitor, a cyclophilin inhibitor, an immunomodulator, a metabolic pathway inhibitor, an interferon, and a nucleoside analogue (para[0081]-[0087]).

As to claim 20, Bachand '140 discloses the method according to claim 1 and further discloses wherein the one or more additional therapeutic agents are selected from those agents listed in Table 1 (para[0201], i.e. telaprevir).

As to claim 23, Bachand '140 discloses a pharmaceutical composition comprising a compound (para[0178]) of Formula (III):[pictured structure] wherein:

each R1 is C3alkyl;

each R2 is C1alkyl;

on each carbon to which there are R3 groups attached both R3s are H (para[0453])

or a pharmaceutically acceptable salt thereof (para[0009]) in combination with a one or more additional therapeutic agents selected from the group consisting of an HCV NS2 protease inhibitor, an HCV NS3/4A protease inhibitor, an HCV NS3 helicase inhibitor, an HCV NS4B replication factor inhibitor, an HCV NS5B polymerase inhibitor, an HCV entry inhibitor, an HCV internal ribosome entry site inhibitor, a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor, an α -glucosidase inhibitor, a caspase inhibitor, a cyclophilin inhibitor, an immunomodulator, a metabolic pathway inhibitor, an interferon, and a nucleoside analogue (para[0081]-[0087]) and a pharmaceutically acceptable excipient (para[0178]).

Claims 2-7 and 21-22 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Bachand '140 in view of US 2009/0202483 A1 to Bachand, et al. (hereinafter 'Bachand '483').

As to claim 2, Bachand '140 discloses the method according to claim 1, but does not disclose wherein the R3 groups form a spiro ring on each of the two depicted saturated nitrogen-containing rings. However, Bachand '483 discloses a HCV inhibitor (para[0044]) with a similar structure wherein the R3 groups form a spiro ring on each of the two depicted saturated nitrogen-containing ring (para[0009]-[0015], Formula (I), wherein D and E are 5- membered aromatic rings containing two heteroatoms; R4 and R4' are selected from structure 1). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the spirocyclic structural feature of the compound disclosed by Bachand '483 with the HCV inhibitor used in the method disclosed by Bachand '140, in order to enhance therapeutic efficacy toward treating HCV infection in a subject, without undue experimentation, because both Bachand '140 and Bachand '483 disclose structurally similar compounds useful in the treatment of HCV.

As to claim 3, Bachand '140 and Bachand '483 discloses the method according to claim 2 and Bachand '483 further discloses wherein each of said spiro rings is bonded to the same relative carbon atom in each saturated nitrogen-containing ring (para[0015] where both R4 and R4' are the same spiro ring).

---Please See Continuation in Supplemental Box-----

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.

PCT/US 12/52216

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of:
Citations and Explanation:

As to claim 4, Bachand '140 discloses the method according to claim 1, wherein Bachand '483 further discloses wherein the R3 groups form a spiro ring on only one of the two depicted saturated nitrogen-containing rings (para[0009] and [0015], R4 and R4' are each independently selected from structures shown).

As to claim 5, Bachand '140 discloses a method of treating Hepatitis C in a human in need thereof comprising administering to the human a therapeutically effective amount (para[0084]) of a compound of Formula(I): [pictured structure] wherein:

each R1 is C3alkyl;

each R2 is C1alkyl (para[0453])

or a pharmaceutically acceptable salt thereof (para[0009]) in combination with a one or more additional therapeutic agents selected from the group consisting of an HCV NS2 protease inhibitor, an HCV NS3/4A protease inhibitor, an HCV NS3 helicase inhibitor, an HCV NS4B replication factor inhibitor, an HCV NS5B polymerase inhibitor, an HCV entry inhibitor, an HCV internal ribosome entry site inhibitor, a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor, an α -glucosidase inhibitor, a caspase inhibitor, a cyclophilin inhibitor, an immunomodulator, a metabolic pathway inhibitor, an interferon, and a nucleoside analogue (para[0081]-[0087]), but does not disclose wherein a spiro ring formed on the saturated nitrogen-containing ring wherein each X is independently CRR, O, or S; and each R is independently methyl, hydrogen, or deuterium. However, Bachand '483 discloses a spiro ring on the saturated nitrogen-containing ring wherein n is 2 or 3; X is CRR and R is hydrogen (para[0009]-[0017], Formula (I), wherein D and E are 5- membered aromatic rings containing two heteroatoms; R4 and R4' are selected from structure 1, wherein m is 1 and o is 2 or 3). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the spirocyclic structural feature of the compound disclosed by Bachand '483 with the HCV inhibitor used in the method disclosed by Bachand '140, in order to enhance therapeutic efficacy toward treating HCV infection in a subject, without undue experimentation, because both Bachand '140 and Bachand '483 disclose structurally similar compounds useful in the treatment of HCV.

As to claim 6, Bachand '140 discloses a method of treating Hepatitis C in a human in need thereof comprising administering to the human a therapeutically effective amount (para[0084]) of a compound of Formula(I): [pictured structure] wherein:

each R1 is C3alkyl;

each R2 is C1alkyl (para[0453])

or a pharmaceutically acceptable salt thereof (para[0009]) in combination with a one or more additional therapeutic agents selected from the group consisting of an HCV NS2 protease inhibitor, an HCV NS3/4A protease inhibitor, an HCV NS3 helicase inhibitor, an HCV NS4B replication factor inhibitor, an HCV NS5B polymerase inhibitor, an HCV entry inhibitor, an HCV internal ribosome entry site inhibitor, a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor, an α -glucosidase inhibitor, a caspase inhibitor, a cyclophilin inhibitor, an immunomodulator, a metabolic pathway inhibitor, an interferon, and a nucleoside analogue (para[0081]-[0087]), but does not disclose wherein a spiro rings are formed on the saturated nitrogen-containing rings wherein each X is independently CRR, O, or S; and each R is independently methyl, hydrogen, or deuterium. However, Bachand '483 discloses spiro rings on the saturated nitrogen-containing ring wherein n is 2 or 3; X is CRR and R is hydrogen (para[0009]-[0017], Formula (I), wherein D and E are 5- membered aromatic rings containing two heteroatoms; R4 and R4' are selected from structure 1, wherein m is 1 and o is 2 or 3). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the spirocyclic structural feature of the compound disclosed by Bachand '483 with the HCV inhibitor used in the method disclosed by Bachand '140, in order to enhance therapeutic efficacy toward treating HCV infection in a subject, without undue experimentation, because both Bachand '140 and Bachand '483 disclose structurally similar compounds useful in the treatment of HCV.

As to claim 7, Bachand '140 in view of Bachand '483 discloses the method according to claim 5 or claim 6 and further discloses wherein each X is identical (see claims 5 and 6 above where X's are CRR).

As to claim 21, Bachand '140 discloses a pharmaceutical composition comprising a compound (para[0178]) of Formula (I):[pictured structure] wherein:

each R1 is C3alkyl;

each R2 is C1alkyl (para[0453])

or a pharmaceutically acceptable salt thereof (para[0009]) in combination with a one or more additional therapeutic agents selected from the group consisting of an HCV NS2 protease inhibitor, an HCV NS3/4A protease inhibitor, an HCV NS3 helicase inhibitor, an HCV NS4B replication factor inhibitor, an HCV NS5B polymerase inhibitor, an HCV entry inhibitor, an HCV internal ribosome entry site inhibitor, a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor, an α -glucosidase inhibitor, a caspase inhibitor, a cyclophilin inhibitor, an immunomodulator, a metabolic pathway inhibitor, an interferon, and a nucleoside analogue (para[0081]-[0087]) and a pharmaceutically acceptable excipient (para[0178]), but does not disclose wherein a spiro ring is formed on the saturated nitrogen-containing ring wherein each X is independently CRR, O, or S; and each R is independently methyl, hydrogen, or deuterium. However, Bachand '483 discloses a spiro ring on the saturated nitrogen-containing ring wherein n is 2 or 3; X is CRR and R is hydrogen (para[0009]-[0017], Formula (I), wherein D and E are 5- membered aromatic rings containing two heteroatoms; R4 and R4' are independently selected from structures 1 and 2, wherein m is 1 and o is 2 or 3). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the spirocyclic structural feature of the compound disclosed by Bachand '483 with the HCV inhibitor used in the method disclosed by Bachand '140, in order to enhance therapeutic efficacy toward treating HCV infection in a subject, without undue experimentation, because both Bachand '140 and Bachand '483 disclose structurally similar compounds useful in the treatment of HCV.

-----Please See Continuation in Next Supplemental Box-----

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US 12/52216

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of:
Prior Supplemental Box:

As to claim 22, Bachand '140 discloses a pharmaceutical composition comprising a compound (para[0178]) of Formula (II):[pictured structure] wherein:
each R1 is C3alkyl;
each R2 is C1alkyl (para[0453])
or a pharmaceutically acceptable salt thereof (para[0009]) in combination with a one or more additional therapeutic agents selected from the group consisting of an HCV NS2 protease inhibitor, an HCV NS3/4A protease inhibitor, an HCV NS3 helicase inhibitor, an HCV NS4B replication factor inhibitor, an HCV NS5B polymerase inhibitor, an HCV entry inhibitor, an HCV internal ribosome entry site inhibitor, a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor, an α -glucosidase inhibitor, a caspase inhibitor, a cyclophilin inhibitor, an immunomodulator, a metabolic pathway inhibitor, an interferon, and a nucleoside analogue (para[0081]-[0087]) and a pharmaceutically acceptable excipient (para[0178]), but does not disclose wherein a spiro ring is formed on the saturated nitrogen-containing ring wherein each X is independently CRR, O, or S; and each R is independently methyl, hydrogen, or deuterium. However, Bachand '483 discloses spiro rings on the saturated nitrogen-containing ring wherein n is 2 or 3; X is CRR and R is hydrogen (para[0009]-[0017], Formula (I), wherein D and E are 5- membered aromatic rings containing two heteroatoms; R4 and R4' are independently selected from structures 1 and 2, wherein m is 1 and o is 2 or 3). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the spirocyclic structural feature of the compound disclosed by Bachand '483 with the HCV inhibitor used in the method disclosed by Bachand '140, in order to enhance therapeutic efficacy toward treating HCV infection in a subject, without undue experimentation, because both Bachand '140 and Bachand '483 disclose structurally similar compounds useful in the treatment of HCV.

Claims 13-14 and 24-26 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Bachand '140 in view of WO 2010/062821 A1 to Schmitz, et al. (hereinafter 'Schmitz').

As to claims 13-14, Bachand '140 discloses the method according to claim 1, but does not disclose wherein the compound of Formula (III) is selected from the group consisting of the listed compounds, because Bachand '140 does not disclose a dioxo-aza-spiro ring. However, Schmitz discloses an antiviral compound used to treat HCV (pg 8) with a structure analogous to Formula (III) (pg 4-5, Formula (I), wherein Ar1 and Ar2 are phenyl) containing a heterocyclic spirocyclic group off the nitrogen containing saturated ring (pg 5, R8a and R7a form a heterocyclic ring which includes spiro rings with oxygen heteroatoms, pg 21). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the spiroheterocyclic structural feature of the compound disclosed by Schmitz with the HCV inhibitor used in the method disclosed by Bachand '140 and design a compound listed in instant claim 13, namely, methyl [(1 S)-2-methyl-1-((2S)-2-[4-(4'-[2-((8S)-7-(2S)-3-methyl-2-((methyloxy)carbonyl[amino]butanoyl)-1,4-dioxo-7-azaspiro[4.4]non-8-yl]-1H-imidazol-4-yl)-4-biphenyl)-1 H-imidazol-2-yl]-1-pyrrolidinyl)carbonyl)propyl]carbamate, in order to enhance therapeutic efficacy toward treating HCV infection in a subject, without undue experimentation, because both Bachand '140 and Schmitz disclose structurally analogous compounds useful in the treatment of HCV.

As to claim 24, Bachand '140 discloses a pharmaceutical composition comprising a compound structurally analogous to the compound having the structure: [pictured structure] (para[0178], [0453]) or a pharmaceutically acceptable salt thereof (para[0173]) in combination with a one or more additional therapeutic agents selected from the group consisting of an HCV NS2 protease inhibitor, an HCV NS3/4A protease inhibitor, an HCV NS3 helicase inhibitor, an HCV NS4B replication factor inhibitor, an HCV NS5B polymerase inhibitor, an HCV entry inhibitor, an HCV internal ribosome entry site inhibitor, a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor, an α -glucosidase inhibitor, a caspase inhibitor, a cyclophilin inhibitor, an immunomodulator, a metabolic pathway inhibitor, an interferon, and a nucleoside analogue (para[0081]-[0087]) and a pharmaceutically acceptable excipient (para[0178]). The disclosed structure of Bachand '140 differs from the claimed structure in that there is not a dioxo-aza-spiro cyclic group of the nitrogen containing saturated ring. However, Schmitz discloses an antiviral compound used to treat HCV (pg 8) with a structure analogous to Formula (III) (pg 4-5, Formula (I), wherein Ar1 and Ar2 are phenyl) containing a heterocyclic spirocyclic group off the nitrogen containing saturated ring (pg 5, R8a and R7a form a heterocyclic ring which includes spiro rings with oxygen heteroatoms, pg 21). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the spiroheterocyclic structural feature of the compound disclosed by Schmitz with the HCV inhibitor used in the composition disclosed by Bachand '140, in order to enhance therapeutic efficacy toward treating HCV infection in a subject, without undue experimentation, because both Bachand '140 and Schmitz disclose structurally analogous compounds useful in the treatment of HCV.

As to claim 25, Bachand '140 and Schmitz discloses a pharmaceutical composition comprising a compound having the structure [pictured structure] or a pharmaceutically acceptable salt thereof (see claim 24 above) and Bachand further discloses the compound in combination with one or more compounds listed in Table 1; and a pharmaceutically acceptable excipient (para[0201], i.e. telaprevir).

As to claim 26, Bachand '140 and Schmitz discloses a pharmaceutical composition comprising a compound having the structure [pictured structure] or a pharmaceutically acceptable salt thereof (see claim 24 above) and Bachand further discloses the compound in combination with telaprevir (para[0201]).

-----Please See Continuation in Next Supplemental Box-----

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US 12/52216

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of:
Prior Supplemental Box:

Claims 29-31 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Bachand '483 in view of US 2011/0150827 A1 to Dousson, et al. (hereinafter 'Dousson').

As to claim 29 and 31, Bachand '483 discloses a composition comprising a compound analogous in structure to Formula (IV): [pictured structure] wherein each R is independently -CH(R1)-NH-C(O)-OR2; wherein each R1 is independently -CH(OCH3)-CH3; and each R2 is C1alkyl (para[0009]-[0020], Formula (I), wherein D and E are 5- membered aromatic rings containing two heteroatoms; R2 and R2' together form a five to eight-membered ring; R4 and R4' are selected from structure 2, where m and s are each 1; X is CR5 and R5's form a 5-membered ring) or a pharmaceutically acceptable salt thereof (para[0009]), in combination with one or more additional Hepatitis C therapeutic agents selected from the group consisting of an HCV NS2 protease inhibitor, an HCV NS3/4A protease inhibitor, an HCV NS3 helicase inhibitor, an HCV NS4B replication factor inhibitor, an HCV NS5B polymerase inhibitor, an HCV entry inhibitor, an HCV internal ribosome entry site inhibitor, a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor, an α -glucosidase inhibitor, a caspase inhibitor, a cyclophilin inhibitor, an immunomodulator, a metabolic pathway inhibitor, an interferon, and a nucleoside analogue (para[0167], Table 1). The disclosed structure of Bachand '483 differs from the claimed structure in that the fused ring connecting the two benzene rings is a 7-member heterocyclic ring not a 4-membered carbocyclic ring. However, Dousson discloses structurally analogous HCV inhibitor compounds (para[0002], [0656], Table) containing a 12 carbon tricyclic fused arylene (para[0023]-[0039] where E of Dousson is a C12 arylene, para[0120]). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the fused arylene structural feature of the compound disclosed by Dousson with the HCV inhibitor used in the composition disclosed by Bachand '483, in order to enhance therapeutic efficacy toward treating HCV infection in a subject, without undue experimentation, because both Bachand '483 and Dousson disclose structurally analogous compounds useful in the treatment of HCV.

As to claim 30, Bachand '483 discloses a method of preventing or treating Hepatitis C in a human in need thereof comprising administering to the human a compound of Formula (IV): [pictured structure] wherein each R is independently -CH(R1)-NH-C(O)-OR2; wherein each R1 is independently -CH(OCH3)-CH3; and each R2 is C1alkyl (para[0009]-[0020], Formula (I), wherein D and E are 5- membered aromatic rings containing two heteroatoms; R2 and R2' together form a five to eight-membered ring; R4 and R4' are selected from structure 2, where m and s are each 1; X is CR5 and R5's form a 5-membered ring) or a pharmaceutically acceptable salt thereof (para[0009]), in combination with one or more additional Hepatitis C therapeutic agents selected from the group consisting of an HCV NS2 protease inhibitor, an HCV NS3/4A protease inhibitor, an HCV NS3 helicase inhibitor, an HCV NS4B replication factor inhibitor, an HCV NS5B polymerase inhibitor, an HCV entry inhibitor, an HCV internal ribosome entry site inhibitor, a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor, an α -glucosidase inhibitor, a caspase inhibitor, a cyclophilin inhibitor, an immunomodulator, a metabolic pathway inhibitor, an interferon, and a nucleoside analogue (para[0167], Table 1). The disclosed structure of Bachand '483 differs from the claimed structure in that the fused ring connecting the two benzene rings is a 7-member heterocyclic ring not a 4-membered carbocyclic ring. However, Dousson discloses structurally analogous HCV inhibitor compounds (para[0002], [0656], Table) containing a 12 carbon tricyclic fused arylene (para[0023]-[0024] where E of Dousson is a C12 arylene, para[0120]). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the fused arylene structural feature of the compound disclosed by Dousson with the HCV inhibitor used in the method disclosed by Bachand '483, in order to enhance therapeutic efficacy toward treating HCV infection in a subject, without undue experimentation, because both Bachand '483 and Dousson disclose structurally analogous compounds useful in the treatment of HCV.

Claims 27-28 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Bachand '140 in view of Schmitz in view of US 2010/0173837 A1 (Hopkins).

As to claim 27, Bachand '140 and Schmitz discloses a pharmaceutical composition comprising a compound having the structure [pictured structure] or a pharmaceutically acceptable salt thereof (see claim 24 above) and Bachand further discloses the compound in combination with a protease inhibitor (para[0083]), but does not disclose wherein the compounds are selected from the listed compounds. However, Hopkins discloses wherein ITMN -191 is a hepatitis C protease inhibitor used to treat HCV (para[0058]). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the inhibitor disclosed by Hopkins with the composition disclosed by Bachand '140 in view of Schmitz, in order to enhance therapeutic efficacy toward treating HCV infection in a subject, without undue experimentation, because Hopkins as well as Bachand '140 and Schmitz disclose compounds that have utility in the treatment of HCV infection.

As to claim 28, Bachand '140 and Schmitz discloses a pharmaceutical composition comprising a compound having the structure [pictured structure] or a pharmaceutically acceptable salt thereof (see claim 24 above) and Bachand further discloses the compound in combination with a protease inhibitor (para[0083]), but does not disclose wherein the compounds are selected from the listed compounds. However, Hopkins discloses wherein ITMN -191 is a hepatitis C protease inhibitor used to treat HCV (para[0058]). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the inhibitor disclosed by Hopkins with the composition disclosed by Bachand '140 in view of Schmitz, in order to enhance therapeutic efficacy toward treating HCV infection in a subject, without undue experimentation, because Hopkins as well as Bachand '140 and Schmitz disclose compounds that have utility in the treatment of HCV infection.

Claims 1-7, 13-14, and 20-31 have industrial applicability as defined by PCT Article 33(4) because the subject matter can be made or used in industry.

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores **ALICIA LLORED**A y/o **GUSTAVO TAMAYO** y/o **IGNACIO SANTAMARIA** y/o **ENRIQUE ALVAREZ** para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se está presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.


ALICIA LLORED A RICAURTE

T.P. No. 53.215

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 00145/09 de un documento escrito en inglés, el cual para su identificación se sella con el sello del Traductor. Esta es una Traducción Oficial efectuada el día 2 de diciembre de 2009 por el Sr. Gabriel Ricaurte Echeverri, C.C. 25.965 de Bogotá, Traductor Oficial según Resolución No. 3987 de agosto 17 de 1981 expedida por el Ministerio de Justicia.

ESTADO DE CAROLINA DEL NORTE
DEPARTAMENTO DEL SECRETARIO DE ESTADO

Sello del Estado de Carolina del Norte con escudo en el centro
Mayo 20, 1775-abril 12 1776

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES
BOGOTÁ D.C.

2009 ENE -5 16-27

APOSTILLA

(Convención de la Haya 5 de octubre de 1961)

1. PAÍS: ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA
2. Este Documento Público
ha sido firmado por PATRICIA WILSON
3. actuando en su condición de NOTARIO PÚBLICO, LA COMISIÓN EXPIRA
12/7/2013
4. lleva el sello/estampilla de CONDADO DE ORANGE, CAROLINA DEL
NORTE

CON FIRMAS APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO
004334

CERTIFICADO

5. en Raleigh, Carolina del Norte
6. el DÍA 16 DE DICIEMBRE DE 2009
7. por el Secretario de Estado o Secretario de Estado Delegado, Estado de
Carolina del Norte
8. No. 31614
9. Sello/Estampilla
10. Firma

Sello del Estado de Carolina del Norte Por: (Firmado)

GABRIEL RICAURTE ECHEVERRI
TRADUCTOR OFICIAL
RES. 3987 Ministerio de Justicia
de agosto 17 de 1981

Departamento de Estado, abril 12, 1776
con Escudo en el Centro

Haley Haynes
Secretario de Estado Delegado

Elaine L. Marshall

Secretario de Estado

===

Documento de poder bilingüe inglés, español otorgado el 9 de diciembre de 2009 por Alan Scrivner, de GLAXOSMITHKLINE LLC a favor de Alicia Lloreda y/o Gustavo Tamayo y/o Ignacio Santamaría y/o Enrique Álvarez.

(Firmado)

EL NOTARIO DEBE FIRMAR AL OTRO LADO

===

Sello Notarial: PATRICIA WILSON, NOTARIO PÚBLICO, CONDADO DE ORANGE, NC.

(Firmado)

PATRICIA WILSON, Mí comisión expira el 12/2013.

El anterior sello de caucho aparece en la certificación notarial firmada el 9 de diciembre de 2009, en la que se acredita la comparecencia de Alan Scrivner, en su carácter de Apoderado de GLAXOSMITHKLINE LLC.

==

Es traducción fiel y completa de un documento escrito en inglés del cual queda copia en esta oficina y a la cual me remito para su confrontación.

Derechos de traducción: \$ 38.000,00

GABRIEL HIDALGO DE ECHEVERRÍA
TRADUCTOR OFICIAL
RES. 3987 Ministerio de Justicia
de agosto 17 de 1981


2

STATE OF NORTH CAROLINA



Department of The
Secretary of State

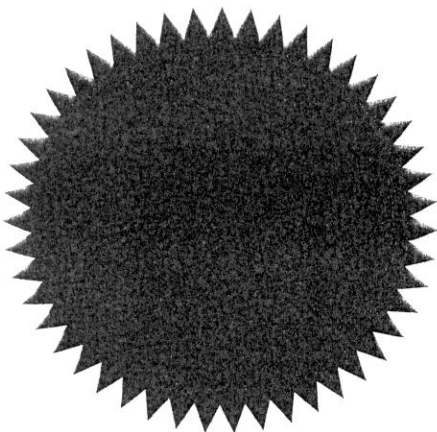
APOSTILLE

(Convention de La Haye 5 octobre 1961)

1. COUNTRY: **UNITED STATES OF AMERICA**
2. This Public Document
has been signed by PATRICIA WILSON
3. acting in the capacity of NOTARY PUBLIC
COMMISSION EXPIRES 12/7/2013
4. bears the seal/stamp of COUNTY OF ORANGE, NORTH CAROLINA

CERTIFIED

5. at Raleigh, North Carolina
6. the 16TH DAY OF DECEMBER, 2009
7. by Secretary of State or Deputy Secretary of State, State of North Carolina
8. No. 31614
9. Seal/Stamp
10. Signature



By:

Haley Haynes
Haley Haynes
Deputy Secretary of State

Claine J. Marshall

Secretary of State

Los abajo firmados,

GLAXOSMITHKLINE LLC

Una sociedad organizada y existente bajo las leyes de Delaware, USA.

con domicilio en
One Franklin Plaza, 200 North 16th
Street, Philadelphia, Pennsylvania 19102
USA.

nombramos por el presente a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al párrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeran conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado

The undersigned,

GLAXOSMITHKLINE LLC

A corporation organized and existing under the laws of Delaware, USA

domiciled at
One Franklin Plaza, 200 North 16th Street,
Philadelphia, Pennsylvania 19102 USA

hereby appoint, ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, of Bogota, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

Doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

We also authorize doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

Given and signed this 9th day of Dec of 2009.

Signature Alan Scrivner

Name Alan Scrivner

NOTARY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Estado de North Carolina ss
 Condado de Durham
 Hoy 9 de Diciembre de 2009, compareció
Alan Scrivner, a quien conozco y
 de quien me consta que firmó el anterior documento,
 y quien debidamente juramentado declaró y dijo que
 él es Abogado
 de GlaxoSmithKline LLC,
 la compañía nombrada en
 el documento que antecede, una sociedad
 debidamente organizada y existente conforme a las
 leyes del Estado de Delaware USA,
 , domiciliada en la ciudad de Philadelphia
 Condado de
Philadelphia
 Estado de Pennsylvania, USA,
 legalmente constituida para un período de duración
 que aún no ha terminado, que ejerce su objeto
 social; conforme a las leyes del Estado de
Delaware,
 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
 Estado de , con fecha , 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.

Notary Public (Notario Público).

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

State of North Carolina ss
 County of Durham
 On this 9th day of December, 2009
 personally came Alan Scrivner, 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 Attorney
 of GlaxoSmithKline LLC, the company named within,
 a Corporation organized and existing under the laws
 of the State of Delaware, USA,
 domiciled at the City of Philadelphia,
 County of Philadelphia, State of Pennsylvania,
 USA, legally constituted for a period of tenure not yet
 expired, which exercises its corporate purposes
 according to the laws of the State of Delaware; 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
 Philadelphia, State of Pennsylvania, under date of
 October 27, 2009, 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.~~

Patricia Wils

my commission expires! 12/7/13





(51) International Patent Classification:

A01N 43/38 (2006.01) A61K 31/40 (2006.01)

A01N 37/18 (2006.01) A61P 1/16 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2012/052216

(22) International Filing Date:

24 August 2012 (24.08.2012)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/526,798 24 August 2011 (24.08.2011) US

61/529,358 31 August 2011 (31.08.2011) US

61/617,813 30 March 2012 (30.03.2012) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **GLAXO-SMITHKLINE LLC** [US/US]; One Franklin Plaza, 200 North 16th Street, Philadelphia, Pennsylvania 19102 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **WALKER, Jill** [US/US]; c/o GlaxoSmithKline, Global Patents, Five Moore Drive, PO Box 13398, Research Triangle Park, North Carolina 27709 (US). **VOITENLEITNER, Christian** [DE/US]; c/o GlaxoSmithKline, Global Patents, Five Moore Drive, PO Box 13398, Research Triangle Park, North Carolina 27709 (US).

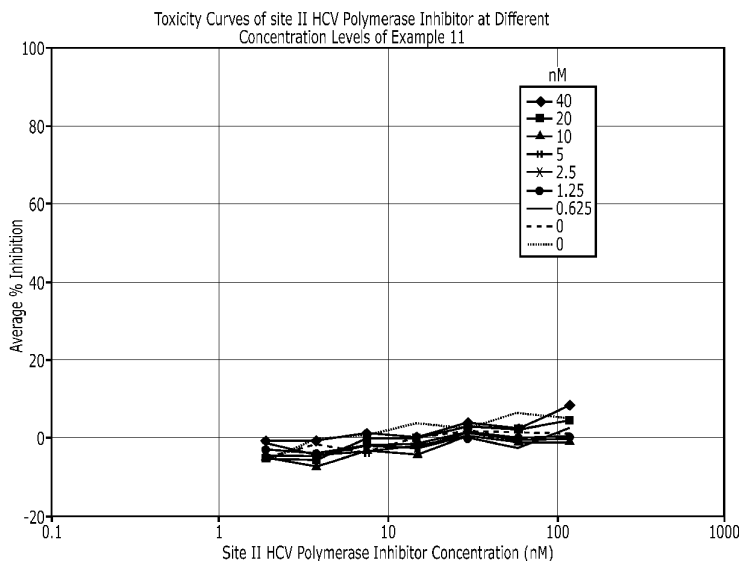
(74) Agents: **THOMAS, Robert (Steve)** et al.; GlaxoSmithKline, Global Patents, Five Moore Drive, PO Box 13398, Research Triangle Park, North Carolina 27709 (US).

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

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

[Continued on next page]

(54) Title: COMBINATION TREATMENTS FOR HEPATITIS C



(57) Abstract: The present invention features methods and pharmaceutical compositions for the treatment of Hepatitis C in a human in need thereof comprising administering a compound of Formula (I), (II), (III), (IV), (V), or (VI) described herein or a pharmaceutically acceptable salt thereof in combination with one or more additional Hepatitis C therapeutic agents.

**Declarations under Rule 4.17:**

— as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))

— as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))

— of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

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

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference PR64747WO	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US 12/52216	International filing date (<i>day/month/year</i>) 24 August 2012 (24.08.2012)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 24 August 2011 (24.08.2011)
Applicant GLAXOSMITHKLINE LLC		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 3 sheets.

☐ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed.
☐ a translation of the international application into _____ which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ **Certain claims were found unsearchable** (see Box No. II).

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No. III).

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant.
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant.
☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. 1
☒ as suggested by the applicant.
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.
- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/52216

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 8-12 and 15-19
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/52216

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A01N 43/38, 37/18; A61K 31/40; A61P 1/16 (2012.01)

USPC - 514/4.3; 514/409

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC(8) - A01N 43/38, 37/18; A61K 31/40; A61P 1/16 (2012.01)

USPC - 514/4.3; 514/409

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
USPC - 514/397, 412, 414, 422, 423, 428, 483, 484; 548/313.1, 314.7; 424/85.4, 94.63 (see search terms below)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

PubWEST, Google Patents, Google Scholar, WIPO (danoprevir, simeprevir, setobuvir, mericitaine, GS-7997, tegobuvir, NSS, inhibitor, spiro, azaspiro, aza, spirocylce, carbamate, imidazole, formula, structure, cyclophilin, telaprevir, hepatitis C, HCV, dioxa, replication, ITMN-191, flaviviridae, arylene, combination, protease)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	US 2009/0068140 A1 (BACHAND, et al.) 12 March 2009 (12.03.2009) entire document, especially para[0081]-[0087], [0173], [0178], [0201], [0453]	1, 20, 23 2-7, 13-14, 21-22, 24-28
Y	US 2009/0202483 A1 (BACHAND, et al.) 13 August 2009 (13.08.2009) entire document, especially para[0009], [0015]-[0020], [0044], [0049], [0147], [0167]	2-7, 21-22, 29-31
Y	WO 2010/062821 A1 (SCHMITZ, et al.) 03 June 2010 (03.06.2010) entire document, especially pg 5, 8, 21	13-14, 24-28
Y	US 2011/0150827 A1 (DOUSSON, et al.) 23 June 2011 (23.06.2011) entire document, especially para[0002], [0023]-[0024], [0120]	29-31
Y	US 2010/0173837 A1 (HOPKINS) 08 July 2010 (08.07.2010) entire document, especially para[0058]	27-28

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

01 October 2012 (01.10.2012)

Date of mailing of the international search report

24 OCT 2012

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

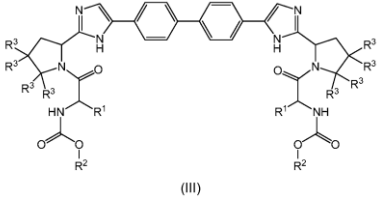
Facsimile No. 571-273-3201

Authorized officer:

Lee W. Young

PCT Helpdesk: 571-272-4300

PCT OSP: 571-272-7774

 SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES TARJETA ARCHIVO TEMÁTICO		PATENTE DE INVENCION ____ PCT _X_ MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____	
(21) No. de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 26-02-14		 (III)	
(51) Clasificación Internacional: A01N 43/38			
(71) Solicitante(s): GLAXOSMITHKLINE LLC			
(72) Inventor(es): WALKER, Jill y VOITENLEITNER, Christian.			
(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE			
(30) Prioridad (31) No. Prioridad (32) Fecha (33) País			
61/526,798 24-08-11 US			
61/529,358 31-08-11 US			
61/617,813 30-03-12 US			
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 24-03-14		(87) Publicación internacional:	
(86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT		Fecha: 28-02-13	
Fecha de presentación de la solicitud: 24-08-12		No. Publicación: WO 2013/028953 A1	
No. de solicitud: PCT/US2012/052216			
(54) Título: TRATAMIENTOS DE COMBINACIÓN PARA HEPATITIS C.			
(57) Resumen - Reivindicación(es):			
Resumen.- La presente invención proporciona métodos y composiciones farmacéuticas para el tratamiento de Hepatitis C en un ser humano que lo necesite, los cuales comprenden administrar un compuesto de la fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), o (VI) descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para Hepatitis C. Sector: Sector Farmacéutico. Métodos y composiciones farmacéuticas para el tratamiento de la Hepatitis C.			

 SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS		PATENTE DE INVENCION ____ PCT _X_ MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____	
(21) No. de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 26-02-14			
(51) Clasificación Internacional: A01N 43/38			
(71) Solicitante(s): GLAXOSMITHKLINE LLC			
(72) Inventor(es): WALKER, Jill y VOITENLEITNER, Christian.			
(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE			
(30) Prioridad (31) No. Prioridad (32) Fecha (33) País			
61/526,798 24-08-11 US			
61/529,358 31-08-11 US			
61/617,813 30-03-12 US			
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 24-03-14		(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 28-02-13	
Fecha de presentación de la solicitud: 24-08-12		No. publicación: WO 2013/028953 A1	
No. de solicitud: PCT/US2012/052216			
(54) Título: TRATAMIENTOS DE COMBINACIÓN PARA HEPATITIS C.			