

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 398 912**

51 Int. Cl.:

**C07D 487/04** (2006.01)

**A61K 38/00** (2006.01)

**C08H 1/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.10.2004 E 04795169 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.11.2012 EP 1680137**

54 Título: **Ácido carboxílico macrocíclico y compuesto de acilsulfonamida como inhibidor de la replicación del virus de la hepatitis C**

30 Prioridad:

**14.10.2003 US 511541 P**

**22.09.2004 US 612460 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**22.03.2013**

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE LTD. (100.0%)  
Grenzacherstrasse 124  
4070 Basel , CH**

72 Inventor/es:

**BLATT, LAWRENCE M.;  
WENGLOWSKY, STEVEN MARK;  
ANDREWS, STEVEN WADE;  
JIANG, YUTONG;  
KENNEDY, APRIL LAYNE;  
CONDROSKI, KEVIN RONALD;  
JOSEY, JOHN ANTHONY;  
STENGEL, PETER JOHN;  
MADDURU, MACHENDER R.;  
DOHERTY, GEORGE ANDREW;  
WOODARD, BENJAMIN T. (DECEASED) y  
SEIWERT, SCOTT D.**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 398 912 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Ácido carboxílico macrocíclico y compuesto de acilsulfonamida como inhibidor de la replicación del virus de la hepatitis C

### CAMPO DE LA INVENCION

- 5 La presente invención se refiere a compuestos, a procesos para su síntesis, a composiciones y a procedimientos para el tratamiento de infección por el virus de la hepatitis C (VHC). En particular, la presente invención proporciona nuevos análogos de péptidos, composiciones farmacéuticas que contienen dichos análogos y procedimientos para el uso de estos análogos en el tratamiento de la infección por virus de la hepatitis C (VHC).

### ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 10 La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) es la infección crónica transmitida por vía sanguínea más común en los Estados Unidos. Aunque el número de nuevas infecciones ha disminuido, la carga de la infección crónica es sustancial, con estimaciones del Centro para el Control de Enfermedades de 3,9 millones (1,8%) de personas infectadas en los Estados Unidos. La enfermedad hepática crónica es la décima causa de muerte entre los adultos en los Estados Unidos, y representa aproximadamente 25 000 muertes al año, o aproximadamente el 1% de todas las muertes. Estudios indican que el 40% de las enfermedades hepáticas crónicas están relacionadas con el VHC, originando 8000-10 000 muertes estimadas cada año. La enfermedad hepática en fase terminal asociada al VHC es la indicación más frecuente de trasplante de hígado entre los adultos.

- La terapia antiviral de la hepatitis C crónica ha evolucionado rápidamente a lo largo de la última década, observándose mejoras significativas en la eficacia del tratamiento. No obstante, incluso con terapia de combinación usando IFN- $\alpha$  pegilado más ribavirina, la terapia fracasa en el 40% al 50% de los pacientes, es decir, no responden al tratamiento o recaen. Estos pacientes actualmente no tienen ninguna alternativa terapéutica eficaz. En particular, pacientes con cirrosis o fibrosis avanzada en biopsia hepática tienen un riesgo significativo de desarrollar complicaciones de enfermedad hepática avanzada, incluyendo ascitis, ictericia, hemorragia por varices, encefalopatía e insuficiencia hepática progresiva, así como un riesgo notablemente mayor de carcinoma hepatocelular.

- La alta prevalencia de la infección por VHC crónica tiene importantes implicaciones de salud pública para la futura carga de la enfermedad hepática crónica en los Estados Unidos. Datos provenientes de la National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) indican que se produjo un gran aumento en la tasa de nuevas infecciones por VHC desde finales de la década de 1960 hasta inicios de la década de 1980, particularmente entre personas de 20 a 40 años de edad. Se estima que el número de personas con infección por VHC de larga duración de 20 años o más larga podría más que cuadruplicarse desde 1990 a 2015, de 750 000 a más de 3 millones. El aumento proporcional en personas infectadas durante 30 o 40 años sería incluso mayor. Puesto que el riesgo de enfermedad hepática crónica relacionada con VHC está relacionado con la duración de la infección, aumentando progresivamente el riesgo de cirrosis para personas infectadas durante más de 20 años, esto dará como resultado un aumento sustancial de morbilidad y mortalidad relacionadas con cirrosis entre pacientes infectados entre los años de 1965- 1985.

- El VHC es un virus de ARN de cadena positiva con envuelta de la familia Flaviviridae. El genoma de ARN de VHC monocatenario tiene aproximadamente 9500 nucleótidos de longitud y tiene un único marco de lectura abierto (ORF) que codifica para una única poliproteína grande de aproximadamente 3000 aminoácidos. En células infectadas, esta poliproteína se escinde en múltiples sitios por proteasas celulares y virales produciendo las proteínas estructurales y no estructurales (NS) del virus. En el caso del VHC, la generación de proteínas no estructurales maduras (NS2, NS3, NS4, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) se efectúa por medio dos proteasas virales. La primera proteasa viral escinde en la unión NS2-NS3 de la poliproteína. La segunda proteasa viral es una serina proteasa contenida en la región N-terminal de NS3 (denominada en el presente documento "proteasa NS3"). La proteasa NS3 media todos los acontecimientos de escisión posteriores en sitios cadena abajo respecto de la posición de NS3 en la poliproteína (es decir, sitios ubicados entre el extremo C-terminal de NS3 y el extremo C-terminal de la poliproteína). La proteasa NS3 presenta actividad tanto en cis, en el sitio de escisión NS3-NS4, como en trans, para los sitios NS4A-NS4B, NS4B-NS5A y NS5A-NS5B restantes. Se cree que la proteína NS4A sirve para múltiples funciones, actuando como cofactor para la proteasa NS3 y posiblemente ayudando en la localización de la membrana de NS3 y otros componentes de la replicasa viral. Aparentemente, la formación del complejo entre NS3 y NS4 es necesaria para los acontecimientos de procesamiento mediados por NS3 y mejora la eficacia proteolítica en todos los sitios reconocidos por NS3. La proteasa NS3 también presenta actividades nucleósido trifosfatasa y ARN helicasa. NS5B es una ARN polimerasa dependiente de ARN implicada en la replicación del ARN de VHC.

### Bibliografía

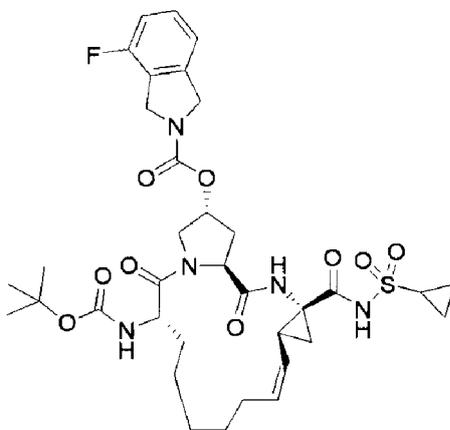
- 55 METAVIR (1994) *Hepatology* 20:15-20; Brunt (2000) *Hepatology*. 31:241-246; Alpini (1997) *J. Hepatology*. 27:371-380; Baroni et al. (1996) *Hepatology*. 23:1189-1199; Czaja et al. (1989) *Hepatology*. 10:795-800; Grossman et al. (1998) *J. Gastroenterol. Hepatology*. 13:1058-1060; Rockey and Chung (1994) *J. Invert. Med.* 42:660-670; Sakaida et al. (1998) *J. Hepatology*. 28:471-479; Shi et al. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:10663-10668; Baroni et al. (1999) *Liver* 19:212-

219; Lortat-Jacob et al. (1997) J. Hepatol. 26:894-903; Llorent et al. (1996) J. Hepatol. 24:555-563; patente de los Estados Unidos nº 5.082.659; Solicitud de patente europea EP 294.160; patente de los Estados Unidos nº 4.806.347; Balish et al. (1992) J. Infect. Diseases 166: 1401-1403; Katayama et al. (2001) J. Viral Hepatitis 8:180-185; patente de los Estados Unidos nº 5.082.659; patente de los Estados Unidos nº 5.190.751; patente de los Estados Unidos nº 4.806.347; Wandl et al. (1992) Br. J. Haematol. 81:516-519; solicitud de patente europea nº 294.160; patente canadiense nº 1.321.348; solicitud de patente europea nº 276.120; Wandl et al. (1992) Sem. Oncol. 19:88-94; Balish et al. (1992) J. Infectious Diseases 166:1401-1403; Van Dijk et al. (1994) Int. J. Cancer 56:262-268; Sundmacher et al. (1987) Current Eye Res. 6:273-276; patentes de los Estados Unidos números 6.172.046; 6.245.740; 5.824.784; 5.372.808; 5.980.884; solicitudes de patente internacional publicadas WO 96/21468; WO 96/11953; WO 00/59929; WO 00/66623; WO2003/064416; WO2003/064455; WO2003/064456; WO 97/06804; WO 98/17679; WO 98/22496; WO 97/43310; WO 98/46597; WO 98/46630; WO 99/07733; WO 99/07734, WO 00/09543; WO 00/09558; WO 99/38888; WO 99/64442; WO 99/50230; WO 95/33764; Torre et al. (2001) J. Med. Virol. 64:455-459; Bekkering et al. (2001) J. Hepatol. 34:435-440; Zeuzem et al. (2001) Gastroenterol. 120:1438-1447; Zeuzem (1999) J. Hepatol. 31:61-64; Keeffe and Hollinger (1997) Hepatol. 26:101 S-1075; Wills (1990) Clin. Pharmacokinet. 19:390-399; Heathcote et al. (2000) New Engl. J. Med. 343:1673-1680; Husa and Husova (2001) Bratisl. Lek. Listy 102:248-252; Glue et al. (2000) Clin. Pharmacol. 68:556-567; Bailon et al. (2001) Bioconj. Chem. 12:195-202; y Neumann et al. (2001) Science 282:103; Zalipsky (1995) Adv. Drug Delivery Reviews S. 16, 157-182; Mann et al. (2001) Lancet 358:958-965; Zeuzem et al. (2000) New Engl. J. Med. 343:1666-1672; patentes de los Estados Unidos números 5.633.388; 5.866.684; 6.018.020; 5.869.253; 6.608.027; 5.985.265; 5.908.121; 6.177.074; 5.985.263; 5.711.944; 5.382.657; y 5.908.121; Osborn et al. (2002) J. Pharmacol. Exp. Therap. 303:540-548; Sheppard et al. (2003) Nat. Immunol. 4:63-68; Chang et al. (1999) Nat. Biotechnol. 17:793-797; Adolf (1995) Multiple Sclerosis 1 Suppl. 1:544-S47; Chu et al., Tet. Lett. (1996), 7229-7232; Ninth Conference on Antiviral Research, Urabandai, Fukuyshima, Japón (1996) (Antiviral Research, (1996), 30: 1, A23 (resumen 19)); Steinkuhler et al., Biochem., 37: 8899-8905; Ingallinella et al., Biochem., 37: 8906-8914.

## 25 SUMARIO DE LA INVENCIÓN

Están incluidos en las reivindicaciones:

Un compuesto que tiene la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 En las reivindicaciones se incluyen una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

También se proporciona dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición farmacéutica para su uso como medicamento.

35 También se proporciona el uso de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una infección por el virus de la hepatitis C en un individuo, más particularmente, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una infección por el virus de la hepatitis C, en el que se consigue una respuesta viral sostenida.

40 También se proporciona el uso de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de fibrosis hepática en un individuo y/o para aumentar la función hepática en un individuo que tiene una infección por el virus de la hepatitis C.

La invención proporciona el uso de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades divulgadas en el presente

documento, en el que se administra una cantidad eficaz de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición al individuo y se administra al individuo adicionalmente una cantidad eficaz de un análogo de nucleósido.

5 La invención proporciona adicionalmente el uso de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades divulgadas en el presente documento, en el que el medicamento se fabrica para su uso en combinación con una cantidad eficaz de un análogo de nucleósido. Más particularmente, el análogo de nucleósido se selecciona de ribavirina, levovirina, viramidina, un L-nucleósido, e isatoribina. Lo más particularmente, el análogo de nucleósido es ribavirina.

10 La invención proporciona adicionalmente el uso de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades divulgadas en el presente documento, en el que se administra al individuo dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición y se administra al individuo adicionalmente pirfenidona o un análogo de pirfenidona por vía oral al día en una cantidad de aproximadamente 400 mg a aproximadamente 3600 mg. Más particularmente, se prevé que el medicamento se fabrique para su uso en combinación con pirfenidona o un análogo de pirfenidona administrado por vía oral al día en una cantidad de aproximadamente 400 mg a aproximadamente 3600 mg.

En realizaciones particulares, se prevé que se administre al individuo una cantidad eficaz de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición y se administre adicionalmente al individuo una cantidad eficaz de un inhibidor de la ARN polimerasa dependiente de ARN de NS5B.

20 La invención proporciona además el uso de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades divulgadas en el presente documento, en el que el medicamento se fabrica para su uso en combinación con una cantidad eficaz de un inhibidor de la ARN polimerasa dependiente de ARN de NS5B.

25 La invención proporciona además el uso de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades divulgadas en el presente documento, en el que se administra al individuo una cantidad eficaz de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición y se administra adicionalmente al individuo una cantidad eficaz de un antagonista del factor de necrosis tumoral seleccionado del grupo que consiste en etanercept, infliximab y adalimumab.

30 La invención proporciona además el uso de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades divulgadas en el presente documento, en el que el medicamento se fabrica para su uso en combinación con una cantidad eficaz de un antagonista del factor de necrosis tumoral seleccionado del grupo que consiste en etanercept, infliximab y adalimumab.

35 La invención proporciona además el uso de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades divulgadas en el presente documento, en el que se administra al individuo una cantidad eficaz de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición y se administra adicionalmente al individuo una cantidad eficaz de timosina- $\alpha$ . Más particularmente, se prevé que el medicamento se fabrique para su uso en combinación con una cantidad eficaz de timosina- $\alpha$ . En otras realizaciones particulares, la timosina- $\alpha$  se administra por vía subcutánea dos veces a la semana en una cantidad de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 1,6 mg.

45 La invención proporciona además el uso de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades divulgadas en el presente documento, en el que se administra al individuo una cantidad eficaz de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición y se administra adicionalmente al individuo una cantidad eficaz de interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ). Más particularmente, se prevé que el medicamento se fabrique para su uso en combinación con una cantidad eficaz de interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ). Lo más particularmente, se prevé que el IFN- $\gamma$  se administre por vía subcutánea en una cantidad de aproximadamente 10  $\mu$ g a aproximadamente 300  $\mu$ g.

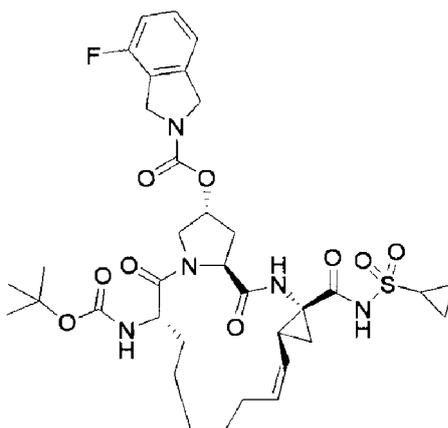
50 La invención proporciona además el uso de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades divulgadas en el presente documento, en el que se administra al individuo una cantidad eficaz de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición y se administra adicionalmente al individuo una cantidad eficaz de interferón-alfa (IFN- $\alpha$ ). Más particularmente, se prevé que el medicamento se fabrique para su uso en combinación con una cantidad eficaz de interferón-alfa (IFN- $\alpha$ ). En realizaciones particulares adicionales, el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$ 2a PEGilado. En otras realizaciones adicionales, el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$ 2a PEGilado y se administra al individuo adicionalmente una cantidad eficaz de ribavirina. Lo más particularmente, se prevé que el IFN- $\alpha$  sea IFN- $\alpha$ 2a PEGilado y que el medicamento se fabrique adicionalmente para su uso en combinación con una cantidad

eficaz de ribavirina. En realizaciones particulares adicionales se prevé que el IFN- $\alpha$  sea INF- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) administrado a un intervalo de dosificación de cada 8 días a cada 14 días o que el IFN- $\alpha$  sea IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) administrado a un intervalo de dosificación de cada 7 días. En realizaciones particulares, el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$  de consenso INFERGEN.

- 5 La invención proporciona además el uso de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades divulgadas en el presente documento, en el que se administra al individuo una cantidad eficaz de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición y se administra adicionalmente al individuo una cantidad eficaz de un agente seleccionado de 3'-azidotimidina, 2',3'-didesoxiinosina, 2',3'-didesoxicidina, 2-,3-
- 10 dideshidro-2',3'-didesoxitimidina, combivir, abacavir, adefovir dipoxil, cidofovir, y un inhibidor de inosina monofosfato deshidrogenasa.

- La invención proporciona además el uso de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades divulgadas en el presente documento, en el que se administra al individuo una cantidad eficaz de dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o dicha composición y el medicamento se fabrica para su uso en
- 15 combinación con una cantidad eficaz de un agente seleccionado de 3'-azidotimidina, 2',3'-didesoxiinosina, 2',3'-didesoxicidina, 2-,3-dideshidro-2',3'-didesoxitimidina, combivir, abacavir, adefovir dipoxil, cidofovir y un inhibidor de inosina monofosfato deshidrogenasa.

La invención proporciona además un compuesto que tiene la fórmula:



- 20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable para el tratamiento de infección por el virus de la hepatitis C en un individuo. En realizaciones particulares, se consigue en el individuo una respuesta viral sostenida.

- 25 La invención proporciona además dicho compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento de fibrosis hepática en un individuo y/o para aumentar la función hepática en un individuo que tiene una infección por el virus de la hepatitis C.

- La invención proporciona además dicho compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para
- 30 su uso en combinación con una cantidad eficaz de un análogo de nucleósido. Más particularmente, el análogo de nucleósido se selecciona de ribavirina, levovirina, viramidina, un L-nucleósido e isatoribina. Lo más particularmente, el análogo de nucleósido es ribavirina.

- La invención proporciona además dicho compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para
- 35 su uso en combinación con pirfenidona o un análogo de pirfenidona administrado por vía oral al día en una cantidad de aproximadamente 400 mg a aproximadamente 3600 mg.

- La invención proporciona además dicho compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para
- 40 su uso en combinación con una cantidad eficaz de un inhibidor de la ARN polimerasa dependiente de ARN de NS5B.

La invención proporciona además dicho compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una

composición farmacéutica que comprende dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en combinación con una cantidad eficaz de un antagonista del factor de necrosis tumoral seleccionado del grupo que consiste en etanercept, infliximab y adalimumab.

5 La invención proporciona además dicho compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en combinación con una cantidad eficaz de timosina- $\alpha$ . Lo más particularmente, la timosina- $\alpha$  se administra por vía subcutánea dos veces a la semana en una cantidad de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 1,6 mg.

10 La invención proporciona además dicho compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en combinación con una cantidad eficaz de interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ). Lo más particularmente, el IFN- $\gamma$  se administra por vía subcutánea en una cantidad de aproximadamente 10  $\mu$ g a aproximadamente 300  $\mu$ g.

15 La invención proporciona además dicho compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en combinación con una cantidad eficaz de interferón-alfa (IFN- $\alpha$ ). Lo más particularmente, el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$ 2a PEGilado. En realizaciones particulares adicionales, el compuesto se prevé para su uso en combinación adicional con una cantidad eficaz de ribavirina. En realizaciones particulares adicionales, el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) administrado a un intervalo de dosificación de cada 8 días a cada 14 días o a un intervalo de dosificación de una vez cada 7 días. En realizaciones particulares, el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$  de consenso INFERGEN.

20

La invención proporciona además dicho compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en combinación con una cantidad eficaz de un agente seleccionado de 3'-azidotimidina, 2',3'-didesoxiinosina, 2',3'-didesoxicitidina, 2-,3-dideshidro-2',3'-didesoxitimidina, combivir, abacavir, adefovir dipoxil, cidofovir y un inhibidor de inosina monofosfato deshidrogenasa.

25

## DEFINICIONES

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "cirrosis hepática", usada indistintamente en el presente documento con "fibrosis hepática", se refiere al crecimiento de tejido cicatricial en el hígado que puede producirse en el contexto de una infección de hepatitis crónica.

30 Los términos "individuo", "huésped", "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente en el presente documento, y se refieren a un mamífero que incluye, pero no se limita a, primates, incluyendo simios y seres humanos.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "función hepática" se refiere a una función normal del hígado, incluyendo, pero no se limitan a, una función sintética, incluyendo, pero no se limita a, la síntesis de proteínas tales como proteínas séricas (por ejemplo, albúmina, factores de coagulación, fosfatasa alcalina, aminotransferasas (por ejemplo alanina transaminasa, aspartato transaminasa), 5'-nucleosidasa,  $\gamma$ -glutamiltranspeptidasa, etc.), síntesis de bilirrubina, síntesis de colesterol y síntesis de ácidos biliares; una función metabólica hepática, incluyendo, pero no se limita a, metabolismo de hidratos de carbono, metabolismo de aminoácidos y amoniaco, metabolismo de hormonas y metabolismo de lípidos, detoxificación de fármacos exógenos; una función hemodinámica, incluyendo hemodinámica visceral y portal; y similares.

35

40 La expresión "respuesta viral sostenida" (RVS; también denominada "respuesta sostenida" o "respuesta duradera"), tal como se usa en el presente documento, se refiere a la respuesta de un individuo a una pauta de tratamiento para la infección por VHC, en términos de título de VHC sérico. En general, una "respuesta viral sostenida" se refiere a que no se encuentra ARN de VHC detectable (por ejemplo, menos de aproximadamente 500, menos de aproximadamente 200 o menos de aproximadamente 100 copias de genoma por mililitro de suero) en el suero del paciente durante un periodo de al menos aproximadamente un mes, al menos aproximadamente dos meses, al menos aproximadamente tres meses, al menos aproximadamente cuatro meses, al menos aproximadamente cinco meses o al menos aproximadamente seis meses tras el cese del tratamiento.

45

"Pacientes con fracaso en el tratamiento" tal como se usa en el presente documento se refiere generalmente a pacientes infectados con VHC que no han podido responder a la terapia previa para VHC (denominados "pacientes que no responden al tratamiento") o que inicialmente respondieron a la terapia previa, pero en los que la respuesta terapéutica no se mantuvo (denominados "pacientes que recaen"). La terapia previa generalmente puede incluir tratamiento con monoterapia de IFN- $\alpha$  o terapia de combinación de IFN- $\alpha$ , pudiendo incluir la terapia de combinación la administración de IFN- $\alpha$  y un agente antiviral tal como ribavirina.

50

Tal como se usa en el presente documento, los términos "tratamiento", "tratar" y similares se refieren a obtener un efecto fisiológico y/o farmacológico deseado. El efecto puede ser profiláctico en lo que se refiere a prevenir total o parcialmente una enfermedad o síntoma de la misma y/o puede ser terapéutico en lo que se refiere a curar parcial o

55

totalmente una enfermedad y/o un efecto adverso atribuible a la enfermedad. "Tratamiento", tal como se usa en el presente documento, cubre cualquier tratamiento de una enfermedad en un mamífero, particularmente en un ser humano, e incluye: (a) prevenir que se produzca la enfermedad en un sujeto que puede estar predispuesto a la enfermedad pero que aún no se ha diagnosticado que la tiene; (b) inhibir la enfermedad, es decir, detener su desarrollo; y (c) aliviar la enfermedad, es decir, provocar la regresión de la enfermedad.

Los términos "individuo", "huésped", "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente en el presente documento, y se refieren a un mamífero, incluyendo, pero no se limita a, ratones, simios, seres humanos, animales mamíferos de granja, animales mamíferos de competición deportiva y mascotas mamíferas.

Un "análogo de pirfenidona específico" y las variantes gramaticales de la misma, se refiere a, y está limitada a, todos y cada uno de los análogos de pirfenidona mostrados en la Tabla 1.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "un agonista del receptor de interferón tipo I" se refiere a cualquier ligando que se presente de forma natural o que no se presente de forma natural del receptor de interferón tipo I humano, al que se une y provoca una transducción de señales por medio del receptor. Los agonistas del receptor de interferón tipo I incluyen interferones, incluyendo interferones que se presentan de forma natural, interferones modificados, interferones sintéticos, interferones pegilados, proteínas de fusión que comprenden un interferón y una proteína heteróloga, interferones intercambiados; anticuerpo específico para un receptor de interferón; agonistas químicos no peptídicos; y similares.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "agonista del receptor de interferón tipo II" se refiere a cualquier ligando que se presente de forma natural o que no se presente de forma natural del receptor de interferón tipo II humano al que se une y provoca una transducción de señales por medio del receptor. Los agonistas del receptor de interferón tipo II incluyen interferón- $\gamma$  nativo humano, especies de IFN- $\gamma$  recombinante, especies de IFN- $\gamma$  glucosilado, especies de IFN- $\gamma$  pegilado, especies de IFN- $\gamma$  modificado o variante, proteínas de fusión de IFN- $\gamma$ , agonistas de anticuerpos específicos para el receptor, agonistas no peptídicos y similares.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "un agonista del receptor de interferón tipo III" se refiere a cualquier ligando que se presente de forma natural o que no se presente de forma natural del receptor  $\alpha$  de IL-28 humano ("IL-28R"), cuya secuencia de aminoácidos se describe por Sheppard, et al., citado más adelante, al que se une y provoca una transducción de señales por medio del receptor.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "agonista del receptor de interferón" se refiere a cualquier agonista del receptor de interferón tipo I, agonista del receptor de interferón tipo II o agonista del receptor de interferón tipo III.

La expresión "acontecimiento de dosificación" tal como se usa en el presente documento se refiere a la administración de un agente antiviral a un paciente que lo necesita, acontecimiento que puede englobar una o más liberaciones de un agente antiviral desde un dispositivo de dispensación de fármacos. Por tanto, la expresión "acontecimiento de dosificación", tal como se usa en el presente documento, incluye, pero no se limita a, la instalación de un dispositivo de administración continua (por ejemplo, una bomba u otro sistema inyectable de liberación controlada); y una única inyección subcutánea seguida por la instalación de un sistema de administración continua.

"Administración continua" tal como se usa en el presente documento (por ejemplo, en el contexto de "administración continua de una sustancia a un tejido") pretende hacer referencia al movimiento del fármaco hacia un sitio de administración, por ejemplo, al interior de un tejido de manera que proporcione la administración de una cantidad deseada de sustancia en el tejido durante un periodo de tiempo seleccionado, en el que el paciente recibe aproximadamente la misma cantidad de fármaco cada minuto durante el periodo de tiempo seleccionado.

"Liberación controlada" tal como se usa en el presente documento (por ejemplo, en el contexto de "liberación controlada de fármacos") pretende englobar la liberación de una sustancia (por ejemplo, un agonista del receptor de interferón tipo I o tipo III, por ejemplo, IFN- $\alpha$ ) a una velocidad, intervalo y/o cantidad seleccionada o controlable de otra manera, que no esté sustancialmente influida por el entorno de uso. "Liberación controlada" engloba por tanto, pero no se limita necesariamente a, una administración sustancialmente continua y una administración pautada (por ejemplo, administración intermitente durante un periodo de tiempo que se interrumpe por intervalos de tiempos regulares o irregulares).

"Pautada" o "temporal" tal como se usa en el contexto de administración del fármaco significa administrar el fármaco en un patrón, generalmente un patrón sustancialmente regular, durante un periodo de tiempo preseleccionado (por ejemplo, distinto de un periodo asociado con, por ejemplo una inyección intravenosa rápida). La administración de fármacos "pautada" o "temporal" pretende englobar la administración de un fármaco a una velocidad o intervalo de velocidades creciente, decreciente, sustancialmente constante o pulsátil (por ejemplo, cantidad de fármaco por unidad de tiempo, o volumen de formulación de fármaco por unidad de tiempo), y engloba además la administración continua o sustancialmente continua, o crónica.

La expresión "dispositivo de administración de fármacos controlada" pretende englobar cualquier dispositivo en el

que la liberación (por ejemplo, velocidad, ritmo de liberación) de un fármaco u otra sustancia deseada contenida en el mismo está controlada por, o determinada por el propio dispositivo y no se ve sustancialmente influida por el entorno de uso, o que se libera a una velocidad que es reproducible dentro del entorno de uso.

5 Por “sustancialmente continuo” tal como se usa, por ejemplo, en el contexto de “infusión sustancialmente continua” o “administración sustancialmente continua” pretende hacerse referencia a la administración de un fármaco de una manera que es sustancialmente ininterrumpida durante un periodo preseleccionado de administración de fármaco, en el que la cantidad de fármaco recibida por el paciente durante cualquier intervalo de 8 horas en el periodo preseleccionado nunca desciende hasta cero. Por otro lado, la administración de fármaco “sustancialmente continua” puede englobar también la administración del fármaco a una velocidad o intervalo de velocidades sustancialmente constante, preseleccionada (por ejemplo, cantidad de fármaco por unidad de tiempo, o volumen de formulación de fármaco por unidad de tiempo) que es sustancialmente ininterrumpida durante un periodo preseleccionado de administración de fármaco.

15 “Estado sustancialmente estacionario” tal como se usa en el contexto de un parámetro biológico que puede variar como función del tiempo, significa que el parámetro biológico presenta un valor sustancialmente constante a lo largo de un transcurso de tiempo, de manera que el área bajo de la curva definida por el valor del parámetro biológico como función del tiempo para cualquier periodo de 8 horas durante el transcurso de tiempo (AUC8 h) no es más de aproximadamente el 20% por encima o aproximadamente el 20% por debajo, y preferiblemente no es más de aproximadamente el 15% por encima o aproximadamente el 15% por debajo, y más preferiblemente no es más de aproximadamente el 10% por encima o aproximadamente el 10% por debajo, del área bajo de la curva promedio del parámetro biológico a lo largo de un periodo de 8 horas durante el transcurso de tiempo (AUC8 h promedio). El AUC 8 h promedio se define como el cociente (q) del área bajo la curva del parámetro biológico a lo largo de la totalidad del transcurso de tiempo (AUCtotal) dividido entre el número de intervalos de 8 horas en el transcurso de tiempo (ttotal 1/3 días), es decir,  $q = (AUC_{total}) / (t_{total} \text{ 1/3 días})$ . Por ejemplo, en el contexto de una concentración sérica de un fármaco, la concentración sérica del fármaco se mantiene en un estado sustancialmente estacionario durante un transcurso de tiempo cuando el área bajo la curva de la concentración sérica del fármaco a lo largo del tiempo para cualquier periodo de 8 horas durante el transcurso de tiempo (AUC8 h) no es más de aproximadamente el 20% por encima o aproximadamente el 20% por debajo del área bajo la curva promedio de concentración sérica del fármaco a lo largo de un periodo de 8 horas en el transcurso de tiempo (AUC8 h promedio), es decir, el AUC8 h no es más del 20% por encima o el 20% por debajo del AUC8 h promedio para la concentración sérica del fármaco a lo largo del transcurso de tiempo.

Antes de describir la presente invención con más detalle, se entiende que la terminología usada en el presente documento tiene únicamente el propósito de describir realizaciones particulares, y no se interpretará como limitante, puesto que el alcance de la presente invención estará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

35 Cuando se proporcione un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, hasta la décima de la unidad del límite inferior, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario, entre el límite inferior y superior de ese intervalo y cualquier otro valor establecido o intermedio en ese intervalo establecido, está incluido dentro de la invención. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños que pueden incluirse independientemente en los intervalos más pequeños están incluidos también dentro en la invención, sujetos a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo establecido. Cuando el intervalo establecido incluya uno o ambos de los límites, los intervalos que excluyen cualquiera de ambos de esos límites incluidos también están incluidos en la invención.

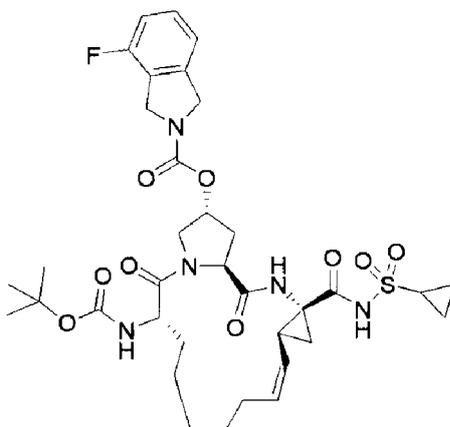
A menos que se defina lo contrario, todos los términos científicos y técnicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto medio en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque también puede usarse cualquier procedimiento y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento en la puesta en práctica o las pruebas de la presente invención, los procedimientos y materiales preferidos se describen a continuación.

50 Debe observarse que tal como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular “un/una”, “y”, y “el/la” incluyen referentes en plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a “un procedimiento” incluye una pluralidad de tales procedimientos y la referencia a “una dosis” incluye la referencia a una o más dosis y equivalentes de las mismas tal como conocen los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

Las publicaciones descritas en el presente documento se proporcionan únicamente para su divulgación antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. No hay nada en el presente documento que deba considerarse como una asunción de que la presente invención no tenga derecho a preceder a dicha publicación en virtud de una invención anterior. Además, las fechas de publicación proporcionadas pueden ser diferentes a las fechas de publicaciones reales, las cuales puede ser necesario confirmar independientemente.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención proporciona un compuesto que tiene la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención proporciona además composiciones que comprenden dicho compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 La presente invención proporciona además composiciones, incluyendo composiciones farmacéuticas, que comprenden los compuestos de las fórmulas generales I-VII, y sales, ésteres u otros derivados de los mismos. Una composición farmacéutica objeto comprende un compuesto objeto; y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Se conoce en la técnica una amplia variedad de excipientes farmacéuticamente aceptables y no es necesario discutirlos en detalle en el presente documento. Excipientes farmacéuticamente aceptables se han descrito ampliamente en
- 10 una diversidad de publicaciones, incluyendo, por ejemplo, A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20ª edición, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H.C. Ansel et al., eds., 7ª ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; y Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A.H. Kibbe et al., eds., 3ª ed. Amer. Pharmaceutical Assoc.

- 15 Los excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como vehículos, adyuvantes, portadores o diluyentes, están fácilmente disponibles para el público. Además, sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables, tales como agentes para ajustar el pH y tampón, agentes para ajustar la tonicidad, estabilizadores, agentes humectantes y similares, están fácilmente disponibles para el público.

- 20 En muchas realizaciones, un compuesto objeto inhibe la actividad enzimática de una proteasa NS3 del virus de la hepatitis C (VHC). Si un compuesto objeto inhibe NS3 de VHC puede determinarse fácilmente usando cualquier procedimiento conocido. Los procedimientos típicos implican una determinación de si una poliproteína de VHC u otro polipéptido que comprende un sitio de reconocimiento de NS3 se escinde por NS3 en presencia del agente. En muchas realizaciones, un compuesto objeto inhibe la actividad enzimática de NS3 en al menos aproximadamente el 10%, al menos aproximadamente el 15%, al menos aproximadamente el 20%, al menos aproximadamente el 25%,
- 25 al menos aproximadamente el 30%, al menos aproximadamente el 40%, al menos aproximadamente el 50%, al menos aproximadamente el 60%, al menos aproximadamente el 70%, al menos aproximadamente el 80%, o al menos aproximadamente el 90%, o más, en comparación con la actividad enzimática de NS3 en ausencia del compuesto.

- 30 En muchas realizaciones, un compuesto objeto inhibe la actividad enzimática de una proteasa NS3 de VHC con una  $CI_{50}$  de menos de aproximadamente 50  $\mu M$ , por ejemplo, un compuesto objeto inhibe una proteasa NS3 de VHC con una  $CI_{50}$  de menos de aproximadamente 40  $\mu M$ , menos de aproximadamente 25  $\mu M$ , menos de aproximadamente 10  $\mu M$ , menos de aproximadamente 1  $\mu M$ , menos de aproximadamente 100 nM, menos de aproximadamente 80 nM, menos de aproximadamente 60 nM, menos de aproximadamente 50 nM, menos de aproximadamente 25 nM, menos de aproximadamente 10 nM, o menos de aproximadamente 1 nM, o menos.

- 35 En muchas realizaciones, un compuesto objeto inhibe la replicación viral de VHC. Por ejemplo, un compuesto objeto inhibe la replicación viral de VHC en al menos aproximadamente el 10%, al menos aproximadamente el 15%, al menos aproximadamente el 20%, al menos aproximadamente el 25%, al menos aproximadamente el 30%, al menos aproximadamente el 40%, al menos aproximadamente el 50%, al menos aproximadamente el 60%, al menos aproximadamente el 70%, al menos aproximadamente el 80%, o al menos aproximadamente el 90%, o más, en comparación con la replicación viral de VHC en ausencia del compuesto. Si un compuesto objeto inhibe la
- 40 replicación viral de VHC puede determinarse usando procedimientos conocidos en la técnica, incluyendo un ensayo de replicación viral *in vitro*.

#### TRATAMIENTO DE UNA INFECCIÓN POR VIRUS DE LA HEPATITIS

Los procedimientos y composiciones descritos en el presente documento son generalmente útiles en el tratamiento

de una infección por VHC.

Si un procedimiento objeto es eficaz en el tratamiento de una infección por VHC puede determinarse mediante una reducción en la carga viral, una reducción en tiempo hasta seroconversión (virus no detectable en el suero del paciente), un aumento en la tasa de respuesta viral sostenida a la terapia, una reducción de la morbilidad o mortalidad en los resultados clínicos, u otro indicador de respuesta de la enfermedad.

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

Si un procedimiento objeto es eficaz para en el tratamiento de una infección por VHC puede determinarse midiendo la carga viral, o midiendo un parámetro asociado con la infección por VHC, incluyendo, pero no se limita a, fibrosis hepática, elevaciones en los niveles de transaminasas séricas y actividad necroinflamatoria en el hígado. Se expondrán con detalle más adelante indicadores de fibrosis hepática.

El procedimiento implica administrar una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I, opcionalmente en combinación con una cantidad eficaz de uno o más agentes antivirales adicionales. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad que es eficaz para reducir los títulos virales hasta niveles no detectables, por ejemplo, a aproximadamente 1000 a aproximadamente 5000, a aproximadamente 500 a aproximadamente 1000, o a aproximadamente 100 a aproximadamente 500 copias de genoma/ml de suero. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad que es eficaz para reducir la carga viral hasta menos de 100 copias de genoma/ml de suero.

En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad que es eficaz para conseguir una reducción de 1,5 log, de 2 log, de 2,5 log, de 3 log, de 3,5 log, de 4 log, de 4,5 log, o de 5 log en el título viral en el suero del individuo.

En muchas realizaciones, una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad que es eficaz para conseguir una respuesta viral sostenida, por ejemplo, no se encuentra ARN de VHC detectable (por ejemplo, menos de aproximadamente 500, menos de aproximadamente 400, menos de aproximadamente 200, o menos de aproximadamente 100 copias de genoma por mililitro de suero) en el suero del paciente durante un periodo de al menos aproximadamente un mes, al menos aproximadamente dos meses, al menos aproximadamente tres meses, al menos aproximadamente cuatro meses, al menos aproximadamente cinco meses, o al menos aproximadamente seis meses después del cese de la terapia.

Tal como se indicó anteriormente, si un procedimiento objeto es eficaz en el tratamiento de una infección por VHC puede determinarse midiendo un parámetro asociado con la infección por VHC, tal como fibrosis hepática. Se tratan en detalle más adelante procedimientos de determinación de la magnitud de la fibrosis hepática. En algunas realizaciones, el nivel de un marcador sérico de fibrosis hepática indica el grado de fibrosis hepática.

Como ejemplo, se miden los niveles de alanina aminotransferasa (ALT) sérica, usando ensayos convencionales. En general, un nivel de ALT de menos de aproximadamente 45 unidades internacionales se considera normal. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad eficaz para reducir los niveles de ALT hasta menos de aproximadamente 45 UI/ml de suero.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad que es eficaz para reducir un nivel sérico de un marcador de fibrosis hepática en al menos aproximadamente el 10%, al menos aproximadamente el 20%, al menos aproximadamente el 25%, al menos aproximadamente el 30%, al menos aproximadamente el 35%, al menos aproximadamente el 40%, al menos aproximadamente el 45%, al menos aproximadamente el 50%, al menos aproximadamente el 55%, al menos aproximadamente el 60%, al menos aproximadamente el 65%, al menos aproximadamente el 70%, al menos aproximadamente el 75%, o al menos aproximadamente el 80%, o más, en comparación con el nivel del marcador en un individuo sin tratar, o en un individuo tratado con placebo. Los procedimientos de medición de marcadores séricos incluyen procedimientos basados en inmunología, por ejemplo, ensayos de inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA), radioinmunoensayos y similares, usando un anticuerpo específico para un marcador sérico dado.

En muchas realizaciones, una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I y un agente antiviral adicional es una cantidad sinérgica. Tal como se usa en el presente documento, una "combinación sinérgica" o una "cantidad sinérgica" de un compuesto de fórmula I y un agente antiviral adicional es una dosificación combinada que es más eficaz en el tratamiento profiláctico o terapéutico de una infección por VHC que la mejora incremental en el resultado del tratamiento que podría predecirse o esperarse de una combinación meramente aditiva de (i) el beneficio terapéutico o profiláctico de un compuesto de fórmula I cuando se administra a esa misma dosificación como monoterapia y (ii) el beneficio terapéutico o profiláctico del agente antiviral adicional cuando se administra a esa misma dosificación como monoterapia.

En algunas realizaciones de la divulgación, una cantidad seleccionada de un compuesto de fórmula I y una cantidad seleccionada de un agente antiviral adicional son eficaces cuando se usan en terapia de combinación para una enfermedad, pero la cantidad seleccionada del compuesto de fórmula I y/o la cantidad seleccionada del agente antiviral adicional es ineficaz cuando se usa en monoterapia para la enfermedad. Por tanto, la divulgación engloba

5 (1) pautas de tratamiento en las que una cantidad seleccionada del agente antiviral adicional potencia el beneficio terapéutico de una cantidad seleccionada del compuesto de fórmula I cuando se usa en terapia de combinación para una enfermedad, no proporcionando la cantidad seleccionada del agente antiviral adicional ningún beneficio terapéutico cuando se usa en monoterapia para la enfermedad; (2) pautas de tratamiento en las que una cantidad seleccionada del compuesto de fórmula I potencia el beneficio terapéutico de una cantidad seleccionada del agente

10 antiviral adicional cuando se usa en terapia de combinación para una enfermedad, no proporcionando la cantidad seleccionada del compuesto de fórmula I ningún beneficio terapéutico cuando se usa en monoterapia para la enfermedad; y (3) pautas de tratamiento en las que una cantidad seleccionada del compuesto de fórmula I y una cantidad seleccionada del agente antiviral adicional proporcionan un beneficio terapéutico cuando se usan en terapia de combinación para una enfermedad, no proporcionando cada una de las cantidades seleccionadas del compuesto

15 de fórmula I y el agente antiviral adicional, respectivamente, ningún beneficio terapéutico cuando se usa en monoterapia para la enfermedad. Tal como se usa en el presente documento, un “cantidad eficaz desde el punto de vista sinérgico” de un compuesto de fórmula I y un agente antiviral adicional, y sus equivalente gramaticales, se entenderá que incluye cualquier pauta de tratamiento incluida en cualquiera de los puntos (1)-(3) anteriores.

### Fibrosis

20 La presente divulgación proporciona procedimientos para el tratamiento de fibrosis hepática (incluyendo formas de fibrosis hepática que se originan de, o están asociadas con, infección por VHC), que implican en general una cantidad terapéutica de un compuesto de fórmula I y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales. A continuación se describen cantidades eficaces de compuestos de fórmula I, con y sin uno o más agentes antivirales adicionales, así como pautas de dosificación.

25 Si el tratamiento con un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es eficaz para la reducción de la fibrosis hepática se determina por cualquiera de una serie de técnicas bien establecidas para medir la fibrosis hepática y la función hepática. La reducción de la fibrosis hepática se determina analizando una muestra de biopsia hepática. Un análisis de una biopsia hepática comprende evaluaciones de dos componentes principales: necroinflamación evaluada mediante el “grado” como una medición de la gravedad y actividad de la enfermedad en curso, y las lesiones de fibrosis y remodelación vascular o parenquimal tal como se

30 evalúa mediante “fase” como reflejo de la evolución de la enfermedad a largo plazo. Véase, por ejemplo, Brunt (2000) *Hepatology* 31:241-246; y METAVIR (1994) *Hepatology* 20:15-20. En base al análisis de la biopsia hepática, se asigna una puntuación. Existen una serie de sistemas de puntuación normalizados que proporcionan una evaluación cuantitativa del grado y de la gravedad de la fibrosis. Estos incluyen los sistemas de puntuación METAVIR, Knodell,

35 Scheuer, Ludwig e Ishak.

El sistema de puntuación METAVIR se basa en un análisis de diversas características de una biopsia hepática, incluyendo fibrosis (fibrosis portal, fibrosis centrilobular y cirrosis); necrosis (necrosis segmentaria y lobular, retracción acidófila y degeneración por hinchamiento); inflamación (inflamación del espacio portal, agregados linfoides portales y distribución de la inflamación portal); cambios en el conducto biliar; y el índice Knodell

40 (puntuaciones de necrosis periportal, necrosis lobular, inflamación portal, fibrosis y actividad global de la enfermedad). Las definiciones de cada fase en el sistema METAVIR son las siguientes: puntuación: 0, sin fibrosis; puntuación: 1, agrandamiento estrellado del espacio portal pero sin formación de septos; puntuación: 2, agrandamiento del espacio portal con escasa formación septos; puntuación: 3, numerosos septos sin cirrosis; y puntuación: 4, cirrosis.

45 El sistema de puntuación de Knodell, también denominado índice de actividad de la hepatitis, clasifica las muestras basándose en puntuaciones en cuatro categorías de características histológicas: I. Necrosis periportal y/o puente; II. Degeneración intralobular y necrosis focal; III. Inflamación portal; y IV. Fibrosis. En el sistema de fases de Knodell, las puntuaciones son las siguientes: puntuación: 0, sin fibrosis; puntuación: 1, fibrosis leve (expansión portal fibrosa); puntuación: 2, fibrosis moderada; puntuación: 3, fibrosis grave (fibrosis puente); y puntuación: 4, cirrosis. A mayor

50 valor de la puntuación, más grave será el daño al tejido hepático. Knodell (1981) *Hepatology* 1:431.

En el sistema puntuación de Scheuer las puntuaciones son las siguientes: puntuación: 0, sin fibrosis; puntuación: 1, espacios portales fibróticos, agrandados; puntuación: 2, septos periportales o porto-portales, pero arquitectura intacta; puntuación: 3, fibrosis con deformación de la arquitectura, pero sin cirrosis obvia; puntuación: 4, cirrosis probable o definitiva. Scheuer (1991) *J. Hepatology* 13:372.

55 El sistema de puntuación de Ishak se describe en Ishak (1995) *J. Hepatology* 22:696-699. Fase 0, sin fibrosis; fase 1, expansión fibrosa de algunas zonas portales, con o sin septos fibrosos cortos; fase 2, expansión fibrosa de la mayoría de las zonas portales, con o sin septos fibrosos cortos; fase 3, expansión fibrosa de la mayoría de las zonas portales con puente porto-portal (P-P) ocasional; fase 4, expansión fibrosa de zonas portales con puente marcado (P-P) así como porto-central (P-C); fase 5, puente marcado (P-P y/o P-C) con nódulos ocasionales (cirrosis

60 incompleta); fase 6, cirrosis, probable o definitiva.

El beneficio de la terapia antifibrótica también puede medirse y evaluarse usando el sistema de puntuación de Child-Pugh que comprende un sistema de puntos multicomponente basado en anomalías en el nivel de bilirrubina sérica, el nivel de albúmina sérica, el tiempo de protrombina, la presencia y gravedad de ascitis, y la presencia y gravedad de encefalopatía. En base a la presencia y gravedad de la anomalía de estos parámetros, los pacientes pueden ubicarse en una de tres categorías de gravedad creciente de enfermedad clínica: A, B o C.

En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad que efectúa un cambio de una unidad o más en la fase de fibrosis en base a biopsias hepáticas antes y después de la terapia. En realizaciones particulares, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, reduce la fibrosis hepática en al menos una unidad en el sistema de puntuación METAVIR, Knodell, Scheuer, Ludwig o Ishak.

Pueden usarse también índices secundarios o indirectos de la función hepática para evaluar la eficacia del tratamiento con un compuesto de fórmula I. La evaluación morfométrica informatizada semiautomatizada del grado cuantitativo de fibrosis hepática basada en la tinción específica de colágeno y/o marcadores séricos de fibrosis hepática puede medirse también como una indicación de la eficacia de un procedimiento de tratamiento objeto. Los índices secundarios de la función hepática incluyen, pero no se limitan a, niveles de transaminasa sérica, tiempo de protrombina, bilirrubina, recuento de plaquetas, presión portal, nivel de albúmina y evaluación de la puntuación Child-Pugh.

Una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad que es eficaz para aumentar un índice de función hepática en al menos aproximadamente el 10%, al menos aproximadamente el 20%, al menos aproximadamente el 25%, al menos aproximadamente el 30%, al menos aproximadamente el 35%, al menos aproximadamente el 40%, al menos aproximadamente el 45%, al menos aproximadamente el 50%, al menos aproximadamente el 55%, al menos aproximadamente el 60%, al menos aproximadamente el 65%, al menos aproximadamente el 70%, al menos aproximadamente el 75%, o al menos aproximadamente el 80%, o más, en comparación con el índice de función hepática en un individuo no tratado, o en un individuo tratado con placebo. Los expertos en la técnica pueden medir fácilmente tales índices de función hepática, usando procedimientos de ensayo convencionales, muchos de los cuales están disponibles de forma comercial, y se usan rutinariamente en la práctica clínica.

Los marcadores séricos de fibrosis hepática también pueden medirse como una indicación de la eficacia de un procedimiento de tratamiento objeto. Los marcadores séricos de fibrosis hepática incluyen, pero no se limitan a, hialuronato, péptido procolágeno III N-terminal, dominio 7S de colágeno tipo IV, péptido procolágeno I C-terminal y laminina. Marcadores bioquímicos adicionales de fibrosis hepática incluyen  $\alpha$ -2-macroglobulina, haptoglobina, gamma globulina, apolipoproteína A y gamma glutamil transpeptidasa.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad que es eficaz para reducir un nivel sérico de un marcador de fibrosis hepática en al menos aproximadamente el 10%, al menos aproximadamente el 20%, al menos aproximadamente el 25%, al menos aproximadamente el 30%, al menos aproximadamente el 35%, al menos aproximadamente el 40%, al menos aproximadamente el 45%, al menos aproximadamente el 50%, al menos aproximadamente el 55%, al menos aproximadamente el 60%, al menos aproximadamente el 65%, al menos aproximadamente el 70%, al menos aproximadamente el 75%, o al menos aproximadamente el 80%, o más, en comparación con el nivel de un marcador en un individuo no tratado, o en un individuo tratado con placebo. Los expertos en la técnica pueden medir fácilmente tales marcadores séricos de fibrosis hepática, usando procedimientos de ensayo convencionales, muchos de los cuales están disponibles de forma comercial, y se usan rutinariamente en la práctica clínica. Procedimientos de medición de marcadores séricos incluyen procedimientos basados en inmunología, por ejemplo, ensayos de inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA), radioinmunoensayos y similares, usando un anticuerpo específico para un marcador sérico dado.

Pueden usarse también pruebas cuantitativas de la reserva hepática funcional para evaluar la eficacia del tratamiento con un agonista de receptor de interferón y pifenedona (o un análogo de pifenedona). Estas incluyen: aclaramiento de verde de indocianina (ICG), capacidad de eliminación de galactosa (GEC), prueba respiratoria con aminopirina (ABT), aclaramiento de antipirina, aclaramiento de monoetilglicina-xilidida (MEG-X) y aclaramiento de cafeína.

Tal como se usa en el presente documento, una "complicación asociada con cirrosis del hígado" se refiere a un trastorno que es una secuela de enfermedad hepática descompensada, es decir, o se produce posteriormente al, y como resultado del, desarrollo de fibrosis hepática, e incluye, pero no se limita a, desarrollo de ascitis, sangrado por várices, hipertensión portal, ictericia, insuficiencia hepática progresiva, encefalopatía, carcinoma hepatocelular, insuficiencia hepática que requiere trasplante de hígado y mortalidad relacionada con el hígado.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad que es eficaz en la reducción de la incidencia (por ejemplo, la probabilidad de que un individuo desarrolle) un trastorno asociado con cirrosis del hígado en al menos aproximadamente el 10%, al menos

aproximadamente el 20%, al menos aproximadamente el 25%, al menos aproximadamente el 30%, al menos aproximadamente el 35%, al menos aproximadamente el 40%, al menos aproximadamente el 45%, al menos aproximadamente el 50%, al menos aproximadamente el 55%, al menos aproximadamente el 60%, al menos aproximadamente el 65%, al menos aproximadamente el 70%, al menos aproximadamente el 75%, o al menos aproximadamente el 80%, o más, en comparación con un individuo no tratado, o con un individuo tratado con placebo.

Si el tratamiento con un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es eficaz en la reducción de la incidencia de un trastorno asociado con cirrosis del hígado pueden determinarlo fácilmente los expertos en la técnica.

La reducción de la fibrosis hepática aumenta la función hepática. Así, la divulgación proporciona procedimientos para el aumento de la función hepática, que implican en general administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales. Las funciones hepáticas incluyen, pero no se limitan a, síntesis de proteínas tales como proteínas séricas (por ejemplo, albúmina, factores de coagulación, fosfatasa alcalina, aminotransferasas (por ejemplo, alanina transaminasa, aspartato transaminasa), 5'-nucleosidasa,  $\gamma$ -glutamintiltranspeptidasa, etc.), síntesis de bilirrubina, síntesis de colesterol y síntesis de ácidos biliares; una función metabólica hepática, incluyendo, pero no se limitan a, metabolismo de hidratos de carbono, metabolismo de aminoácidos y amoniaco, metabolismo de hormonas y metabolismo de lípidos; detoxificación de fármacos exógenos; una función hemodinámica, incluyendo hemodinámica visceral y portal; y similares.

Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente si una función hepática aumenta, usando pruebas bien establecidas de la función hepática. Así, la síntesis de marcadores de función hepática tales como albúmina, fosfatasa alcalina, alanina transaminasa, aspartato transaminasa, bilirrubina y similares, puede evaluarse midiendo el nivel de estos marcadores en el suero, usando ensayos inmunológicos y enzimáticos convencionales. La circulación visceral y la hemodinámica portal pueden medirse mediante la presión y/o la resistencia de enclavamiento portal usando procedimientos convencionales. Las funciones metabólicas pueden medirse midiendo nivel de amoniaco en el suero.

Si las proteínas séricas normalmente secretadas por el hígado están en el intervalo normal puede determinarse midiendo los niveles de tales proteínas, usando ensayos inmunológicos y enzimáticos convencionales. Los expertos en la técnica conocen los intervalos normales para tales proteínas séricas. Los siguientes son ejemplos no limitantes. El nivel normal de alanina transaminasa es de aproximadamente 45 UI por mililitro de suero. El intervalo normal de aspartato transaminasa es de aproximadamente 5 a aproximadamente 40 unidades por litro de suero. La bilirrubina se mide usando ensayos convencionales. Los niveles normales de bilirrubina habitualmente son inferiores a aproximadamente 1,2 mg/dl. Los niveles de albúmina sérica se miden usando ensayos convencionales. Los niveles normales de albúmina sérica están en el intervalo de aproximadamente 35 a aproximadamente 55 g/l. La prolongación del tiempo de protrombina se mide usando ensayos convencionales. El tiempo de protrombina normal es inferior a aproximadamente 4 segundos más que el control.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una que es eficaz para aumentar la función hepática en al menos aproximadamente el 10%, al menos aproximadamente el 20%, al menos aproximadamente el 30%, al menos aproximadamente el 40%, al menos aproximadamente el 50%, al menos aproximadamente el 60%, al menos aproximadamente el 70%, al menos aproximadamente el 80%, o más. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es una cantidad eficaz para reducir un nivel elevado de un marcador sérico de la función hepática en al menos aproximadamente el 10%, al menos aproximadamente el 20%, al menos aproximadamente el 30%, al menos aproximadamente el 40%, al menos aproximadamente el 50%, al menos aproximadamente el 60%, al menos aproximadamente el 70%, al menos aproximadamente el 80%, o más, o reducir el nivel del marcador sérico de la función hepática hasta valor en un intervalo normal. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales, es también una cantidad eficaz para aumentar un nivel reducido de un marcador sérico de la función hepática en al menos aproximadamente el 10%, al menos aproximadamente el 20%, al menos aproximadamente el 30%, al menos aproximadamente el 40%, al menos aproximadamente el 50%, al menos aproximadamente el 60%, al menos aproximadamente el 70%, al menos aproximadamente el 80%, o más, o aumentar el nivel del marcador sérico de la función hepática hasta un valor en un intervalo normal.

#### **Agonistas del receptor de interferón tipo I**

En cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente, en algunas realizaciones, se administra un agonista del receptor de interferón tipo I. Los agonistas de receptores de interferón tipo I incluyen un IFN- $\alpha$ ; un IFN- $\beta$ ; un IFN-tau; un IFN- $\omega$ ; agonistas de anticuerpos específicos para un receptor de interferón tipo I; y cualquier otro agonista del receptor de interferón tipo I, incluyendo agonistas no polipeptídicos.

#### **Interferón-alfa**

Se puede usar cualquier IFN- $\alpha$  conocido en la presente invención. El término "interferón-alfa", como se usa en el

presente documento, se refiere a una familia de polipéptidos relacionados que inhiben la replicación vírica y la proliferación celular y modulan la respuesta inmunitaria. El término "IFN- $\alpha$ " incluye IFN- $\alpha$  natural; IFN- $\alpha$  sintético; IFN- $\alpha$  derivado (por ejemplo, IFN- $\alpha$  PEGilado, IFN- $\alpha$  glucosilado y similares); y análogos de IFN- $\alpha$  naturales o sintéticos; esencialmente cualquier IFN- $\alpha$  que tenga propiedades antivíricas, como se describe para el IFN- $\alpha$  natural.

- 5 Los interferones alfa adecuados incluyen, pero no se limitan a, IFN- $\alpha$  natural (incluyendo, pero sin limitarse a, IFN- $\alpha$ 2a, IFN- $\alpha$ 2b natural); interferón alfa-2b recombinante tal como interferón Intron-A disponible de Schering Corporation, Kenilworth, N.J.; interferón alfa-2a recombinante tal como interferón Roferon disponible de Hoffmann-La Roche, Nutley, N. J.; interferón alfa-2C recombinante tal como interferón Berofor alfa 2 disponible de Boehringer Ingelheim Pharmaceutical, Inc., Ridgefield, Conn.; interferón alfa-n1, una mezcla purificada de interferones alfa naturales tales como Sumiferon disponible de Sumitomo, Japón, o como interferón alfa-n1 Wellferon (INS) disponible de Glaxo-Wellcome Ltd., Londres, Gran Bretaña; e interferón alfa-n3 una mezcla de interferones alfa naturales preparada por Interferon Sciences y disponible de Purdue Frederick Co., Norwalk, Conn., bajo el nombre comercial Alferon.

- 15 El término "IFN- $\alpha$ " también engloba el IFN- $\alpha$  de consenso. El IFN- $\alpha$  de consenso (también denominado como "CIFN" e "IFN-con" e "interferón de consenso") engloba, pero no se limita a, las secuencias de aminoácidos designadas IFN-con1, IFN-con2 e IFN-con3 que se divulgan en las patentes de los Estados Unidos números 4.695.623 y 4.897.471; e interferón de consenso definido por la determinación de una secuencia de consenso de interferón alfas naturales (por ejemplo, Infergen®, InterMune, Inc., Brisbane, Calif.). El IFN-con1 es el agente de interferón de consenso en el producto alfacon-1 Infergen®. El producto de interferón de consenso Infergen® se denomina en el  
20 presente documento con su nombre comercial (Infergen®) o con su nombre genérico (interferón alfacon-1). Las secuencias de ADN que codifican el IFN-con se pueden sintetizar como se describe en las patentes mencionadas anteriormente u otros procedimientos estándar. El uso de CIFN es de particular interés.

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

### Interferón alfa PEGilado

- 30 El término "IFN- $\alpha$ " también engloba derivados de IFN- $\alpha$  que se derivatizan (por ejemplo, se modifican químicamente) para alterar determinadas propiedades tales como la semivida en suero. Como tal, el término "IFN- $\alpha$ " incluye IFN- $\alpha$  glucosilado; IFN- $\alpha$  derivatizado con polietilenglicol ("IFN- $\alpha$  PEGilado"); y similares. El IFN- $\alpha$  PEGilado, y procedimientos para preparar el mismo, se analiza, por ejemplo, en las patentes de los Estados Unidos números 5.382.657; 5.981.709; y 5.951.974. El IFN- $\alpha$  PEGilado engloba conjugados de PEG y cualquiera de las moléculas de  
35 IFN- $\alpha$  descritas anteriormente, incluyendo, pero sin limitarse a, PEG conjugado con interferón alfa-2a (Roferon, Hoffman La-Roche, Nutley, N.J.), interferón alfa 2b (Intron, Schering-Plough, Madison, N.J.), interferón alfa-2c (Berofor Alpha, Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Alemania); e interferón de consenso como se define por la determinación de una secuencia de consenso de interferón alfas naturales (Infergen®, InterMune, Inc., Brisbane, Calif.).

- 40 Cualquiera de los polipéptidos de IFN- $\alpha$  mencionados anteriormente puede estar modificado con uno o más restos de polietilenglicol, es decir, PEGilado. La molécula de PEG de un polipéptido de IFN- $\alpha$  PEGilado se conjuga con una o más cadenas laterales de aminoácidos del polipéptido de IFN- $\alpha$ . En algunas realizaciones, el IFN- $\alpha$  PEGilado contiene un resto PEG sólo en un aminoácido. En otras realizaciones, el IFN- $\alpha$  PEGilado contiene un resto PEG en dos o más aminoácidos, por ejemplo, el IFN- $\alpha$  contiene un resto PEG unido a dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete,  
45 ocho, nueve o diez residuos de aminoácidos diferentes.

El IFN- $\alpha$  se puede acoplar directamente al PEG (es decir, sin un grupo enlazante) a través de un grupo amino, un grupo sulfhidrilo, un grupo hidroxilo o un grupo carboxilo.

- En algunas realizaciones, el IFN- $\alpha$  PEGilado está PEGilado en o cerca del extremo amino (extremo N terminal) del polipéptido de IFN- $\alpha$ , por ejemplo, el resto de PEG se conjuga con el polipéptido de IFN- $\alpha$  en uno o más residuos de  
50 aminoácidos desde el aminoácido 1 hasta el aminoácido 4, o desde el aminoácido 5 hasta aproximadamente el 10.

En otras realizaciones, el IFN- $\alpha$  PEGilado está PEGilado en uno o más residuos de aminoácidos desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 28.

- En otras realizaciones, el IFN- $\alpha$  PEGilado está PEGilado en o cerca del extremo carboxilo (extremo C terminal) del polipéptido de IFN- $\alpha$ , por ejemplo, en uno o más residuos desde los aminoácidos 156-166, o desde los aminoácidos  
55 150 a 155.

En otras realizaciones, el IFN- $\alpha$  PEGilado está PEGilado en uno o más residuos de aminoácidos desde los

aminoácidos 100-114.

La derivatización de polietilenglicol de residuos de aminoácidos en o cerca de los dominios del sitio de unión al receptor y/o activos de la proteína IFN- $\alpha$  puede alterar el funcionamiento de estos dominios. En determinadas realizaciones de la invención, los aminoácidos en los que debe evitarse la PEGilación incluyen residuos de aminoácidos desde el aminoácido 30 hasta el aminoácido 40; y residuos de aminoácidos desde el aminoácido 113 hasta el aminoácido 149.

En algunas realizaciones, el PEG se une al IFN- $\alpha$  por medio de un grupo enlazante. El grupo enlazante es cualquier grupo enlazante biocompatible, donde "biocompatible" indica que el compuesto o grupo sea no tóxico y se pueda utilizar in vitro o in vivo sin provocar lesión, malestar, enfermedad o muerte. El PEG se puede unir al grupo enlazante, por ejemplo, por medio de un enlace éter, un enlace éster, un enlace tiol o un enlace amida. Los grupos enlazantes biocompatibles adecuados incluyen, pero no se limitan a, un grupo éster, un grupo amida, un grupo imida, un grupo carbamato, un grupo carboxilo, un grupo hidroxilo, un carbohidrato, un grupo succinimida (incluyendo, por ejemplo, succinato de succinimidilo (SS), propionato de succinimidilo (SPA), butanoato de succinimidilo (SBA), carboximetilato de succinimidilo (SCM), succinimidil succinamida (SSA) o N-hidroxi succinimida (NHS)), un grupo epoxi, un grupo oxicarbonilimidazol (incluyendo, por ejemplo, carbonildimidazol (CDI)), un grupo nitro fenil (incluyendo, por ejemplo, carbonato de nitrofenilo (NPC) o carbonato de triclorofenilo (TPC)), un grupo trisilato, un grupo aldehído, un grupo isocianato, un vinilsulfona, un grupo tirosina, un grupo cisteína, un grupo histidina o una amina primaria.

Los procedimientos para preparar los PEG activados por éster de propionato de succinimidilo (SPA) y butanoato de succinimidilo (SBA) se describen en la patente de los Estados Unidos nº 5.672.662 (Harris, et al.) y el documento WO 97/03106.

Los procedimientos para unir un PEG a un polipéptido de IFN- $\alpha$  son conocidos en la técnica, y se puede usar cualquier procedimiento conocido. Véase, por ejemplo, por Park et al, *Anticancer Res.*, 1:373-376 (1981); Zaplisky y Lee, *Polyethylene Glycol Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications*, J. M. Harris, ed., Plenum Press, NY, capítulo 21 (1992); la patente de los Estados Unidos nº 5.985.265; la patente de los Estados Unidos nº 5.672.662 (Harris, et al.) y el documento WO 97/03106.

El IFN- $\alpha$  PEGilado, y procedimientos para preparar el mismo, se analiza, por ejemplo, en las patentes de los Estados Unidos números 5.382.657; 5.981.709; 5.985.265; y 5.951.974. El IFN- $\alpha$  PEGilado engloba conjugados de PEG y cualquiera de las moléculas de IFN- $\alpha$  descritas anteriormente, incluyendo, pero sin limitarse a, PEG conjugado con interferón alfa-2a (Roferon, Hoffman La-Roche, Nutley, N.J.), donde el Roferon PEGilado se conoce como Pegasys (Hoffman LaRoche); interferón alfa 2b (Intron, Schering-Plough, Madison, N.J.), donde el Intron PEGilado se conoce como PEG-Intron (Schering-Plough); interferón alfa-2c (Berofor Alpha, Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Alemania); e interferón de consenso como se define por la determinación de una secuencia de consenso de interferón alfas naturales (Infergen®, InterMune, Inc., Brisbane, Calif.) donde el Infergen PEGilado se conoce como PEG-Infergen.

En muchas realizaciones, el PEG es una molécula monometoxiPEG que reacciona con grupos de amina primaria en el polipéptido de IFN- $\alpha$ . Los procedimientos de modificación de polipéptidos con monometoxi PEG por medio de la alquilación reductora son conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Chamow et al. (1994) *Bioconj. Chem.* 5:133-140.

En un ejemplo, el PEG se enlaza al IFN- $\alpha$  por medio de un grupo enlazante de SPA. Los ésteres de SPA de PEG, y los procedimientos para preparar los mismos se describen en la patente de los Estados Unidos nº 5.672.662. Los enlaces de SPA proporcionan un enlace a grupos amina libres en el polipéptido de IFN- $\alpha$ .

Por ejemplo, una molécula de PEG se une covalentemente por medio de un enlace que comprende un enlace de amida entre un grupo propionilo del resto de PEG y el grupo épsilon amino de un residuo de lisina expuesto en la superficie en el polipéptido de IFN- $\alpha$ . Dicho enlace se puede formar, por ejemplo, por condensación de un éster activado de ácido  $\alpha$ -metoxi, omega propanoico de PEG (mPEGspa).

Como un ejemplo, un conjugado de CIFN monopegilado preferido para su uso en el presente documento tiene un resto de PEG lineal de aproximadamente 30 kD unido por medio de un enlace covalente al polipéptido de CIFN, donde el enlace covalente es un enlace de amida entre un grupo propionilo del resto de PEG y el grupo épsilon amino de un residuo de lisina expuesto en la superficie en el polipéptido de CIFN, donde el residuo de lisina expuesto en la superficie se elige de lys<sup>31</sup>, lys<sup>50</sup>, lys<sup>71</sup>, lys<sup>84</sup>, lys<sup>121</sup>, lys<sup>122</sup>, lys<sup>134</sup>, lys<sup>135</sup> y lys<sup>165</sup>, y el enlace de amida se forma por condensación de un éster activado de ácido  $\alpha$ -metoxi, omega propanoico de PEG.

#### Polietilenglicol

El polietilenglicol adecuado para su conjugación a un polipéptido de IFN- $\alpha$  es soluble en agua a temperatura ambiente, y tiene la fórmula general R(O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>O-R, en la que R es hidrógeno o un grupo protector tal como un grupo alquilo o alcohol, y en la que n es un número entero de 1 a 1000. Cuando R es un grupo protector, en general

tiene de 1 a 8 carbonos.

En muchas realizaciones, el PEG tiene al menos un grupo hidroxilo, por ejemplo, un grupo hidroxilo terminal, grupo hidroxilo que está modificado para generar un grupo funcional que es reactivo con un grupo amino, por ejemplo, un grupo épsilon amino de un residuo de lisina, un grupo amino libre en el extremo N terminal de un polipéptido, o cualquier otro grupo amino tal como un grupo amino de asparagina, glutamina, arginina o histidina.

En otras realizaciones, el PEG está derivatizado de modo que es reactivo con grupos carboxilo libres en el polipéptido de IFN- $\alpha$ , por ejemplo, el grupo carboxilo libre en el extremo carboxilo del polipéptido de IFN- $\alpha$ . Los derivados adecuados del PEG que son reactivos con el grupo carboxilo libre en el extremo carboxilo del IFN- $\alpha$  incluyen, pero no se limitan a, PEG-amina, y derivados de hidrazina de PEG (por ejemplo, PEG-NH-NH<sub>2</sub>).

En otras realizaciones, el PEG está derivatizado de modo que comprende un grupo ácido tiocarboxílico terminal, -COSH, que reacciona selectivamente con grupos amino para generar derivados de amida. Debido a la naturaleza reactiva del tio ácido, se logra la selectividad de determinados grupos amino sobre otros. Por ejemplo, -SH presenta una disponibilidad de grupo saliente suficiente en reacción con un grupo amino N terminal en condiciones de pH apropiadas de modo que los grupos  $\epsilon$ -amino en los residuos de lisina se protonan y permanecen no nucleófilos. Por otra parte, las reacciones bajo condiciones de pH adecuadas pueden hacer que algunos de los residuos de lisina accesibles reaccionen con selectividad.

En otras realizaciones, el PEG comprende un éster reactivo tal como una N-hidroxi succinimidato en el extremo de la cadena de PEG. Dicha molécula de PEG que contiene N-hidroxisuccinimidato reacciona con grupos amino seleccionados en condiciones de pH particulares tales como neutro 6,5-7,5. Por ejemplo, los grupos amino N terminales se pueden modificar selectivamente bajo condiciones de pH neutras. Sin embargo, si la reactividad del reactivo fuera extrema, también pueden reaccionar grupos NH<sub>2</sub> accesibles de lisina.

El PEG puede estar conjugado directamente con el polipéptido de IFN- $\alpha$  o a través de un enlazador. En algunas realizaciones, se añade un enlazador al polipéptido de IFN- $\alpha$ , formando un polipéptido de IFN- $\alpha$  modificado por enlazador. Dichos enlazadores proporcionan varias funcionalidades, por ejemplo, grupos reactivos tales como grupos sulfhidrido, amino, o carboxilo para acoplar un reactivo de PEG a un polipéptido de IFN- $\alpha$  modificado por enlazador.

En algunas realizaciones, el PEG conjugado con el polipéptido de IFN- $\alpha$  es lineal. En otras realizaciones, el PEG conjugado con el polipéptido de IFN- $\alpha$  es ramificado. Los derivados de PEG ramificados tales como los descritos en la patente de los Estados Unidos n° 5.643.575, los "PEG estrella" y los PEG con varios brazos tales como los descritos en Shearwater Polymers, Inc. catálogo "Polyethylene Glycol Derivatives 1997-1998." Los PEG estrella se describen en la técnica, incluyendo, por ejemplo, la patente de los Estados Unidos n° 6.046.305.

En general, se usa un PEG que tiene un peso molecular en un intervalo de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 100 kDa, donde el término "aproximadamente", en el contexto de PEG, indica que en las preparaciones de polietilenglicol, algunas moléculas pesarán más, algunas menos, que el peso molecular establecido. Por ejemplo, un PEG adecuado para su conjugación con IFN- $\alpha$  tiene un peso molecular de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 5 kDa, de aproximadamente 5 kDa a aproximadamente 10 kDa, de aproximadamente 10 kDa a aproximadamente 15 kDa, de aproximadamente 15 kDa a aproximadamente 20 kDa, de aproximadamente 20 kDa a aproximadamente 25 kDa, de aproximadamente 25 kDa a aproximadamente 30 kDa, de aproximadamente 30 kDa a aproximadamente 40 kDa, de aproximadamente 40 kDa a aproximadamente 50 kDa, de aproximadamente 50 kDa a aproximadamente 60 kDa, de aproximadamente 60 kDa a aproximadamente 70 kDa, de aproximadamente 70 kDa a aproximadamente 80 kDa, de aproximadamente 80 kDa a aproximadamente 90 kDa, o de aproximadamente 90 kDa a aproximadamente 100 kDa.

#### Preparación de conjugados de PEG-IFN- $\alpha$

Como se analiza anteriormente, el resto de PEG se puede unir, directamente o por medio de un enlazador, a un residuo aminoácido o cerca del extremo N terminal, internamente, o en o cerca del extremo C terminal del polipéptido de IFN- $\alpha$ . La conjugación se puede llevar a cabo en solución o en fase sólida.

#### *Enlace N terminal*

Los procedimientos para unir un resto de PEG a un residuo aminoácido en o cerca del extremo N terminal de un polipéptido se conocen en la técnica. Véase, por ejemplo, la patente de los Estados Unidos n° 5.985.265.

En algunas realizaciones, se usan procedimientos conocidos para obtener selectivamente un IFN- $\alpha$  modificado químicamente en el extremo N terminal. Por ejemplo, se puede usar un procedimiento de modificación de proteínas por alquilación reductora que se aprovecha de la reactividad diferencial de diferentes tipos de grupos amino primarios (lisina frente al extremo N terminal) disponible para derivatización en una proteína particular. Bajo las condiciones de reacción apropiadas, se logra una derivatización sustancialmente selectiva de la proteína en el extremo N terminal con un grupo carbonilo que contiene polímero. La reacción se realiza a un pH que permita aprovechar las diferencias de pK<sub>a</sub> entre los grupos  $\alpha$ -amino de los residuos de lisina y las del grupo  $\alpha$ -amino del

residuo N terminal de la proteína. Por dicha derivatización selectiva se controla la unión de un resto de PEG al IFN- $\alpha$ : la conjugación con el polímero tiene lugar predominantemente en el extremo N terminal del IFN- $\alpha$  y no se produce modificación significativa de otros grupos reactivos, tales como los grupos amino de la cadena lateral de lisina.

#### *Enlace C terminal*

5 Los procedimientos de acoplamiento específico N terminal tales como los descritos en la patente de los Estados Unidos nº 5.985.265 proporcionan productos predominantemente monoPEGilados. Sin embargo, los procedimientos de purificación destinados a retirar los reactivos en exceso y los procedimientos PEGilados de menor multiplicidad retiran los polipéptidos bloqueados en el extremo N terminal. En términos de tratamiento, dichos procedimientos conducen a incrementos significativos en los costes de fabricación. Por ejemplo, el examen de la estructura de la

10 secuencia de aminoácidos de polipéptido de CIFN Alfacon-1 Infergen® bien caracterizado revela que el corte es aproximadamente de un 5 % en el extremo carboxilo y por tanto sólo hay una secuencia C terminal principal. Por tanto, en algunas realizaciones, no se usa el IFN- $\alpha$  PEGilado en el extremo N terminal, el polipéptido de IFN- $\alpha$  está PEGilado en el extremo C terminal.

15 Un enfoque sintético así como terapéutico efectivo para obtener un producto de Infergen mono PEGilado, por lo tanto, se prevé como sigue:

Un reactivo de PEG que es selectivo para el extremo C terminal se puede preparar con o sin espaciadores. Por ejemplo, el polietilenglicol modificado como metil éter en un extremo y que tiene una función amino en el otro extremo, se puede usar como material de partida.

20 Se puede llevar a cabo la preparación o la obtención de una carbodiimida soluble en agua como agente de condensación. El acoplamiento de IFN- $\alpha$  (por ejemplo, CIFN Alfacon-1 Infergen® o interferón de consenso) con una carbodiimida soluble en agua como el reactivo de condensación, en general, se lleva a cabo en medio acuoso, con un sistema de tampón adecuado a un pH óptimo para efectuar el enlace de amida. Se puede añadir un PEG de alto peso molecular a la proteína de forma covalente para incrementar el peso molecular.

25 Los reactivos seleccionados dependerán de los estudios de optimización del procedimiento. Un ejemplo de un reactivo adecuado es EDAC o 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida. La solubilidad en agua de EDAC permite la adición directa a una reacción sin la necesidad de disolución previa del disolvente orgánico. El reactivo en exceso y la isourea formada como producto secundario de la reacción de reticulación son ambos solubles en agua y se pueden retirar fácilmente por diálisis o filtración en gel. Se prepara una solución concentrada de EDAC en agua para facilitar la adición de una pequeña cantidad molar a la reacción. La solución madre se prepara y se usa

30 inmediatamente en vista de la naturaleza lábil del reactivo. La mayoría de los protocolos sintéticos en la literatura sugieren que el medio de reacción óptimo esté en el intervalo de pH de entre 4,7 y 6,0. Sin embargo, las reacciones de condensación se llevan a cabo sin pérdidas significativas en los rendimientos hasta un pH 7,5. Se puede usar agua como disolvente. En vista del uso contemplado de Infergen, preferentemente el medio será tampón de ácido 2-(N-morfolino)etano sulfónico pre-valorado a un pH de entre 4,7 y 6,0. Sin embargo, también se puede usar fosfato

35 0,1M en el pH 7-7,5 en vista del hecho de que el producto está en el mismo tampón. Las proporciones de la amina PEG con respecto a la molécula de IFN- $\alpha$  están optimizadas de forma que el/los residuo(s) carboxi C terminal(es) están PEGilados selectivamente para proporcionar derivado(s) monoPEGilado(s).

Aún cuando el uso de amina de PEG se ha mencionado anteriormente por su nombre o estructura, dichos derivados sólo están destinados a ser ejemplares, y también se pueden usar otros grupos tales como derivados de hidrazina

40 como en PEG-NH-NH<sub>2</sub> que también se condensará con el grupo carboxilo de la proteína IFN- $\alpha$ . Además de en fase acuosa, las reacciones también se pueden llevar a cabo en fase sólida. El polietilenglicol se puede seleccionar a partir de la lista de compuestos de peso molecular que varía desde 300-40000. La elección de los diversos polietilenglicoles también estará dictada por la eficacia en el acoplamiento y el rendimiento biológico del derivado purificado in vitro e in vivo, es decir, tiempos de circulación, actividades anti víricas, etc.

45 Adicionalmente, se pueden añadir espaciadores adecuados al extremo C terminal de la proteína. Los espaciadores pueden tener grupos reactivos tales como SH, NH<sub>2</sub> o COOH para acoplarse con el reactivo de PEG apropiado para proporcionar derivados de IFN- $\alpha$  de alto peso molecular. Se puede idear una metodología de fase sólida/solución combinada para la preparación de interferones pegilados en el extremo C terminal. Por ejemplo, el extremo C del IFN- $\alpha$  se extienden sobre una fase sólida usando un espaciador de Gly-Gly-Cys-NH<sub>2</sub> y después monopegilarse en

50 solución usando un reactivo de ditiopiridil-PEG activado de pesos moleculares apropiados. Ya que el acoplamiento en el extremo C es independiente del bloqueo en el extremo N, los procedimientos y productos previstos serán beneficiosos con respecto al coste (un tercio de la proteína no se pierde en procedimientos de PEGilación N terminales) y contribuyen a la economía del tratamiento para tratar una infección vírica.

Puede haber un grupo carboxilo más reactivo de residuos de aminoácidos en otra parte de la molécula que

55 reaccionen con el reactivo de PEG y que conduzcan a una monoPEGilación en ese sitio o que conduzcan a PEGilaciones múltiples además del grupo -OOH en el extremo C terminal del IFN- $\alpha$ . Se prevé que estas reacciones serán mínimas en el mejor de los casos a causa de la libertad estérica en el extremo C terminal de la molécula y el impedimento estérico impuesto por las carbodiimidias y los reactivos de PEG tales como en las moléculas de cadena



Se debe entender que el IFN- $\beta$  como se describe en el presente documento puede comprender uno o más residuos de aminoácidos modificados, por ejemplo, glucosilaciones, modificaciones químicas, y similares.

#### IFN-tau

5 El término interferón-tau incluye polipéptidos de IFN-tau que son naturales; polipéptidos de IFN-tau no naturales; y análogos de IFN-tau natural o no natural que mantienen la actividad antivírica de un IFN-tau natural o no natural parental.

Los interferones tau adecuados incluyen, pero no se limitan a, IFN-tau natural; Tauferon® (Pepgen Corp.); y similares.

10 El IFN-tau puede comprender una secuencia de aminoácidos como se establece en uno cualquiera de los números de acceso de GenBank P15696; P56828; P56832; P56829; P56831; Q29429; Q28595; Q28594; S08072; Q08071; Q08070; Q08053; P56830; P28169; P28172; y P28171. La secuencia de cualquier polipéptido de IFN-tau conocido se puede alterar de diversas formas conocidas en la técnica para generar cambios dirigidos en la secuencia. Un polipéptido variable normalmente será sustancialmente similar a las secuencias proporcionadas en el presente documento, es decir, se diferenciará al menos en un aminoácido, y puede diferenciarse en al menos dos pero no mas de aproximadamente diez aminoácidos. Los cambios de secuencia pueden ser sustituciones, inserciones o deleciones. Las sustituciones de aminoácidos conservadoras normalmente incluyen sustituciones dentro de los siguientes grupos: (glicina, alanina); (valina, isoleucina, leucina); (ácido aspártico, ácido glutámico); (asparagina, glutamina); (serina, treonina); (lisina, arginina); o (fenilalanina, tirosina).

20 Las modificaciones de interés que pueden alterar o no la secuencia de aminoácidos primaria incluyen la derivatización química de polipéptidos, por ejemplo, acetilación o carboxilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que introducen o retiran un sitio de glucosilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que hacen que la proteína sea susceptible de PEGilación; y similares. También se incluyen modificaciones de glucosilación, por ejemplo, las realizadas modificando los patrones de glucosilación de un polipéptido durante su síntesis y procesar o en etapas de procesado adicionales; por ejemplo, exponiendo el polipéptido a enzimas que afecten a la glucosilación, tales como enzimas de glucosilación o desglucosilación de mamífero. También se engloban 25 secuencias que tienen residuos de aminoácidos fosforilados, por ejemplo, fosfotirosina, fosfoserina o fosfotreonina.

La formulación de IFN-tau puede comprender una especie bloqueada en N, en la que el aminoácido N terminal se acila con un grupo acilo, tal como un grupo formilo, un grupo acetilo, un grupo malonilo y similares. También es adecuado para su uso un IFN-tau de consenso.

30 Los polipéptidos de IFN-tau se pueden producir por cualquier procedimiento conocido. Se pueden sintetizar secuencias de ADN que codifican IFN-tau usando procedimientos estándar. En muchas realizaciones, los polipéptidos de IFN-tau son los productos de la expresión de secuencias de ADN fabricadas transformadas o transfectadas en huéspedes bacterianos, por ejemplo, *E. coli*, o en células huésped eucariotas (por ejemplo, levaduras; células de mamífero, tales como células CHO; y similares). En estas realizaciones, el IFN-tau es "IFN-tau 35 recombinante". Cuando la célula huésped es una célula huésped bacteriana, el IFN-tau se modifica para comprender una metionina N terminal. Se debe entender que el IFN-tau como se describe en el presente documento puede comprender uno o más residuos de aminoácidos modificados, por ejemplo, glucosilaciones, modificaciones químicas, y similares.

#### IFN- $\omega$

40 El término interferón-omega ("IFN- $\omega$ ") incluye polipéptidos de IFN- $\omega$  que son naturales; polipéptidos de IFN- $\omega$  no naturales; y análogos de IFN- $\omega$  natural o no natural que mantienen la actividad antivírica de un IFN- $\omega$  natural o no natural parental.

45 Se puede suministrar cualquier interferón omega conocido por el procedimiento de administración continuo de la presente invención. El IFN- $\omega$  adecuado incluye, pero no se limita a, IFN- $\omega$  natural; IFN- $\omega$  recombinante, por ejemplo, Biomed 510 (BioMedicines); y similares.

50 El IFN- $\omega$  puede comprender una secuencia de aminoácidos como se establece en el número de acceso de GenBank NP\_002168; o AAA70091. La secuencia de cualquier polipéptido de IFN- $\omega$  conocido se puede alterar de diversas formas conocidas en la técnica para generar cambios dirigidos en la secuencia. Un polipéptido variable normalmente será sustancialmente similar a las secuencias proporcionadas en el presente documento, es decir, se diferenciará al menos en un aminoácido, y puede diferenciarse en al menos dos pero no mas de aproximadamente diez aminoácidos. Los cambios de secuencia pueden ser sustituciones, inserciones o deleciones. Las sustituciones de aminoácidos conservadoras normalmente incluyen sustituciones dentro de los siguientes grupos: (glicina, alanina); (valina, isoleucina, leucina); (ácido aspártico, ácido glutámico); (asparagina, glutamina); (serina, treonina); (lisina, arginina); o (fenilalanina, tirosina).

55 Las modificaciones de interés que pueden alterar o no la secuencia de aminoácidos primaria incluyen la derivatización química de polipéptidos, por ejemplo, acetilación o carboxilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que introducen o retiran un sitio de glucosilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que hacen

que la proteína sea susceptible de PEGilación; y similares. También se incluyen modificaciones de glucosilación, por ejemplo, las realizadas modificando los patrones de glucosilación de un polipéptido durante su síntesis y procesar o en etapas de procesado adicionales; por ejemplo, exponiendo el polipéptido a enzimas que afecten a la glucosilación, tales como enzimas de glucosilación o desglucosilación de mamífero. También se engloban secuencias que tienen residuos de aminoácidos fosforilados, por ejemplo, fosfotirosina, fosfoserina, o fosfotreonina. La formulación de IFN- $\omega$  puede comprender una especie bloqueada en N, en la que el aminoácido N terminal se acila con un grupo acilo, tal como un grupo formilo, un grupo acetilo, un grupo malonilo y similares. También es adecuado para su uso un IFN- $\omega$  de consenso.

Los polipéptidos de IFN- $\omega$  se pueden producir por cualquier procedimiento conocido. Se pueden sintetizar secuencias de ADN que codifican IFN- $\omega$  usando procedimientos estándar. En muchas realizaciones, los polipéptidos de IFN- $\omega$  son los productos de la expresión de secuencias de ADN fabricadas transformadas o transfectadas en huéspedes bacterianos, por ejemplo, *E. coli*, o en células huésped eucariotas (por ejemplo, levaduras; células de mamífero, tales como células CHO; y similares). En estas realizaciones, el IFN- $\omega$  es "IFN- $\omega$  recombinante". Cuando la célula huésped es una célula huésped bacteriana, el IFN- $\omega$  se modifica para comprender una metionina N terminal.

Se debe entender que el IFN- $\omega$  como se describe en el presente documento puede comprender uno o más residuos de aminoácidos modificados, por ejemplo, glucosilaciones, modificaciones químicas, y similares.

### **Agonistas del receptor de interferón tipo III**

En cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente, el agonista del receptor de interferón es en algunas realizaciones un agonista de un receptor de interferón tipo III (por ejemplo, "un agonista de interferón tipo III"). Los agonistas de interferón tipo III incluyen un polipéptido de IL-28b; y un polipéptido de IL-28a; y un polipéptido de IL-29; anticuerpo específico para un receptor de interferón tipo III; y cualquier otro agonista del receptor de interferón tipo III, incluyendo agonistas no polipeptídicos.

La IL-28A, IL-28B, y IL-29 (denominadas conjuntamente en el presente documento "interferones tipo III" o "IFN tipo III") se describen en Sheppard et al. (2003) Nature 4:63-68. Cada polipéptido se une a un receptor heterodimérico que consiste en una cadena  $\beta$  de receptor y un receptor  $\alpha$  de IL-28. Sheppard et al. (2003), supra. Las secuencias de aminoácidos de IL-28A, IL-28B y IL-29 se encuentran bajo los números de acceso de GenBank NP\_742150, NP\_742151 y NP\_742152, respectivamente. La secuencia de aminoácidos de un polipéptido de IFN tipo III se puede alterar de diversas formas conocidas en la técnica para generar cambios dirigidos en la secuencia. Un polipéptido variable normalmente será sustancialmente similar a las secuencias proporcionadas en el presente documento, es decir, se diferenciará al menos en un aminoácido, y puede diferenciarse en al menos dos pero no más de aproximadamente diez aminoácidos. Los cambios de secuencia pueden ser sustituciones, inserciones o deleciones. Se pueden usar mutaciones de detección que introducen sistemáticamente alanina u otros residuos, para determinar aminoácidos clave. Las sustituciones de aminoácidos específicas de interés incluyen cambios conservadores y no conservadores. Las sustituciones de aminoácidos conservadoras normalmente incluyen sustituciones dentro de los siguientes grupos: (glicina, alanina); (valina, isoleucina, leucina); (ácido aspártico, ácido glutámico); (asparagina, glutamina); (serina, treonina); (lisina, arginina); o (fenilalanina, tirosina).

Las modificaciones de interés que pueden alterar o no la secuencia de aminoácidos primaria incluyen la derivatización química de polipéptidos, por ejemplo, acetilación o carboxilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que introducen o retiran un sitio de glucosilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que hacen que la proteína sea susceptible de PEGilación; y similares. También se incluyen modificaciones de glucosilación, por ejemplo, las realizadas modificando los patrones de glucosilación de un polipéptido durante su síntesis y procesar o en etapas de procesado adicionales; por ejemplo, exponiendo el polipéptido a enzimas que afecten a la glucosilación, tales como enzimas de glucosilación o desglucosilación de mamífero. También se engloban secuencias que tienen residuos de aminoácidos fosforilados, por ejemplo, fosfotirosina, fosfoserina, o fosfotreonina. Se incluyen en la divulgación objeto polipéptidos que se han modificado usando técnicas químicas ordinarias para mejorar su resistencia a la degradación proteolítica, para optimizar las propiedades de solubilidad o para hacerlos más adecuados como agente terapéutico. Por ejemplo, el esqueleto del péptido se puede ciclar para potenciar su estabilidad (véase, Friedler et al. (2000) J. Biol. Chem. 275:23783-23789). Se pueden usar análogos que incluyan residuos distintos de los L-aminoácidos naturales, por ejemplo D-aminoácidos o aminoácidos sintéticos no naturales. La proteína se puede pegilar para potenciar su estabilidad. Los polipéptidos se pueden fusionar con albúmina.

Los polipéptidos se pueden preparar por síntesis *in vitro*, usando procedimientos convencionales conocidos en la técnica, por procedimientos recombinantes, o se pueden aislar a partir de células inducidas o que producen de forma natural la proteína. La secuencia particular y la manera de preparación se determinará por conveniencia, economía, pureza requerida, y similares. Si se desea, se pueden introducir varios grupos en el polipéptido durante la síntesis o durante la expresión, lo que permite el enlace con otras moléculas o con una superficie. Por tanto, se pueden usar cisteínas para preparar tioéteres, histidinas para enlazarse a un complejo de ión metálico, grupos carboxilo para formar amidas o ésteres, grupos amino para formar amidas y similares.

### **Agonistas del receptor de interferón tipo II**

Los agonistas del receptor de interferón tipo II incluyen cualquier ligando natural o no natural de un receptor de interferón tipo II que se une y provoca transducción de señal por medio del receptor. Los agonistas del receptor de interferón tipo II incluyen interferones, incluyendo interferones naturales, interferones modificados, interferones sintéticos, interferones pegilados, proteínas de fusión que comprende un interferón y una proteína heteróloga, interferones reordenados; anticuerpo específico para un receptor de interferón; agonistas químicos no peptídicos; y similares.

Un ejemplo específico de un agonista del receptor de interferón tipo II es IFN- $\gamma$  y variantes del mismo. Aunque la presente invención ejemplifica el uso de un polipéptido de IFN- $\gamma$ , será fácilmente evidente que se puede usar cualquier agonista de receptor de interferón tipo II en un procedimiento objeto.

## 10 Interferón gamma

Se puede acceder a las secuencias de ácido nucleico que codifican polipéptidos de IFN- $\gamma$  a partir de bases de datos públicas, por ejemplo, Gen-bank, publicaciones de revistas, etc. Aunque son de interés varios polipéptidos de IFN- $\gamma$  de mamífero, para el tratamiento de enfermedad humana, se usará en general la proteína humana. La secuencia codificante de IFN- $\gamma$  humana se puede encontrar en Genbank, números de acceso X13274; V00543; y NM\_000619. La correspondiente secuencia genómica se puede encontrar en Genbank, números de acceso J00219; M37265; y V00536. Véase por ejemplo. Gray et al. (1982) Nature 295:501 (Genbank X13274); y Rinderknecht et al. (1984) J.B.C. 259:6790.

El IFN- $\gamma$ 1b (Actimmune®; interferón humano) es un polipéptido monocatenario de 140 aminoácidos. Se prepara de forma recombinante en *E. coli* y no está glucosilado. Rinderknecht et al. (1984) J. Biol. Chem. 259:6790-6797. El IFN- $\gamma$  recombinante, como se analizó en la patente de los Estados Unidos nº 6.497.871 también es adecuado para su uso en el presente documento.

El IFN- $\gamma$  que se va a usar en los procedimientos de la presente divulgación puede ser cualquiera de los IFN- $\gamma$  naturales, IFN- $\gamma$  recombinantes y los derivados de los mismos siempre que tengan una actividad de IFN- $\gamma$ , en particular, actividad de IFN- $\gamma$  humano. El IFN- $\gamma$  humano presenta las propiedades antivíricas y anti-proliferativas características de los interferones, así como un número de otras actividades inmunomoduladoras, como se conoce en la técnica. Aunque el IFN- $\gamma$  se basa en las secuencias como se proporciona anteriormente, la producción de la proteína y el procesado proteolítico pueden dar como resultado variantes de procesado de los mismos. La secuencia sin procesar proporcionada por Gray et al., *supra*, consiste en 166 aminoácidos (aa). Aunque se creía que el IFN- $\gamma$  recombinante producido en *E. coli* era originalmente de 146 aminoácidos, (comenzando en el aminoácido 20), posteriormente se encontró que el IFN- $\gamma$  humano nativo se escinde después del residuo 23, para producir una proteína de 143 aa, o de 144 aa si está presente la metionina terminal, como se requiere para la expresión en bacterias. Durante la purificación, la proteína madura se puede escindir adicionalmente en el extremo C terminal después del residuo 162 (en referencia a la secuencia de Gray *et al.*), dando como resultado una proteína de 139 aminoácidos, o 140 aminoácidos si está presente la metionina inicial, por ejemplo, si se requiere para expresión bacteriana. La metionina N terminal es un artefacto codificado por la señal de "inicio" traduccional del ARNm AUG, en el caso particular de expresión de *E. coli* no se procesa a distancia. En otros sistemas microbianos o sistemas de expresión eucariota, se puede retirar la metionina.

Para su uso en los procedimientos objeto, se puede usar cualquiera de los péptidos de IFN- $\gamma$  nativos, modificaciones y variantes de los mismos, o una combinación de uno o más péptidos. Los péptidos de IFN- $\gamma$  de interés incluyen fragmentos, y se pueden trincar de forma diversas en el extremo carboxilo con respecto a la secuencia completa. Dichos fragmentos continúan presentando las propiedades características del interferón gamma humano, mientras estén presentes los aminoácidos de 24 a aproximadamente 149 (numeración desde los residuos del polipéptido sin procesar). Las secuencias extrañas se pueden sustituir con la secuencia de aminoácidos después del aminoácido 155 sin pérdida de actividad. Véase, por ejemplo, la patente de los Estados Unidos nº 5.690.925. Los restos de IFN- $\gamma$  nativos incluyen moléculas que se extienden de forma diversa desde los residuos aminoácidos 24-150; 24-151, 24-152; 24-153, 24-155; y 24-157. En los presentes procedimientos se puede usar cualquiera de estas variantes, y otras variantes conocidas en la técnica y que tienen una actividad de IFN- $\gamma$ .

La secuencia del polipéptido de IFN- $\gamma$  se puede alterar de diversas formas conocidas en la técnica para generar cambios dirigidos en la secuencia. Un polipéptido variable normalmente será sustancialmente similar a las secuencias proporcionadas en el presente documento, es decir, se diferenciará al menos en un aminoácido, y puede diferenciarse en al menos dos pero no más de aproximadamente diez aminoácidos. Los cambios de secuencia pueden ser sustituciones, inserciones o deleciones. Se pueden usar mutaciones de detección que introducen sistemáticamente alanina u otros residuos, para determinar aminoácidos clave. Las sustituciones de aminoácidos específicas de interés incluyen cambios conservadores y no conservadores. Las sustituciones de aminoácidos conservadoras normalmente incluyen sustituciones dentro de los siguientes grupos: (glicina, alanina); (valina, isoleucina, leucina); (ácido aspártico, ácido glutámico); (asparagina, glutamina); (serina, treonina); (lisina, arginina); o (fenilalanina, tirosina).

Las modificaciones de interés que pueden alterar o no la secuencia de aminoácidos primaria incluyen la

derivatización química de polipéptidos, por ejemplo, acetilación o carboxilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que introducen o retiran un sitio de glucosilación; cambios en la secuencia de aminoácidos que hacen que la proteína sea susceptible de PEGilación; y similares. En una realización, la invención contempla el uso de variantes de IFN- $\gamma$  con uno o más sitios de glucosilación y/o pegilación no naturales que están diseñados para proporcionar polipéptidos glucosil- y/o PEG-derivatizados con una eliminación en suero reducida, tal como las variantes de polipéptidos de IFN- $\gamma$  descritas en la publicación de patente internacional N.º WO 01/36001. También se incluyen modificaciones de glucosilación, por ejemplo, las realizadas modificando los patrones de glucosilación de un polipéptido durante su síntesis y procesado o en etapas de procesado adicionales; por ejemplo, exponiendo el polipéptido a enzimas que afectan a la glucosilación, tales como enzimas de glucosilación o desglucosilación de mamífero. También se engloban secuencias que tienen residuos de aminoácidos fosforilados, por ejemplo, fosfotirosina, fosfoserina, o fosfotreonina.

Se incluyen en la divulgación objeto polipéptidos que se han modificado usando técnicas químicas ordinarias para mejorar su resistencia a la degradación proteolítica, para optimizar las propiedades de solubilidad o para hacerlos más adecuados como agente terapéutico. Por ejemplo, el esqueleto del péptido se puede ciclar para potenciar su estabilidad (véase, Friedler et al. (2000) J. Biol. Chem. 275:23783-23789). Se pueden usar análogos que incluyan residuos distintos de los L-aminoácidos naturales, por ejemplo D-aminoácidos o aminoácidos sintéticos no naturales. La proteína se puede pegilar para potenciar su estabilidad.

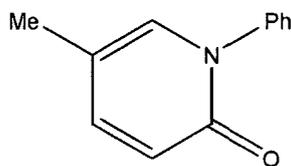
Los polipéptidos se pueden preparar por síntesis *in vitro*, usando procedimientos convencionales conocidos en la técnica, por procedimientos recombinantes, o se pueden aislar a partir de células inducidas o que producen de forma natural la proteína. La secuencia particular y la manera de preparación se determinará por conveniencia, economía, pureza requerida, y similares. Si se desea, se pueden introducir varios grupos en el polipéptido durante la síntesis o durante la expresión, lo que permite el enlace con otras moléculas o con una superficie. Por tanto, se pueden usar cisteínas para preparar tioéteres, histidinas para enlazarse a un complejo de ión metálico, grupos carboxilo para formar amidas o ésteres, grupos amino para formar amidas y similares.

Los polipéptidos también se pueden aislar y purificar de acuerdo con procedimientos convencionales de síntesis recombinante. Se puede preparar un lisado del huésped de expresión y se puede purificar el lisado usando HPLC, cromatografía de exclusión, electroforesis en gel, cromatografía de afinidad u otra técnica de purificación. En su mayoría, las composiciones que se usan comprenderán al menos un 20 % en peso de producto deseado, más normalmente al menos aproximadamente un 75 % en peso, preferentemente al menos aproximadamente un 95 % en peso, y con fines terapéuticos, normalmente al menos aproximadamente un 99,5 % en peso, con relación a contaminantes relacionados con el procedimiento de preparación del producto y su purificación. Normalmente, los porcentajes se basarán en la proteína total.

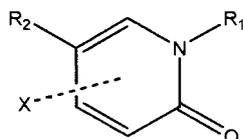
#### **Pirfenidona y análogos de la misma.**

La pirfenidona (5-metil-1-fenil-2-(1H)-piridona) y análogos se divulgan para el tratamiento de afecciones fibróticas. Una "afección fibrótica" es una que es susceptible al tratamiento por administración de un compuesto que tiene actividad anti-fibrótica.

Pirfenidona

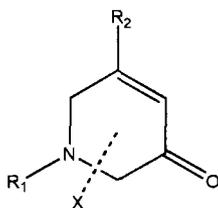


## Análogos de pirfenidona

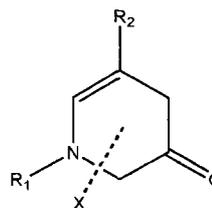


I.

II.A



II.B

Descripciones para los sustituyentes R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, X

5 **R<sub>1</sub>**: carbocíclico (saturado e insaturado), heterocíclico (saturado e insaturado), alquilos (saturado e insaturado). Los ejemplos incluyen fenilo, bencilo, pirimidilo, naftilo, indolilo, pirrolilo, furilo, tienilo, imidazolilo, ciclohexilo, piperidilo, pirrolidilo, morfolinilo, ciclohexenilo, butadienilo y similares.

10 **R<sub>1</sub>** puede incluir adicionalmente sustituciones en los restos carbocíclicos o heterocíclicos con sustituyentes tales como halógeno, nitro, amino, hidroxilo, alcoxi, carboxilo, ciano, tio, alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo y combinaciones de los mismos, por ejemplo, 4-nitrofenilo, 3-clorofenilo, 2,5-dinitrofenilo, 4-metoxifenilo, 5-metilpirrolilo, 2, 5-diclorociclohexilo, guanidinil-ciclohexenilo y similares.

**R<sub>2</sub>**: alquilo, carbocíclico, heterocíclico. Los ejemplos incluyen: metilo, etilo, propilo, isopropilo, fenilo, 4-nitrofenilo, tienilo y similares.

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

Los sustituyentes pueden estar opcionalmente sustituidos con 1-3 sustituyentes del grupo que consiste en grupo alquilo, arilo, nitro, alcoxi, hidroxilo y halo. Los ejemplos incluyen: metilo, 2,3-dimetilo, fenilo, p-tolilo, 4-clorofenilo, 4-nitrofenilo, 2,5-diclorofenilo, furilo, tienilo y similares.

Ejemplos específicos incluyen los compuestos enumerados en la tabla 1:

20 Tabla 1

IA	IIB
5-Metil-1-(2'-piridil)-2-(1H) piridona,	6-Metil-1-fenil-3-(1H) piridona,
6-Metil-1-fenil-2-(1H) piridona,	5-Metil-1-p-tolil-3-(1H) piridona,
5-Metil-3-fenil-1-(2'-tienil)-2-(1H) piridona,	5-Metil-1-(2'-naftil)-3-(1H) piridona,
5-Metil-1-(2'-naftil)-2-(1H) piridona,	5-Metil-1-fenil-3-(1H) piridona,
5-Metil-1-p-tolil-2-(1H) piridona,	5-Metil-1-(5'-quinolil)-3-(1H) piridona,
5-Metil-1-(1'naftil)-2-(1H) piridona,	5-Etil-1-fenil-3-(1H) piridona,
5-Etil-1-fenil-2-(1H) piridona,	5-Metil-1-(4'-metoxifenil)-3-(1H) piridona,
5-Metil-1-(5'-quinolil)-2-(1H) piridona,	4-Metil-1-fenil-3-(1H) piridona,
5-Metil-1-(4'-quinolil)-2-(1H) piridona,	5-Metil-1-(3'-piridil)-3-(1H) piridona,
5-Metil-1-(4'-piridil)-2-(1H) piridona,	5-Metil-1-(2'-tienil)-3-(1H) piridona,
3-Metil-1-fenil-2-(1H) piridona,	5-Metil-1-(2'-piridil)-3-(1H) piridona,

(continuación)

IA	IIB
5-Metil-1-(4'-metoxifenil)-2-(1H) piridona,	5-Metil-1-(2'-quinolil)-3-(1H) piridona,
1-Fenil-2-(1H) piridona,	1-Fenil-3-(1H) piridina,
1,3-Difenil-2-(1H) piridona,	1-(2'-Furil)-5-metil-3-(1H) piridona,
1,3-Difenil-5-metil-2-(1H) piridona,	1-(4'-Clorofenil)-5-metil-3-(1H) piridina.
5-Metil-1-(3'-trifluorometilfenil)-2-(1H)-piridona,	
3-Etil-1-fenil-2-(1H) piridona,	
5-Metil-1-(3'-piridil)-2-(1H) piridona,	
5-metil-1-(3-nitrofenil)-2-(1H) piridona,	
3-(4'-Clorofenil)-5-Metil-1-fenil-2-(1H) piridona,	
5-Metil-1-(2'-Tienil)-2-(1H) piridona,	
5-Metil-1-(2'-tiazolil)-2-(1H) piridona,	
3,6-Dimetil-1-fenil-2-(1H) piridona,	
1-(4'Clorofenil)-5-Metil-2-(1H) piridona,	
1-(2'-Imidazolil)-5-Metil-2-(1H) piridona,	
1-(4'-Nitrofenil)-2-(1H) piridona,	
1-(2'-Furil)-5-Metil-2-(1H) piridona,	
1-Fenil-3-(4'-clorofenil)-2-(1H) piridina.	

Las patentes de los Estados Unidos números 3.974.281; 3.839.346; 4.042.699; 4.052.509; 5.310.562; 5.518.729; 5.716.632; y 6.090.822 describen procedimientos para la síntesis y formulación de pifrenidona y análogos de pifrenidona específicos en composiciones farmacéuticas adecuadas para su uso en los procedimientos de la presente divulgación.

5

#### Timosina- $\alpha$

La timosina- $\alpha$  (Zadaxin™; disponible de SciClone Pharmaceuticals, Inc., San Mateo, CA) es una forma sintética de timosina alfa 1, una hormona que se encuentra de forma natural en la circulación y producida por la glándula del timo. La timosina- $\alpha$  incrementa la actividad de los linfocitos T y linfocitos NK. El Zadaxin™ formulado para la administración subcutánea es una preparación liofilizada estéril purificada de timosina alfa 1 identificada químicamente idéntica a la timosina alfa 1 humana. La timosina alfa 1 es un polipéptido acetilado con la siguiente secuencia: Ac - Ser - Asp - Ala - Ala - Val - Asp - Thr - Ser - Ser - Glu - Ile - Thr - Thr - Lys - Asp - Leu - Lys - Glu - Lys - Lys - Glu - Val - Val - Glu - Glu - Ala - Glu - Asn - OH, y que tiene un peso molecular de 3.108 daltons. La preparación liofilizada contiene 1,6 mg de timosina- $\alpha$  sintética, 50 mg de manitol, y tampón fosfato de sodio para ajustar el pH hasta 6,8.

10

15

#### Ribavirina

La ribavirina, 1- $\beta$ -D-ribofuranosil-1H-1,2,4-triazol-3-carboxamida, es un análogo de nucleósido disponible de ICN Pharmaceuticals, Inc., Costa Mesa, Calif., y se describe en el índice Merck Index, compuesto n.º 8199, onceava edición. Su fabricación y formulación se describe en la patente de los Estados Unidos n.º 4.211.771. La invención también contempla el uso de derivados de ribavirina (véase, por ejemplo, la patente de los Estados Unidos n.º 6.277.830). La ribavirina se puede administrar por vía oral en forma de cápsula o comprimido. Por supuesto, se contemplan otros tipos de administración de ribavirina, a medida que estén disponibles, tales como por forma de dosificación de pulverización nasal, de vía transdérmica, de supositorio, de liberación sostenida, etc. Cualquier forma de administración funcionará siempre que las dosificaciones apropiadas se suministren sin destruir el ingrediente activo.

20

25

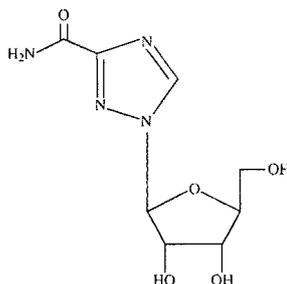
En general, la ribavirina se administra en una cantidad que varía de aproximadamente 400 mg a aproximadamente 1200 mg, de aproximadamente 600 mg a aproximadamente 1000 mg, o de aproximadamente 700 a aproximadamente 900 mg por día. En algunas realizaciones, la ribavirina se administra a lo largo de todo el ciclo del tratamiento con inhibidor de NS3.

30

#### Levovirina

La levovirina es el enantiómero L de ribavirina, y presenta la propiedad de potenciar una respuesta inmunitaria Th1 sobre una respuesta inmunitaria Th2. La levovirina se fabrica por ICN Pharmaceuticals.

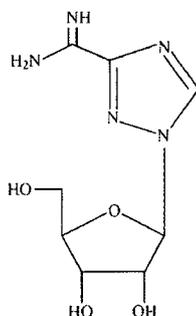
La levovirina tiene la siguiente estructura:



### Viramidina

La viramidina es un derivado de 3-carboxamida de ribavirina, y actúa como un profármaco de ribavirina. Se convierte eficazmente en ribavirina por adenosina desaminasas.

- 5 La viramidina tiene la siguiente estructura:



### Análogos de nucleósidos

- Los análogos de nucleósido que son adecuados para su uso en una terapia de combinación adecuada incluyen, pero no se limitan a, ribavirina, levovirina, viramidina, isatoribina, un L-ribofuranosil nucleósido como se divulga en la patente de los Estados Unidos nº 5.559.101 y se engloba por la fórmula I de la patente de los Estados Unidos nº 5.559.101 (por ejemplo, 1-β-L-ribofuranosiluracilo, 1-β-L-ribofuranosil-5-fluorouracilo, 1-β-L-ribofuranosilcitosina, 9-β-L-ribofuranosiladenina, 9-β-L-ribofuranosilhipoxantina, 9-β-L-ribofuranosilguanina, 9-β-L-ribofuranosil-6-tioguanina, 2-amino-α-L-ribofuranil[1',2':4,5]oxazolina, O<sup>2</sup>,O<sup>2</sup>-anhidro-1-α-L-ribofuranosiluracilo, 1-α-L-ribofuranosiluracilo, 1-(2,3,5-tri-O-benzoil-α-ribofuranosil)-4-tiouracilo, 1-α-L-ribofuranosilcitosina, 1-α-L-ribofuranosil-4-tiouracilo, 1-α-L-ribofuranosil-5-fluorouracilo, 2-amino-β-L-arabinofurano[1',2':4,5]oxazolina, O<sup>2</sup>,O<sup>2</sup>-anhidro-β-L-arabinofuranosiluracilo, 2'-desoxi-β-L-uridina, 3',5'-Di-O-benzoil-2'-desoxi-4-tio β-L-uridina, 2'-desoxi-β-L-citidina, 2'-desoxi-β-L-4-tiouridina, 2'-desoxi-β-L-timidina, 2'-desoxi-β-L-5-fluorouridina, 2',3'-didesoxi-β-L-uridina, 2'-desoxi-β-L-5-fluorouridina, y 2'-desoxi-β-L-inosina); un compuesto como se divulga en la patente de los Estados Unidos nº 6.423.695 y que se engloba por la fórmula I de la patente de los Estados Unidos nº 6.423.695; un compuesto como se divulga en la publicación de patente de los Estados Unidos nº 2002/0058635, y que se engloba por la fórmula 1 de la publicación de patente de los Estados Unidos nº 2002/0058635; un análogo de nucleósido como se divulga en el documento WO 01/90121 A2 (Idenix); un análogo de nucleósido como se divulga en el documento WO 02/069903 A2 (Biocryst Pharmaceuticals Inc.); un análogo de nucleósido como se divulga en el documento WO 02/057287 A2 o en el documento WO 02/057425 A2 (ambos de Merck/Isis); y similares.

### 25 Antagonistas de TNF

- En algunas realizaciones, un procedimiento objeto comprende administrar una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3 y una cantidad eficaz de un antagonista de factor-α de necrosis tumoral (TNF-α). Los antagonistas de TNF-α adecuados para su uso en el presente documento incluyen agentes que disminuyen el nivel de síntesis de TNF-α, agentes que bloquean o inhiben la unión de TNF-α a un receptor de TNF-α (TNFR), y agentes que bloquean o inhiben la transducción de señal mediada por TNFR. A menos que es establezca expresamente de otro modo, cada referencia a un "antagonista de TNF-α" o "antagonista de TNF" en el presente documento se entenderá que quiere decir un antagonista de TNF-α distinto de pifrenidona o un análogo de pifrenidona.

Como se usa en el presente documento, los términos "polipéptido de receptor de TNF" y "polipéptido de TNFR" se refieren a polipéptidos derivados de TNFR (de cualquier especie) que pueden unirse a TNF. Se han descrito dos

TNFR de superficie celular distintos: TNFR tipo II (o TNFR p75 o TNFRII) y TNFR tipo I (o TNFR p55 o TNFRI). El TNFR p75 humano de longitud completa madura es una glucoproteína que tiene un peso molecular de aproximadamente 75-80 kilodaltons (kD). El TNFR p55 humano de longitud completa madura es una glucoproteína que tiene un peso molecular de aproximadamente 55-60 kD. Los polipéptidos de TNFR ejemplares se derivan del TNFR tipo I y/o TNFR tipo II. El TNFR soluble incluye polipéptido de TNFR p75; fusiones de TNFR p75 con compañeros de fusión heterólogos, por ejemplo, la porción Fc de una inmunoglobulina.

El polipéptido de TNFR puede ser un TNFR intacto o un fragmento adecuado de TNFR. La patente de los Estados Unidos nº 5.605.690 proporciona polipéptidos de TNFR, incluyendo polipéptidos de TNFR solubles, apropiados para su uso en la presente invención. En muchas realizaciones, el polipéptido de TNFR comprende un dominio extracelular de TNFR. En algunas realizaciones, el polipéptido de TNFR es un polipéptido de fusión que comprende un dominio extracelular de TNFR enlazado a un dominio constante de una molécula de inmunoglobulina. En otras realizaciones, el polipéptido de TNFR es un polipéptido de fusión que comprende un dominio extracelular de TNFR p75 enlazado a un dominio constante de una molécula de IgG1. En algunas realizaciones, cuando se contempla la administración a seres humanos, una Ig usada para proteínas de fusión es humana, por ejemplo, IgG1 humana.

En la presente invención se pueden usar formas monovalentes y multivalentes de polipéptidos de TNFR. Las formas multivalentes de los polipéptidos de TNFR poseen más de un sitio de unión a TNF. En algunas realizaciones, el TNFR es una forma bivalente, o dimerica de TNFR. Por ejemplo, como se describe en la patente de los Estados Unidos nº 5.605.690 y en Mohler et al., 1993, *J. Immunol.*, 151:1548-1561, un polipéptido de anticuerpo quimérico con dominios extracelulares de TNFR sustituidos con los dominios variables de cualquiera o ambas de las cadenas ligera o pesada de la inmunoglobulina proporcionaría un polipéptido de TNFR para la presente invención. En general, cuando dicho polipéptido de TNFR:anticuerpo es producido por las células, forma una molécula bivalente a través de enlaces disulfuro entre los dominios de inmunoglobulina. Dicho polipéptido de TNFR:anticuerpo quimérico se denomina TNFR:Fc.

En una realización, un procedimiento objeto implica la administración de una cantidad eficaz del TNFR soluble ENBREL®. ENBREL® es una proteína de fusión dimerica que consiste en la porción de unión a ligando extracelular del TNFR humano de 75 kilodaltons (p75) enlazado a la porción Fc de IgG1 humana. El componente Fc de ENBREL® contiene el dominio CH2, el dominio CH3 y la región bisagra, pero no el dominio CH1 de IgG1. ENBREL® se produce en un sistema de expresión de células de mamífero de ovario de hámster chino (CHO). Consiste en 934 aminoácidos y tiene un peso molecular aparente de aproximadamente 150 kilodaltons. Smith et al. (1990) *Science* 248:1019-1023; Mohler et al. (1993) *J. Immunol.* 151: 1548-1561; patente de los Estados Unidos nº 5.395.760; y patente de los Estados Unidos nº 5.605.690.

También son adecuados para su uso los anticuerpos monoclonales que se unen a TNF- $\alpha$ . Los anticuerpos monoclonales incluyen anticuerpos monoclonales de ratón "humanizados"; anticuerpos quiméricos; anticuerpos monoclonales que tienen una secuencia de aminoácidos humana de al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, o el 100 %; y similares. Véase, por ejemplo, los documentos WO 90/10077; WO 90/04036; y WO 92/02190. Los anticuerpos monoclonales adecuados incluyen fragmentos de anticuerpos, tales como Fv, F(ab')<sub>2</sub> y Fab; anticuerpos sintéticos; anticuerpos artificiales; anticuerpos de presentación de fagos; y similares.

Los ejemplos de anticuerpos monoclonales adecuados incluyen Infliximab (REMICADE®, Centocor); y Adalimumab (HUMIRA™, Abbott). REMICADE® es un anticuerpo anti-TNF- $\alpha$  monoclonal quimérico que incluye una secuencia de aminoácidos de ratón de aproximadamente un 25 % y una secuencia de aminoácidos humana de aproximadamente un 75 %. REMICADE® comprende una región variable de un anticuerpo anti-TNF- $\alpha$  monoclonal de ratón fusionado a la región constante de una IgG1 humana. Elliott et al. (1993) *Arthritis Rheum.* 36: 1681-1690; Elliott et al. (1994) *Lancet* 344:1105-1110; Baert et al. (1999) *Gastroenterology* 116:22-28. HUMIRA™ es un anticuerpo monoclonal de IgG1 de longitud completa, humano, que se identificó usando tecnología de presentación de fagos. Piascik (2003) *J. Am. Pharm. Assoc.* 43:327-328.

También se incluyen en el término "antagonista de TNF", y por lo tanto son adecuados para su uso en un procedimiento objeto, inhibidores de proteína cinasa activada por estrés (SAPK). Los inhibidores de SAPK son conocidos en la técnica, e incluyen, pero no se limitan a, 2-alkilimidazoles divulgados en la patente de los Estados Unidos nº 6.548.520; compuestos de imidazol 1,4,5-sustituidos divulgados en la patente de los Estados Unidos nº 6.489.325; compuestos de imidazol 1,4,5-sustituidos divulgados en la patente de los Estados Unidos nº 6.569.871; compuestos de heteroaril aminofenil cetona divulgados en la solicitud de patente publicada de los EE. UU. N.º 2003/0073832; compuestos de piridilimidazol divulgados en la patente de los Estados Unidos nº 6.288.089; y heteroaril aminobenzofenonas divulgadas en la patente de los Estados Unidos nº 6.432.962. También son de interés compuestos divulgados en la publicación solicitud de patente de los Estados Unidos nº 2003/0149041; y en la patente de los Estados Unidos nº 6.214.854. Una proteína cinasa activada por estrés es un miembro de la familia de proteínas cinasas activadas por estrés que se activan en respuesta a estímulos de estrés. Las SAPK incluyen, pero no se limitan a, p38 (Lee et al. (1994) *Nature* 372:739) y cinasa N terminal c-jun (JNK).

Los procedimientos para evaluar la actividad antagonista de TNF son conocidos en la técnica y se ejemplifican en el presente documento. Por ejemplo, se puede evaluar la actividad del antagonista de TNF con un ensayo de unión

competitiva basado en células. En dicho ensayo, el TNF radiomarcado se mezcla con el antagonista de TNF diluido en serie y las células que expresan el TNFR unido a la membrana celular. Se centrifugan las porciones de la suspensión para separar TNF libre y unido y se determina la cantidad de radioactividad en las fracciones libres y unidas. Se evalúa la actividad del antagonista de TNF por inhibición de la unión a TNF a las células en presencia del antagonista de TNF.

Como otro ejemplo, se pueden analizar antagonistas de TNF para determinar la capacidad para neutralizar la actividad de TNF in vitro en un bioensayo usando células susceptibles de actividad citotóxica de TNF como células diana. En dicho ensayo, se tratan células diana, cultivadas con TNF, con cantidades variables de antagonista de TNF y posteriormente se examinan para determinar la citólisis. Se evalúa la actividad del antagonista de TNF por una disminución en la citólisis de células diana inducida por TNF en presencia del antagonista de TNF.

#### Inhibidores de NS5B

En algunas realizaciones, la invención proporciona un procedimiento que comprende administrar una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3 objeto y una cantidad eficaz de un inhibidor de proteína 5 no estructural de VHC -5 (NS5; ARN polimerasa dependiente de ARN) a un paciente con VHC que lo necesita. Los inhibidores de NS5B adecuados incluyen, pero no se limitan a, un compuesto como se divulga en la patente de los Estados Unidos nº 6.479.508 (Boehringer-Ingelheim); un compuesto como se divulga en cualquiera de las solicitudes de patente internacional N.º PCT/CA02/01127, PCT/CA02/01128, y PCT/CA02/01129, todas presentadas el 18 de julio de 2002 por Boehringer Ingelheim; un compuesto como se divulga en la patente de los Estados Unidos nº 6.440.985 (ViroPharma); un compuesto como se divulga en el documento WO 01/47883, por ejemplo, JTK-003 (Japan Tobacco); un análogo dinucleótido como se divulga en Zhong et al. (2003) Antimicrob. Agents Chemother. 47:2674-2681; un compuesto de benzotiadiazina como se divulga en Dhanak et al. (2002) J. Biol. Chem. 277(41): 38322-7; un inhibidor de NS5B como se divulga en el documento WO 02/100846 A1 o el documento WO 02/100851 A2 (ambos de Shire); un inhibidor de NS5B como se divulga en el documento WO 01/85172 A1 o el documento WO 02/098424 A1 (ambos de Glaxo SmithKline); un inhibidor de NS5B como se divulga en el documento WO 00/06529 o el documento WO 02/06246 A1 (ambos de Merck); un inhibidor de NS5B como se divulga en el documento WO 03/000254 (Japan Tobacco); un inhibidor de NS5B como se divulga en el documento EP 1 256,628 A2 (Agouron); JTK-002 (Japan Tobacco); JTK-109 (Japan Tobacco); y similares.

Son de particular interés en muchas realizaciones los inhibidores de NS5 que son inhibidores de NS5 específicos, por ejemplo, inhibidores de NS5 que inhiben la ARN polimerasa dependiente de ARN de NS5 y que carecen de efectos inhibidores significativos hacia otras ARN polimerasas dependientes de ARN y hacia ARN polimerasas dependientes de ADN.

#### Agentes antivirales adicionales

Los agentes terapéuticos antivirales adicionales que se pueden administrar en combinación con un compuesto inhibidor de NS3 objeto incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de inosina monofosfato deshidrogenasa (IMPDH); ribozimas que son complementarias con secuencias de nucleótidos víricos; inhibidores de ARN antisentido; y similares.

#### Inhibidores de IMPDH

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

#### Ribozima y antisentido

Ribozima y agentes antivirales antisentido que son adecuados para uso en una terapia de combinación objeto incluyen, pero no se limitan a, ISIS 14803 (ISIS Pharmaceutical s/Elan Corporation; véase, por ejemplo, Witherell (2001) Curr Opin Investig Drugs. 2(11):1523-9); Heptazyme™; y similares.

En algunas realizaciones, se administra un agente antiviral adicional durante todo el ciclo del tratamiento con el compuesto inhibidor de NS3. En otras realizaciones, se administra un agente antiviral adicional durante un período de tiempo que se solapa con el del tratamiento con compuesto inhibidor de NS3, por ejemplo, el tratamiento con agente antiviral adicional puede comenzar antes de que comience el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3 y finalizar antes de que finalice el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3; el tratamiento con agente antiviral adicional puede comenzar después de que comience el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3 y finalizar después de que finalice el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3; el tratamiento con agente antiviral adicional puede comenzar después de que comience el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3 y finalizar antes de que finalice el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3; o el tratamiento con agente antiviral adicional puede comenzar antes de que comience el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3 y finalizar después de que finalice el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3.

**DOSIFICACIONES, FORMULACIONES Y VÍAS DE ADMINISTRACIÓN**

En los procedimientos objeto, el(los) agente(s) activo(s) (por ejemplo, un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agentes antivirales adicionales) puede(n) administrarse al huésped usando cualquier medio conveniente que pueda dar como resultado el efecto terapéutico deseado. Así, el agente puede incorporarse en una diversidad de formulaciones para administración terapéutica. Más particularmente, los agentes de la presente invención pueden formularse en composiciones farmacéuticas mediante combinación con vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables apropiados, y pueden formularse para dar preparaciones en formas sólidas, semisólidas, líquidas o gaseosas, tales como comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, pomadas, soluciones, supositorios, inyecciones, inhalantes y aerosoles.

**10 Formulaciones**

El(los) agente(s) activo(s) descrito(s) anteriormente puede(n) formularse usando reactivos y procedimientos bien conocidos. Se proporcionan composiciones en formulación con un(unos) excipiente(s) farmacéuticamente aceptable(s). Se conoce en la técnica una amplia diversidad de excipientes farmacéuticamente aceptables y no es necesario describirlos con detalle en el presente documento. Se han descrito ampliamente excipientes farmacéuticamente aceptables en una diversidad de publicaciones, incluyendo por ejemplo, A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20ª edición, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H.C. Ansel et al., eds., 7ª ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; y Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A.H. Kibbe et al., eds., 3ª ed. Amer. Pharmaceutical Assoc.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como vehículos, adyuvantes, portadores o diluyentes, están fácilmente disponibles para el público. Además, sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables, tales como agentes de ajuste del pH y tampón, agentes de ajuste de la tonicidad, estabilizadores, agentes humectantes y similares, están fácilmente disponibles para el público.

En algunas realizaciones, se formula un agente en un tampón acuoso. Tampones acuosos adecuados incluyen, pero no se limitan a, tampones acetato, succinato, citrato y fosfato que varían en sus concentraciones de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 100 mM. En algunas realizaciones, el tampón acuoso incluye reactivos que proporcionan una solución isotónica. Tales reactivos incluyen, pero no se limitan a, cloruro de sodio; y azúcares por ejemplo, manitol, dextrosa, sacarosa y similares. En algunas realizaciones, el tampón acuoso incluye además un tensioactivo no iónico tal como polisorbato 20 u 80. Opcionalmente, las formulaciones pueden incluir además un conservante. Conservantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, alcohol bencílico, fenol, clorobutanol, cloruro de benzalconio y similares. En muchos casos, la formulación se almacena a aproximadamente 4 °C. Las formulaciones también pueden liofilizarse, en cuyo caso generalmente incluyen crioprotectores tales como sacarosa, trehalosa, lactosa, maltosa, manitol y similares. Las formulaciones liofilizadas pueden almacenarse durante largos de periodos de tiempo prolongados, incluso a temperaturas ambiente.

Como tal, la administración de los agentes puede conseguirse de diversas formas, incluyendo administración oral, bucal, rectal, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, subcutánea, intramuscular, transdérmica, endotraqueal, etc. En muchas realizaciones, la administración es por inyección intravenosa rápida, por ejemplo, inyección rápida subcutánea, inyección rápida intramuscular y similares.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse por vía oral, por vía parenteral o mediante un depósito implantado. Se prefiere administración oral o la administración por inyección.

La administración subcutánea de una composición farmacéutica de la invención se consigue usando procedimientos y dispositivos convencionales, por ejemplo, aguja y jeringuilla, un sistema de administración con puerto de inyección subcutáneo y similares. Véanse, por ejemplo, las patentes de los Estados Unidos números 3.547.119; 4.755.173; 4.531.937; 4.311.137; y 6.017.328. Una combinación de un puerto de inyección subcutáneo y un dispositivo para la administración de una composición farmacéutica de la invención a un paciente a través del puerto se denomina en el presente documento "sistema de administración de puerto de inyección subcutáneo". En muchas realizaciones, la administración subcutánea puede conseguirse mediante administración por inyección rápida mediante aguja y jeringuilla.

En formas de dosificación farmacéutica, los agentes pueden administrarse en forma de sus sales farmacéuticamente aceptables, o pueden usarse también solos o en asociación apropiada, así como en combinación, con otros compuestos farmacéuticamente activos. Los siguientes procedimientos y excipientes son meramente ejemplares y en modo alguno son limitantes.

Para preparaciones orales, los agentes pueden usarse solos o en combinación con aditivos apropiados para preparar comprimidos, polvos, gránulos o cápsulas, por ejemplo, con aditivos convencionales, tales como lactosa, manitol, almidón de maíz o almidón de patata; con aglutinantes, tales como celulosa cristalina, derivados de celulosa, goma arábiga, almidón de maíz o gelatinas; con disgregantes, tales como almidón de maíz, almidón de patata o carboximetilcelulosa de sodio; con lubricantes, tales como talco o estearato de magnesio; y, si se desea, con diluyentes, agentes de tamponamiento, agentes humectantes, conservantes y agentes aromatizantes.

Los agentes pueden formularse en preparaciones para inyección disolviendo, suspendiendo o emulsionando los mismos en un disolvente acuoso o no acuoso, tal como aceites vegetales u otros similares, glicéridos de ácidos alifáticos sintéticos, ésteres de ácidos alifáticos superiores o propilenglicol; y, si se desea, con aditivos convencionales tales como solubilizantes, agentes isotónicos, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, estabilizadores y conservantes.

Además, los agentes pueden prepararse en supositorios mediante mezclado con una diversidad de bases tales como bases emulsionantes o bases solubles en agua. Los compuestos de la presente invención pueden administrarse por vía rectal mediante un supositorio. El supositorio puede incluir vehículos tales como manteca de cacao, carboceras y polietilenglicoles, que se funden a la temperatura corporal, aunque están solidificados a temperatura ambiente.

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

La expresión "forma de dosificación unitaria", tal como se usa en el presente documento, se refiere a unidades físicamente diferenciadas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y animales, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuestos de la presente invención calculada en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado en asociación con un diluyente, portador o vehículo farmacéuticamente aceptable. Las especificaciones para las formas de dosificación unitaria novedosas de la presente invención dependen del compuesto particular empleado y el efecto que ha de conseguirse, y la farmacodinámica asociada con cada compuesto en el huésped.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como vehículos, adyuvantes, portadores o diluyentes, están fácilmente disponibles para el público. Además, sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables, tales como agentes de ajuste del pH y tampón, agentes de ajuste de la tonicidad, estabilizadores, agentes humectantes y similares, están fácilmente disponibles para el público.

#### Otros agentes antivirales

Tal como se ha descrito anteriormente, un procedimiento objeto se llevará a cabo en algunas realizaciones administrando un inhibidor de NS3 que es un compuesto de fórmula I, y opcionalmente uno o más agente(s) antiviral(es) adicional(es).

En algunas realizaciones, el procedimiento incluye además la administración de uno o más agonista(s) de receptor de interferón. Agonistas de receptor de interferón se han descrito antes.

En algunas realizaciones, el procedimiento incluye además la administración de pirfenidona o un análogo de pirfenidona. Pirfenidona y análogos de pirfenidona se han descrito antes.

Agentes antivirales adicionales que son adecuados para su uso en terapia de combinación incluyen, pero no se limitan a, nucleótidos y análogos de nucleósidos. Ejemplos no limitantes incluyen azidotimidina (AZT) (zidovudina), y análogos y derivados de la misma; 2',3'-didesoxiinosina (DDI) (didanosina), y análogos y derivados de la misma; 2',3'-didesoxicitidina (DDC) (didesoxicidina), y análogos y derivados de la misma; 2',3'-dideshidro-2',3'-didesoxitimidina (D4T) (estavudina), y análogos y derivados de la misma; combivir; abacavir; adefovir dipoxil; cidofovir; ribavirina; análogos de ribavirina; y similares.

En algunas realizaciones, el procedimiento incluye además la administración de ribavirina. Ribavirina, 1-β-D-ribofuranosil-1H-1,2,4-triazol-3-carboxamida, disponible de ICN Pharmaceuticals, Inc., Costa Mesa, Calif., se describe en el Merck Index, compuesto n.º 8199, decimoprimer edición. Su fabricación y formulación se describen en la patente de los Estados Unidos n.º 4.211.771. La invención también contempla el uso de derivados de ribavirina (véase, por ejemplo, la patente de los Estados Unidos n.º 6.277.830). La ribavirina puede administrarse por vía oral en forma de cápsula o comprimido, o en la misma o diferente forma de administración y en por misma o diferente vía que el agonista de receptor de interferón. Naturalmente, se contemplan otros tipos de administración de ambos fármacos, tal como estén disponibles, tales como mediante aerosol nasal, por vía transdérmica, por vía intravenosa, mediante supositorio, mediante forma farmacéutica de liberación sostenida, etc. Cualquier forma de administración funcionará siempre que las dosificaciones adecuadas se administren sin destruir el principio activo.

En algunas realizaciones, se administra un agente antiviral adicional durante todo el ciclo del tratamiento con compuesto inhibidor de NS3. En otras realizaciones, se administrar un agente antiviral adicional durante un periodo de tiempo que se solapa con el del tratamiento con compuesto inhibidor de NS3, por ejemplo, el tratamiento con agente antiviral adicional puede comenzar antes de que comience el tratamiento con el compuesto inhibidor de NS3 y terminar antes de que termine el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3; el tratamiento con agente antiviral adicional puede comenzar después de que comience el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3 y terminar

después de que termine el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3; el tratamiento con agente antiviral adicional puede comenzar después de que comience el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3 y terminar antes de que termine el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3; o el tratamiento con agente antiviral adicional puede comenzar antes de que comience el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3 y terminar después de que termine el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3.

## PROCEDIMIENTOS DE TRATAMIENTO

### Monoterapias

El compuesto inhibidor de NS3 de la invención puede usarse en terapia crónica o aguda para la enfermedad de VHC. En muchas realizaciones, el compuesto inhibidor de NS3 se administra durante un periodo de aproximadamente 1 día a aproximadamente 7 días, o de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 2 semanas, o de aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 3 semanas, o de aproximadamente 3 semanas a aproximadamente 4 semanas, o de aproximadamente 1 mes a aproximadamente 2 meses, o de aproximadamente 3 meses a aproximadamente 4 meses, o de aproximadamente 4 meses a aproximadamente 6 meses, o de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 8 meses, o de aproximadamente 8 meses a aproximadamente 12 meses, o al menos un año, y puede administrarse durante periodos de tiempo más largos. El compuesto inhibidor de NS3 puede administrarse cinco veces al día, cuatro veces al día, tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, cada dos días, dos veces a la semana, tres veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes o una vez al mes. En otras realizaciones, el compuesto inhibidor de NS3 se administra como una infusión continua.

En muchas realizaciones, un compuesto inhibidor de NS3 de las realizaciones se administra por vía oral.

En relación con los procedimientos de tratamiento descritos antes para el tratamiento de enfermedad de VHC en un paciente, puede administrarse un compuesto inhibidor de NS3 de la invención al paciente a una dosificación de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal del paciente al día, en 1 a 5 dosis divididas al día. En algunas realizaciones, el compuesto inhibidor de NS3 se administra a una dosificación de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 75 mg/kg de peso corporal del paciente al día, en 1 a 5 dosis divididas al día.

La cantidad de principio activo que puede combinarse con materiales vehículo para producir una forma de dosificación puede variar dependiendo del huésped que va a tratarse y del modo de administración particular. Una preparación farmacéutica típica puede contener de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 95% de principio activo (p/p). En otras realizaciones, la preparación farmacéutica puede contener de aproximadamente el 20% a aproximadamente el 80% de principio activo.

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

En muchas realizaciones, se administran múltiples dosis de compuesto inhibidor de NS3. Por ejemplo, un compuesto inhibidor de NS3 se administrar una vez al mes, dos veces al mes, tres veces al mes, cada dos semanas (qow), una vez a la semana (qw), dos veces a la semana (biw), tres veces a la semana (tiw), cuatro veces a la semana, cinco veces a la semana, seis veces a la semana, cada dos días (qod), una vez al día (qd), dos veces al día (qid), o tres veces al día (tid), durante un periodo de tiempo que varía de aproximadamente un día a aproximadamente una semana, de aproximadamente dos semanas a aproximadamente cuatro semanas, de aproximadamente un mes a aproximadamente dos meses, de aproximadamente dos meses a aproximadamente cuatro meses, de aproximadamente cuatro meses a aproximadamente seis meses, de aproximadamente seis meses a aproximadamente ocho meses, de aproximadamente ocho meses a aproximadamente 1 año, de aproximadamente 1 año a aproximadamente 2 años, o de aproximadamente 2 años a aproximadamente 4 años, o más.

### Terapias de combinación con ribavirina

En algunas realizaciones, los procedimientos proporcionan terapia de combinación que comprende administrar un compuesto inhibidor de NS3 tal como se ha descrito anteriormente y una cantidad eficaz de ribavirina. La ribavirina puede administrarse en dosificaciones de aproximadamente 400 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 1000 mg o aproximadamente 1200 mg al día.

En una realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para incluir la administración conjunta al paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz de ribavirina durante la duración del ciclo deseado del tratamiento con compuesto inhibidor de NS3.

En otra realización la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificado

para incluir la administración conjunta al paciente de aproximadamente 800 mg a aproximadamente 1200 mg de ribavirina por vía oral al día durante la duración del ciclo deseado del tratamiento con compuesto inhibidor de NS3.

- 5 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para incluir la administración conjunta al paciente de (a) 1000 mg de ribavirina por vía oral al día si el paciente tiene un peso corporal inferior a 75 kg o (b) 1200 mg de ribavirina por vía oral al día si el paciente tiene un peso corporal superior o igual a 75 kg, en los que la dosificación diaria de ribavirina se divide opcionalmente en 2 dosis durante la duración del ciclo deseado del tratamiento con compuesto inhibidor de NS3.

#### Terapias de combinación con levovirina

- 10 En algunas realizaciones, los procedimientos proporcionan terapia de combinación que comprende administrar un compuesto inhibidor de NS3 tal como se ha descrito anteriormente, y una cantidad eficaz de levovirina. La levovirina se administra generalmente en una cantidad que varía de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 60 mg, de aproximadamente 60 mg a aproximadamente 125 mg, de aproximadamente 125 mg a aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 300 mg, de aproximadamente 300 mg a aproximadamente 400 mg, de aproximadamente 400 mg a aproximadamente 1200 mg, de aproximadamente 600 mg a aproximadamente 1000 mg, o de aproximadamente 700 a aproximadamente 900 mg al día, o aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal al día. En algunas realizaciones, la levovirina se administra por vía oral en dosificaciones de aproximadamente 400, aproximadamente 800, aproximadamente 1000 o aproximadamente 1200 mg al día durante el ciclo deseado del tratamiento con compuesto inhibidor de NS3.

#### Terapias de combinación con viramidina

- 20 En algunas realizaciones, los procedimientos proporcionan terapia de combinación que comprende administrar un compuesto inhibidor de NS3 como se describió anteriormente y una cantidad eficaz de viramidina. La viramidina se administra generalmente en una cantidad que varía de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 60 mg, de aproximadamente 60 mg a aproximadamente 125 mg, de aproximadamente 125 mg a aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 300 mg, de aproximadamente 300 mg a aproximadamente 400 mg, de aproximadamente 400 mg a aproximadamente 1200 mg, de aproximadamente 600 mg a aproximadamente 1000 mg, o de aproximadamente 700 a aproximadamente 900 mg al día, o aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal al día. En algunas realizaciones, la viramidina se administra por vía oral en dosificaciones de aproximadamente 800, o aproximadamente 1600 mg al día durante el ciclo deseado del tratamiento con compuesto inhibidor de NS3.

#### Terapias de combinación con timosina- $\alpha$

- 30 En algunas realizaciones, los procedimientos proporcionan terapia de combinación que comprende administrar un compuesto inhibidor de NS3 tal como se ha descrito anteriormente, y una cantidad eficaz de timosina- $\alpha$ . La timosina- $\alpha$  (Zadaxin™) se administra generalmente por inyección subcutánea. La timosina- $\alpha$  puede administrarse tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, cada dos días, dos veces a la semana, tres veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, de manera sustancialmente continua, o de manera continua durante el ciclo deseado del tratamiento con compuesto inhibidor de NS3. En muchas realizaciones, la timosina- $\alpha$  se administra dos veces a la semana durante el ciclo deseado del tratamiento con compuesto inhibidor de NS3.

- 40 Las dosificaciones eficaces de timosina- $\alpha$  varían de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 5 mg, por ejemplo, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 1,0 mg, de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 1,5 mg, de aproximadamente 1,5 mg a aproximadamente 2,0 mg, de aproximadamente 2,0 mg a aproximadamente 2,5 mg, de aproximadamente 2,5 mg a aproximadamente 3,0 mg, de aproximadamente 3,0 mg a aproximadamente 3,5 mg, de aproximadamente 3,5 mg a aproximadamente 4,0 mg, de aproximadamente 4,0 mg a aproximadamente 4,5 mg, o de aproximadamente 4,5 mg a aproximadamente 5,0 mg. La timosina- $\alpha$  puede administrarse en dosificaciones que contienen una cantidad de 1,0 mg o 1,6 mg.

- 45 La timosina- $\alpha$  puede administrarse durante un periodo de tiempo que varía de aproximadamente un día a aproximadamente una semana, de aproximadamente dos semanas a aproximadamente cuatro semanas, de aproximadamente un mes a aproximadamente dos meses, de aproximadamente dos meses a aproximadamente cuatro meses, de aproximadamente cuatro meses a aproximadamente seis meses, de aproximadamente seis meses a aproximadamente ocho meses, de aproximadamente ocho meses a aproximadamente 1 año, de aproximadamente 1 año a aproximadamente 2 años, o de aproximadamente 2 años a aproximadamente 4 años, o más. En una realización, la timosina- $\alpha$  se administra durante el ciclo deseado del tratamiento con compuesto inhibidor de NS3.

#### Terapias de combinación con interferón(es)

- 55 En muchas realizaciones, los procedimientos proporcionan terapia de combinación que comprende administrar un compuesto inhibidor de NS3 tal como se ha descrito anteriormente, y una cantidad eficaz de un agonista de receptor de interferón. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula I y un agonista de receptor de interferón tipo I o III

se administran conjuntamente en los procedimientos de tratamiento de la divulgación. Agonistas de receptor de interferón tipo I adecuados para su uso en el presente documento incluyen cualquier interferón- $\alpha$ (IFN- $\alpha$ ). En ciertas realizaciones, el interferón- $\alpha$  es un interferón- $\alpha$  PEGilado. En otras ciertas realizaciones, el interferón- $\alpha$  es un interferón de consenso, tal como interferón alfacon-1 INFERGEN®. Aun en otras realizaciones, el interferón- $\alpha$  es un interferón de consenso monoPEG (30 kD, lineal).

Las dosificaciones eficaces de un IFN- $\alpha$  varían de aproximadamente 3  $\mu$ g a aproximadamente 27  $\mu$ g, de aproximadamente 3 MU a aproximadamente 10 MU, de aproximadamente 90  $\mu$ g a aproximadamente 180  $\mu$ g, o de aproximadamente 18  $\mu$ g a aproximadamente 90  $\mu$ g. Dosificaciones eficaces de IFN- $\alpha$  de consenso Infergen® incluyen aproximadamente 3  $\mu$ g, aproximadamente 6  $\mu$ g, aproximadamente 9  $\mu$ g, aproximadamente 12  $\mu$ g, aproximadamente 15  $\mu$ g, aproximadamente 18  $\mu$ g, aproximadamente 21  $\mu$ g, aproximadamente 24  $\mu$ g, aproximadamente 27  $\mu$ g, o aproximadamente 30  $\mu$ g, de fármaco por dosis. Dosificaciones eficaces de IFN- $\alpha$ 2a y IFN- $\alpha$ 2b varían de 3 millones de unidades (MU) a 10 MU por dosis. Dosificaciones eficaces de IFN- $\alpha$  PEGASYS® PEGilado contienen una cantidad de aproximadamente 90  $\mu$ g a 270  $\mu$ g, o aproximadamente 180  $\mu$ g, de fármaco por dosis. Dosificaciones eficaces de IFN- $\alpha$ 2b PEG-INTRON® PEGilado contienen una cantidad de aproximadamente 0,5  $\mu$ g a 3,0  $\mu$ g de fármaco por kg de peso corporal por dosis. Dosificaciones eficaces de interferón de consenso PEGilado (PEG-CIFN) contienen una cantidad de aproximadamente 18  $\mu$ g a aproximadamente 90  $\mu$ g, o de aproximadamente 27  $\mu$ g a aproximadamente 60  $\mu$ g, o aproximadamente 45  $\mu$ g, de peso de aminoácido CIFN por dosis de PEG-CIFN. Dosificaciones eficaces de CIFN monoPEGilado (30 kD, lineal) contienen una cantidad de aproximadamente 45  $\mu$ g a aproximadamente 270  $\mu$ g, o de aproximadamente 60  $\mu$ g a aproximadamente 180  $\mu$ g, o de aproximadamente 90  $\mu$ g a aproximadamente 120  $\mu$ g, de fármaco por dosis. Puede administrarse IFN- $\alpha$  una vez al día, cada dos días, una vez a la semana, tres veces a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, de manera sustancialmente continua o de manera continua.

En muchas realizaciones, el agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III y/o el agonista de receptor de interferón tipo II se administra durante un periodo de aproximadamente 1 día a aproximadamente 7 días, o de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 2 semanas, o de aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 3 semanas, o de aproximadamente 3 semanas a aproximadamente 4 semanas, o de aproximadamente 1 mes a aproximadamente 2 meses, o de aproximadamente 3 meses a aproximadamente 4 meses, o de aproximadamente 4 meses a aproximadamente 6 meses, o de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 8 meses, o de aproximadamente 8 meses a aproximadamente 12 meses, o al menos un año, y puede administrarse durante periodos de tiempo más largos. Las pautas de dosificación pueden incluir tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, cada dos días, dos veces a la semana, tres veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, o administraciones mensuales. En algunas realizaciones, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente en los que la dosificación deseada de IFN- $\alpha$  se administra por vía subcutánea al paciente mediante administración en inyección intravenosa rápida una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, o mensualmente, o se administra por vía subcutánea al paciente al día mediante administración sustancialmente continua o continua, durante la duración deseada del tratamiento. En otras realizaciones, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente en los que la dosificación deseada de IFN- $\alpha$  PEGilado (PEG-IFN- $\alpha$ ) se administra por vía subcutánea al paciente mediante administración en inyección intravenosa rápida una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, o mensualmente durante la duración deseada del tratamiento.

En otras realizaciones, un compuesto inhibidor de NS3 y un agonista de receptor de interferón tipo II se administran de manera conjunta. Agonistas de receptor de interferón tipo II adecuados para su uso en el presente documento incluyen cualquier interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ).

Dosificaciones eficaces de IFN- $\gamma$  pueden variar de aproximadamente 0,5 g/m<sup>2</sup> a aproximadamente 500 g/m<sup>2</sup>, habitualmente de aproximadamente 1,5 g/m<sup>2</sup> hasta 200 g/m<sup>2</sup>, dependiendo del tamaño del paciente. Esta actividad se basa en 106 unidades internacionales (U) por 50  $\mu$ g de proteína. Puede administrarse IFN- $\gamma$  diariamente, cada dos días, tres veces a la semana, o de manera sustancialmente continua o de manera continua.

En realizaciones específicas de interés, IFN- $\gamma$  se administra a un individuo en una forma de dosificación unitaria de aproximadamente 25  $\mu$ g a aproximadamente 500  $\mu$ g, de aproximadamente 50  $\mu$ g a aproximadamente 400  $\mu$ g, o de aproximadamente 100  $\mu$ g a aproximadamente 300  $\mu$ g. En realizaciones particulares de interés, la dosis es preferiblemente de aproximadamente 200  $\mu$ g de IFN- $\gamma$ . En muchas realizaciones de interés, se administra IFN- $\gamma$ 1b.

Cuando la dosificación es de 200  $\mu$ g de IFN- $\gamma$  por dosis, la cantidad de IFN- $\gamma$  por peso corporal (suponiendo un intervalo de peso corporal de aproximadamente 45 kg a aproximadamente 135 kg) está en el intervalo de aproximadamente 4,4  $\mu$ g de IFN- $\gamma$  por kg de peso corporal a aproximadamente 1,48  $\mu$ g de IFN- $\gamma$  por kg de peso corporal.

El área de la superficie corporal de individuos objeto varía en general de aproximadamente 1,33 m<sup>2</sup> a aproximadamente 2,50 m<sup>2</sup>. Así, en muchas realizaciones, una dosificación de IFN- $\gamma$  varía de aproximadamente 150

5  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $20 \mu\text{g}/\text{m}^2$ . Por ejemplo, una dosificación de IFN- $\gamma$  varía de aproximadamente  $20 \mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $30 \mu\text{g}/\text{m}^2$ , de aproximadamente  $30 \mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $40 \mu\text{g}/\text{m}^2$ , de aproximadamente  $40 \mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $50 \mu\text{g}/\text{m}^2$ , de aproximadamente  $50 \mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $60 \mu\text{g}/\text{m}^2$ , de aproximadamente  $60 \mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $70 \mu\text{g}/\text{m}^2$ , de aproximadamente  $70 \mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $80 \mu\text{g}/\text{m}^2$ , de aproximadamente  $80 \mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $90 \mu\text{g}/\text{m}^2$ , de aproximadamente  $90 \mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $100 \mu\text{g}/\text{m}^2$ , de aproximadamente  $100 \mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $110 \mu\text{g}/\text{m}^2$ , de aproximadamente  $110 \mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $120 \mu\text{g}/\text{m}^2$ , de aproximadamente  $120 \mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $130 \mu\text{g}/\text{m}^2$ , de aproximadamente  $130 \mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $140 \mu\text{g}/\text{m}^2$ , o de aproximadamente  $140 \mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $150 \mu\text{g}/\text{m}^2$ . En algunas realizaciones, los grupos de dosificación varían de aproximadamente  $25 \mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $100 \mu\text{g}/\text{m}^2$ . En otras realizaciones, los grupos de dosificación varían de aproximadamente  $25 \mu\text{g}/\text{m}^2$  a aproximadamente  $50 \mu\text{g}/\text{m}^2$ .

15 En algunas realizaciones, un agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III se administra en un primera pauta de dosificación, seguida por una segunda pauta de dosificación. La primera pauta de dosificación de agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III (también denominada “la pauta de inducción”) generalmente implica la administración de una dosis superior de agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III. Por ejemplo, en el caso de IFN- $\alpha$  de consenso Infergen® (CIFN), la primera pauta de dosificación comprende administrar CIFN a aproximadamente  $9 \mu\text{g}$ , aproximadamente  $15 \mu\text{g}$ , aproximadamente  $18 \mu\text{g}$ , o aproximadamente  $27 \mu\text{g}$ . La primera pauta de dosificación puede englobar un único acontecimiento de dosificación, o al menos dos o más acontecimientos de dosificación. La primera pauta de dosificación de agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III puede administrarse diariamente, cada dos días, tres veces a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, de manera sustancialmente continua o de manera continua.

20 La primera pauta de dosificación del agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III se administra durante un primer periodo de tiempo, periodo de tiempo que puede ser de al menos aproximadamente 4 semanas, al menos aproximadamente 8 semanas, o al menos aproximadamente 12 semanas.

25 La segunda pauta de dosificación del agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III (también denominada “la dosis de mantenimiento”) implica generalmente la administración de una cantidad inferior de agonista del receptor de interferón tipo I o tipo III. Por ejemplo, en el caso de CIFN, la segunda pauta de dosificación comprende administrar CIFN a una dosis de al menos aproximadamente  $3 \mu\text{g}$ , al menos aproximadamente  $9 \mu\text{g}$ , al menos aproximadamente  $15 \mu\text{g}$ , o al menos aproximadamente  $18 \mu\text{g}$ . La segunda pauta de dosificación puede englobar un único acontecimiento de dosificación, o al menos dos o más acontecimientos de dosificación.

30 La segunda pauta de dosificación del agonista de receptor interferón tipo I o tipo III puede administrarse diariamente, cada dos días, tres veces a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, de manera sustancialmente continua o de manera continua.

35 En algunas realizaciones, cuando se administra una pauta de dosificación de “inducción/mantenimiento” de un agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III, se incluye una dosificación “de sensibilización” de un agonista de receptor de interferón tipo II (por ejemplo, IFN- $\gamma$ ). En estas realizaciones, IFN- $\gamma$  se administra durante un periodo de tiempo de aproximadamente 1 día a aproximadamente 14 días, de aproximadamente 2 días a aproximadamente 10 días, o de aproximadamente 3 días a aproximadamente 7 días, antes de comenzar el tratamiento con el agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III. Este periodo de tiempo se denomina fase “de sensibilización”.

40 En algunas de estas realizaciones, el tratamiento con agonista de receptor de interferón tipo II puede continuarse a lo largo del todo el periodo de tratamiento con el agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III. En otras realizaciones, el tratamiento con agonista de receptor de interferón tipo II se interrumpe antes del final del tratamiento con agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III. En estas realizaciones, el tiempo total de tratamiento con agonista de receptor de interferón tipo II (incluyendo la fase “de sensibilización”) es de aproximadamente 2 días a aproximadamente 30 días, de aproximadamente 4 días a aproximadamente 25 días, de aproximadamente 8 días a aproximadamente 20 días, de aproximadamente 10 días a aproximadamente 18 días, o de aproximadamente 12 días a aproximadamente 16 días. Aun en otras realizaciones, el tratamiento con agonista de receptor de interferón tipo II se interrumpe una vez que comienza el tratamiento con un agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III.

50 En otras realizaciones, el agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III se administrar en una única pauta de dosificación. Por ejemplo, en el caso de CIFN, la dosis de CIFN está generalmente en un intervalo de aproximadamente  $3 \mu\text{g}$  a aproximadamente  $15 \mu\text{g}$ , o de aproximadamente  $9 \mu\text{g}$  a aproximadamente  $15 \mu\text{g}$ . La dosis de agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III generalmente se administra diariamente, cada dos días, tres veces a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o sustancialmente de manera continua.

55 La dosis del agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III se administra durante un periodo de tiempo, periodo de tiempo que puede ser, por ejemplo, de al menos aproximadamente 24 semanas hasta al menos aproximadamente 48 semanas, o mayor.

En algunas realizaciones, cuando se administra una única pauta de dosificación de un agonista de receptor de

- interferón tipo I o tipo III, se incluye una dosis “de sensibilización” de un agonista de receptor de interferón tipo II (por ejemplo, IFN- $\gamma$ ). En estas realizaciones, IFN- $\gamma$  se administra durante un periodo de tiempo de aproximadamente 1 día a aproximadamente 14 días, de aproximadamente 2 días a aproximadamente 10 días, o de aproximadamente 3 días a aproximadamente 7 días, antes de comenzar el tratamiento con el agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III. Este periodo de tiempo se denomina fase “de sensibilización”. En algunas de estas realizaciones, el tratamiento con agonista de receptor de interferón tipo II se continúa a lo largo de todo el periodo de tratamiento con el agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III. En otras realizaciones, el tratamiento con agonista de receptor de interferón tipo II se interrumpe antes del final del tratamiento con el agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III. En estas realizaciones, el tiempo total de tratamiento con el agonista de receptor de interferón tipo II (incluyendo la fase “de sensibilización”) es de aproximadamente 2 días a aproximadamente 30 días, de aproximadamente 4 días a aproximadamente 25 días, de aproximadamente 8 días a aproximadamente 20 días, de aproximadamente 10 días a aproximadamente 18 días, o de aproximadamente 12 días a aproximadamente 16 días. Aun en otras realizaciones, el tratamiento con agonista de receptor de interferón tipo II se interrumpe una vez que comienza el tratamiento con el agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III.
- En otras realizaciones, un compuesto inhibidor de NS3, un agonista de receptor de interferón tipo I o III y un agonista de receptor de interferón tipo II se administran de manera conjunta durante la duración deseada del tratamiento en los procedimientos descritos en la divulgación. En algunas realizaciones, un compuesto inhibidor de NS3, un interferón- $\alpha$  y un interferón- $\gamma$  se administran de manera conjunta durante la duración deseada del tratamiento en los procedimientos de la divulgación.
- En algunas realizaciones, la divulgación proporciona procedimientos que usan una cantidad de un agonista de receptor de interferón tipo I o tipo III, un agonista de receptor de interferón tipo II y un compuesto inhibidor de NS3, eficaz para el tratamiento de una infección por VHC en un paciente. En algunas realizaciones, la divulgación proporciona procedimientos que usan una cantidad eficaz de un IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , y un compuesto inhibidor de NS3 en el tratamiento de una infección por VHC en un paciente. En una realización, la divulgación proporciona un procedimiento que usa una cantidad eficaz de un IFN- $\alpha$  de consenso, IFN- $\gamma$  y un compuesto inhibidor de NS3 en el tratamiento de una infección por VHC en un paciente.

En general, una cantidad eficaz de un interferón de consenso (CIFN) e IFN- $\gamma$  adecuada para su uso en los procedimientos de la divulgación se proporciona por una razón de dosificación de 1  $\mu\text{g}$  de CIFN:10  $\mu\text{g}$  de IFN- $\gamma$ , en la que tanto CIFN como IFN- $\gamma$  son especies no PEGiladas y no glucosiladas.

- En una realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  de consenso INFERGEN® e IFN- $\gamma$  en el tratamiento de una infección por VHC en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de INFERGEN® que contiene una cantidad de aproximadamente 1  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 30  $\mu\text{g}$ , de fármaco por dosis de INFERGEN®, por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 10  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 300  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis de IFN- $\gamma$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

- En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  de consenso INFERGEN® e IFN- $\gamma$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de INFERGEN® que contiene una cantidad de aproximadamente 1  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 9  $\mu\text{g}$ , de fármaco por dosis de INFERGEN®, por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 10  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 100  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis de IFN- $\gamma$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

- En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  de consenso INFERGEN® e IFN- $\gamma$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de INFERGEN® que contiene una cantidad de aproximadamente 1  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis de INFERGEN®, por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 10  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 50  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis de IFN- $\gamma$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

5 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  de consenso INFERGEN® e IFN- $\gamma$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de INFERGEN® que contiene una cantidad de aproximadamente 9  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis de INFERGEN®, por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 90  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 100  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis de IFN- $\gamma$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

15 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  de consenso INFERGEN® e IFN- $\gamma$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de INFERGEN® que contiene una cantidad de aproximadamente 30  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis de INFERGEN®, por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 200  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 300  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis de IFN- $\gamma$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la deseada duración del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

25 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  de consenso PEGilado e IFN- $\gamma$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso pegilado (PEG-CIFN) que contiene una cantidad de aproximadamente 4  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 60  $\mu\text{g}$  de peso de aminoácido CIFN por dosis de PEG-CIFN, por vía subcutánea una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, o mensualmente, en combinación con una dosificación semanal total de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 30  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 1.000  $\mu\text{g}$  de fármaco a la semana en dosis divididas administradas por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, o administradas de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

35 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  de consenso PEGilado e IFN- $\gamma$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso pegilado (PEG-CIFN) que contiene una cantidad de aproximadamente 18  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 24  $\mu\text{g}$  de peso de aminoácido CIFN por dosis de PEG-CIFN, por vía subcutánea una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, o mensualmente, en combinación con una dosificación semanal total de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 100  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 300  $\mu\text{g}$  de fármaco a la semana en dosis divididas administradas por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, o de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

45 En general, una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  2a o 2b o 2c e IFN- $\gamma$  adecuada para su uso en los procedimientos de la invención se proporciona mediante una razón de dosificación de 1 millón de unidades (MU) de IFN- $\alpha$  2a o 2b o 2c:30  $\mu\text{g}$  de IFN- $\gamma$ , en la que tanto IFN- $\alpha$  2a o 2b o 2c como IFN- $\gamma$  son especies no PEGiladas y no glucosiladas.

50 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  2a o 2b o 2c e IFN- $\gamma$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de IFN- $\alpha$  2a, 2b o 2c que contiene una cantidad de aproximadamente 1 MU a aproximadamente 20 MU de fármaco por dosis de IFN- $\alpha$  2a, 2b o 2c por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 30  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 600  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis de IFN- $\gamma$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

55 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  2a o 2b o 2c e IFN- $\gamma$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de IFN- $\alpha$  2a, 2b o 2c que contiene una cantidad de aproximadamente 3 MU de fármaco por dosis de IFN- $\alpha$  2a, 2b o 2c por vía subcutánea una vez al día, cada dos

5 días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 100  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis de IFN- $\gamma$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

10 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  2a o 2b o 2c e IFN- $\gamma$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de IFN- $\alpha$  2a, 2b o 2c que contiene una cantidad de aproximadamente 10 MU de fármaco por dosis de IFN- $\alpha$  2a, 2b o 2c por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 300  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis de IFN- $\gamma$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

15 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$ 2a PEGASYS® PEGilado e IFN- $\gamma$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de PEGASYS® que contiene una cantidad de aproximadamente 90  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 360  $\mu\text{g}$ , de fármaco por dosis de PEGASYS®, por vía subcutánea una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, o mensualmente, en combinación con una dosificación  
20 semanal total de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 30  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 1.000  $\mu\text{g}$ , de fármaco a la semana administrado en dosis divididas por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o administrado de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

25 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$ 2a PEGASYS® PEGilado e IFN- $\gamma$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de PEGASYS® que contiene una cantidad de aproximadamente 180  $\mu\text{g}$ , de fármaco por dosis de PEGASYS®, por vía subcutánea una vez a la semana, cada dos  
30 semanas, tres veces al mes, o mensualmente, en combinación con una dosificación semanal total de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 100  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 300  $\mu\text{g}$ , de fármaco a la semana administrado en dosis divididas por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o administrado de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

35 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$ 2b PEG-INTRON® PEGilado e IFN- $\gamma$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de PEG-INTRON® que contiene una cantidad de aproximadamente 0,75  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 3,0  $\mu\text{g}$  de fármaco por kilogramo de peso corporal por  
40 dosis de PEG-INTRON®, por vía subcutánea una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, o mensualmente, en combinación con una dosificación semanal total de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 30  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 1.000  $\mu\text{g}$  de fármaco a la semana administrado en dosis divididas por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o administrado de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

45 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$ 2b PEG-INTRON® PEGilado e IFN- $\gamma$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de PEG-INTRON® que contiene una cantidad de aproximadamente 1,5  $\mu\text{g}$  de fármaco por kilogramo de peso corporal por dosis de PEG-INTRON®, por  
50 vía subcutánea una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, o mensualmente, en combinación con una dosificación semanal total de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 100  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 300  $\mu\text{g}$  de fármaco a la semana administrado en dosis divididas por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o administrado de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

55 En una realización, la presente divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por VHC de una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3; y una pauta de 9  $\mu\text{g}$  de IFN- $\alpha$  de consenso INFERGEN® administrado por vía subcutánea una vez al día o tres veces a la semana, y ribavirina administrada por vía oral una vez al día, en los que la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta realización, la ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos de 75 kg, y 1200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

En una realización, la presente divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por VHC de una cantidad

5 eficaz de un inhibidor de NS3; y una pauta de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrado por vía subcutánea una vez al día o tres veces a la semana; 50 µg de IFN-γlb humano Actimmune® administrado por vía subcutánea tres veces a la semana; y ribavirina administrada por vía oral una vez al día, en los que la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta realización, la ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos de 75 kg, y 1200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

10 En una realización, la presente divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por VHC de una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3; y una pauta de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrado por vía subcutánea una vez al día o tres veces a la semana; 100 µg de IFN-γlb humano Actimmune® administrado por vía subcutánea tres veces a la semana; y ribavirina administrada por vía oral una vez al día, en los que la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta realización, la ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos de 75 kg, y 1200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

15 En una realización, la presente divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por VHC de una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3; y una pauta de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrado por vía subcutánea una vez al día o tres veces a la semana; y 50 µg de IFN-γlb humano Actimmune® administrado por vía subcutánea tres veces a la semana, en los que la duración de la terapia es de 48 semanas.

20 En una realización, la presente divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por VHC de una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3; y una pauta de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrado por vía subcutánea una vez al día o tres veces a la semana; y 100 µg de IFN-γlb humano Actimmune® administrado por vía subcutánea tres veces a la semana, en los que la duración de la terapia es de 48 semanas.

25 En una realización, la presente divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por VHC de una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3; y una pauta de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrado por vía subcutánea una vez al día o tres veces a la semana; 25 µg de IFN-γlb humano Actimmune® administrado por vía subcutánea tres veces a la semana; y ribavirina administrada por vía oral una vez al día, en los que la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta realización, la ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos de 75 kg, y 1200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

30 En una realización, la presente divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por VHC de una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3; y una pauta de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrado por vía subcutánea una vez al día o tres veces a la semana; 200 µg de IFN-γlb humano Actimmune® administrado por vía subcutánea tres veces a la semana; y ribavirina administrada por vía oral una vez al día, en los que la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta realización, la ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos de 75 kg, y 1200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

35 En una realización, la presente divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por VHC de una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3; y una pauta de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrado por vía subcutánea una vez al día o tres veces a la semana; y 25 µg de IFN-γlb humano Actimmune® administrado por vía subcutánea tres veces a la semana, en los que la duración de la terapia es de 48 semanas.

40 En una realización, la presente divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por VHC de una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3; y una pauta de 9 µg de IFN-α de consenso INFERGEN® administrado por vía subcutánea una vez al día o tres veces a la semana; y 200 µg de IFN-γlb humano Actimmune® administrado por vía subcutánea tres veces a la semana, en los que la duración de la terapia es de 48 semanas.

45 En una realización, la presente divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por VHC de una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3; y una pauta de 100 µg de IFN-α de consenso monoPEG (30 kD, lineal) administrado por vía subcutánea cada 10 días o una vez a la semana, y ribavirina administrada por vía oral una vez al día, en los que la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta realización, la ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos de 75 kg, y 1200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

50 En una realización, la presente divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por VHC de una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3; y una pauta de 100 µg de IFN-α de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) administrado por vía subcutánea cada 10 días o una vez a la semana; 50 µg de IFN-γlb humano Actimmune® administrado por vía subcutánea tres veces a la semana; y ribavirina administrada por vía oral una vez al día, en los



5 eficaz de un inhibidor de NS3; y una pauta de 200 µg de IFN-α de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) administrado por vía subcutánea cada 10 días o una vez a la semana; 50 µg de IFN-γ humano Actimmune® administrado por vía subcutánea tres veces a la semana; y ribavirina administrada por vía oral una vez al día, en los que la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta realización, la ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos de 75 kg, y 1200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

10 En una realización, la presente divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por VHC de una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3; y una pauta de 200 µg de IFN-α de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) administrado por vía subcutánea cada 10 días o una vez a la semana; 100 µg de IFN-γ humano Actimmune® administrado por vía subcutánea tres veces a la semana; y ribavirina administrada por vía oral una vez al día, en los que la duración de la terapia es de 48 semanas. En esta realización, la ribavirina se administra en una cantidad de 1000 mg para individuos que pesan menos de 75 kg, y 1200 mg para individuos que pesan 75 kg o más.

15 En una realización, la presente divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por VHC de una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3; y una pauta de 200 µg de IFN-α de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) administrado por vía subcutánea cada 10 días o una vez a la semana; y 50 µg de IFN-γ humano Actimmune® administrado por vía subcutánea tres veces a la semana en los que la duración de la terapia es de 48 semanas.

20 En una realización, la presente divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para comprender la administración a un individuo que tiene una infección por VHC de una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3; y una pauta de 200 µg de IFN-α de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) administrado por vía subcutánea cada 10 días o una vez a la semana; y 100 µg de IFN-γ humano Actimmune® administrado por vía subcutánea tres veces a la semana en los que la duración de la terapia es de 48 semanas.

25 Cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que implican la administración de un inhibidor de NS3, un agonista de receptor de interferón tipo I (por ejemplo, un IFN-α), y un agonista de receptor de interferón tipo II (por ejemplo, un IFN-γ), puede potenciarse mediante la administración de una cantidad eficaz de un antagonista de TNF-α (por ejemplo, un antagonista de TNF-α distinto de pirfenidona o un análogo de pirfenidona). Antagonistas TNF-α a modo de ejemplo que son adecuados para su uso en tales terapias de combinación incluyen ENBREL®, REMICADE® y HUMIRA™.

30 En una realización, la divulgación proporciona un procedimiento que usa una cantidad eficaz de ENBREL®; una cantidad eficaz de IFN-α; una cantidad eficaz de IFN-γ; y una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3 en el tratamiento de una infección por VHC en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosificación de ENBREL® que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 23 mg por dosis, de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 1 µg, de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 10 µg, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 100 µg, de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 1 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 5 mg, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 15 mg, de aproximadamente 15 mg a aproximadamente 20 mg, o de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 23 mg de ENBREL®, por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o una vez cada dos meses, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento.

45 En una realización, la divulgación proporciona un procedimiento que usa una cantidad eficaz de REMICADE®, una cantidad eficaz de IFN-α; una cantidad eficaz de IFN-γ; y una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3 en el tratamiento de una infección por VHC en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosificación de REMICADE® que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 4,5 mg/kg, de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 0,5 mg/kg, de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 1,0 mg/kg, de aproximadamente 1,0 mg/kg a aproximadamente 1,5 mg/kg, de aproximadamente 1,5 mg/kg a aproximadamente 2,0 mg/kg, de aproximadamente 2,0 mg/kg a aproximadamente 2,5 mg/kg, de aproximadamente 2,5 mg/kg a aproximadamente 3,0 mg/kg, de aproximadamente 3,0 mg/kg a aproximadamente 3,5 mg/kg, de aproximadamente 3,5 mg/kg a aproximadamente 4,0 mg/kg, o de aproximadamente 4,0 mg/kg a aproximadamente 4,5 mg/kg por dosis de REMICADE®, por vía intravenosa una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o una vez cada dos meses, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento.

55 En una realización, la divulgación proporciona un procedimiento que usa una cantidad eficaz de HUMIRA™, una cantidad eficaz de IFN-α; una cantidad eficaz de IFN-γ; y una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3 en el tratamiento de una infección por VHC en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosificación de HUMIRA™ que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 35 mg, de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 1 µg, de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 10 µg, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 100 µg, de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 1 mg, de aproximadamente 1 mg a

aproximadamente 5 mg, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 15 mg, de aproximadamente 15 mg a aproximadamente 20 mg, de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 25 mg, de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 30 mg, o de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 35 mg por dosis de HUMIRA™, por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, una vez cada dos meses, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento.

#### Terapias de combinación con pirfenidona

En muchas realizaciones, los procedimientos proporcionan terapia de combinación que comprende administrar un compuesto inhibidor de NS3 tal como se ha descrito anteriormente, y una cantidad eficaz de pirfenidona o un análogo de pirfenidona. En algunas realizaciones se administran de manera conjunta un compuesto inhibidor de NS3, uno o más agonista(s) de receptor de interferón, y pirfenidona o análogo de pirfenidona en los procedimientos de tratamiento de la divulgación. En determinadas realizaciones, se administran de manera conjunta un compuesto inhibidor de NS3, un agonista de receptor de interferón tipo I, y pirfenidona (o un análogo de pirfenidona). En otras realizaciones, se administran de manera conjunta un compuesto inhibidor de NS3, un agonista de receptor de interferón tipo I, un agonista de receptor de interferón tipo II, y pirfenidona (o un análogo de pirfenidona). Agonistas de receptor de interferón tipo I adecuados para su uso en el presente documento incluyen cualquier IFN- $\alpha$ , tal como interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, interferón alfacon-1 e IFN- $\alpha$  PEGilados, tales como peginterferón alfa-2a, peginterferón alfa-2b, e interferones de consenso PEGilados, tales como interferón de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal). Agonistas de receptor de interferón tipo II adecuados para su uso en el presente documento incluyen cualquier interferón- $\gamma$ .

La pirfenidona o un análogo de pirfenidona puede administrarse una vez al mes, dos veces al mes, tres veces al mes, una vez a la semana, dos veces a la semana, tres veces a la semana, cuatro veces a la semana, cinco veces a la semana, seis veces a la semana, diariamente, o en dosis divididas diarias que varían de una vez al día a 5 veces al día durante un periodo de tiempo que varía de aproximadamente un día a aproximadamente una semana, de aproximadamente dos semanas a aproximadamente cuatro semanas, de aproximadamente un mes a aproximadamente dos meses, de aproximadamente dos meses a aproximadamente cuatro meses, de aproximadamente cuatro meses a aproximadamente seis meses, de aproximadamente seis meses a aproximadamente ocho meses, de aproximadamente ocho meses a aproximadamente 1 año, de aproximadamente 1 año a aproximadamente 2 años, o de aproximadamente 2 años a aproximadamente 4 años, o más.

Dosificaciones eficaces de pirfenidona o un análogo de pirfenidona específico incluyen una dosificación basada en el peso en el intervalo de aproximadamente 5 mg/kg/día a aproximadamente 125 mg/kg/día, o una dosificación fija de aproximadamente 400 mg a aproximadamente 3600 mg al día, o de aproximadamente 800 mg a aproximadamente 2400 mg al día, o de aproximadamente 1000 mg a aproximadamente 1800 mg al día, o de aproximadamente 1200 mg a aproximadamente 1600 mg al día, administrada por vía oral en de una a cinco dosis divididas al día. Otras dosis y formulaciones de pirfenidona y análogos de pirfenidona específicos adecuadas para su uso en el tratamiento de enfermedades fibróticas se describen en las patentes de los Estados Unidos números 5.310.562; 5.518.729; 5.716.632; y 6.090.822.

En una realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para incluir la administración conjunta al paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz de pirfenidona o un análogo de pirfenidona durante la duración del ciclo deseado del tratamiento con compuesto inhibidor de NS3.

#### Terapias de combinación con antagonistas de TNF- $\alpha$

En muchas realizaciones, los procedimientos proporcionan terapia de combinación que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor de NS3 tal como se ha descrito anteriormente, y una cantidad eficaz de antagonista de TNF- $\alpha$ , en terapia de combinación para el tratamiento de una infección por VHC.

Dosificaciones eficaces de un antagonista de TNF- $\alpha$  varían de 0,1  $\mu$ g a 40 mg por dosis, por ejemplo, de aproximadamente 0,1  $\mu$ g a aproximadamente 0,5  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 0,5  $\mu$ g a aproximadamente 1,0  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 1,0  $\mu$ g por dosis a aproximadamente 5,0  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 5,0  $\mu$ g a aproximadamente 10  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 10  $\mu$ g a aproximadamente 20  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 20  $\mu$ g por dosis a aproximadamente 30  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 30  $\mu$ g por dosis a aproximadamente 40  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 40  $\mu$ g por dosis a aproximadamente 50  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 50  $\mu$ g por dosis a aproximadamente 60  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 60  $\mu$ g por dosis a aproximadamente 70  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 70  $\mu$ g a aproximadamente 80  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 80  $\mu$ g por dosis a aproximadamente 100  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 100  $\mu$ g a aproximadamente 150  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 150  $\mu$ g a aproximadamente 200  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 200  $\mu$ g por dosis a aproximadamente 250  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 250  $\mu$ g a aproximadamente 300  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 300  $\mu$ g a aproximadamente 400  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 400  $\mu$ g a aproximadamente 500  $\mu$ g por dosis, de aproximadamente 500  $\mu$ g a aproximadamente

600 µg por dosis, de aproximadamente 600 µg a aproximadamente 700 µg por dosis, de aproximadamente 700 µg a aproximadamente 800 µg por dosis, de aproximadamente 800 µg a aproximadamente 900 µg por dosis, de aproximadamente 900 µg a aproximadamente 1000 µg por dosis, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10 mg por dosis, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 15 mg por dosis, de aproximadamente 15 mg a aproximadamente 20 mg por dosis, de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 25 mg por dosis, de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 30 mg por dosis, de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 35 mg por dosis, o de aproximadamente 35 mg a aproximadamente 40 mg por dosis.

En algunas realizaciones, dosificaciones eficaces de un antagonista de TNF- $\alpha$  se expresan como mg/kg de peso corporal. En estas realizaciones, dosificaciones eficaces de un antagonista de TNF- $\alpha$  varían de aproximadamente 0,1 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, por ejemplo, de aproximadamente 0,1 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 0,5 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0,5 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 1,0 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 1,0 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 2,5 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 2,5 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 5,0 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 5,0 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 7,5 mg/kg de peso corporal, o de aproximadamente 7,5 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal.

En muchas realizaciones, se administra un antagonista de TNF- $\alpha$  durante un periodo de aproximadamente 1 día a aproximadamente 7 días, o de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 2 semanas, o de aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 3 semanas, o de aproximadamente 3 semanas a aproximadamente 4 semanas, o de aproximadamente 1 mes a aproximadamente 2 meses, o de aproximadamente 3 meses a aproximadamente 4 meses, o de aproximadamente 4 meses a aproximadamente 6 meses, o de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 8 meses, o de aproximadamente 8 meses a aproximadamente 12 meses, o al menos un año, y puede administrarse durante periodos de tiempo más largos. El antagonista de TNF- $\alpha$  puede administrarse tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, cada dos días, dos veces a la semana, tres veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, de manera sustancialmente continua, o de manera continua.

En muchas realizaciones, se administran múltiples dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ . Por ejemplo, un antagonista de TNF- $\alpha$  se administra una vez al mes, dos veces al mes, tres veces al mes, cada dos semanas (qow), una vez a la semana (qw), dos veces a la semana (biw), tres veces a la semana (tiw), cuatro veces a la semana, cinco veces a la semana, seis veces a la semana, cada dos días (qod), una vez al día (qd), dos veces al día (bid), o tres veces a día (tid), de manera sustancialmente continua, o de manera continua, durante un periodo de tiempo que varía de aproximadamente un día a aproximadamente una semana, de aproximadamente dos semanas a aproximadamente cuatro semanas, de aproximadamente un mes a aproximadamente dos meses, de aproximadamente dos meses a aproximadamente cuatro meses, de aproximadamente cuatro meses a aproximadamente seis meses, de aproximadamente seis meses a aproximadamente ocho meses, de aproximadamente ocho meses a aproximadamente 1 año, de aproximadamente 1 año a aproximadamente 2 años, o de aproximadamente 2 años a aproximadamente 4 años, o más.

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

En una realización, la divulgación proporciona un procedimiento que usa una cantidad eficaz de un antagonista de TNF- $\alpha$  y una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3 en el tratamiento de una infección por VHC en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosificación de un antagonista de TNF- $\alpha$  que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

En una realización, la divulgación proporciona un procedimiento que usa una cantidad eficaz de ENBREL® y una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3 en el tratamiento de una infección por VHC en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosificación de ENBREL® que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 23 mg por dosis, de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 1 µg, de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 10 µg, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 100 µg, de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 1 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 5 mg, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 15 mg, de aproximadamente 15 mg a aproximadamente 20 mg, o de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 23 mg de ENBREL®, por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, una vez cada dos meses, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

En una realización, la divulgación proporciona un procedimiento que usa una cantidad eficaz de REMICADE® y una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3 en el tratamiento de una infección por VHC en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosificación de REMICADE® que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 4,5 mg/kg, de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 0,5 mg/kg, de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 1,0 mg/kg, de aproximadamente 1,0 mg/kg a aproximadamente 1,5 mg/kg, de aproximadamente 1,5 mg/kg a aproximadamente 2,0 mg/kg, de aproximadamente 2,0 mg/kg a aproximadamente 2,5 mg/kg, de aproximadamente 2,5 mg/kg a aproximadamente 3,0 mg/kg, de aproximadamente 3,0 mg/kg a aproximadamente 3,5 mg/kg, de aproximadamente 3,5 mg/kg a aproximadamente 4,0 mg/kg, o de aproximadamente 4,0 mg/kg a aproximadamente 4,5 mg/kg por dosis de REMICADE®, por vía intravenosa una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o una vez cada dos meses, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

En una realización, la divulgación proporciona un procedimiento que usa una cantidad eficaz de HUMIRA™ y una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3 en el tratamiento de una infección por VHC en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosificación de HUMIRA™ que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 35 mg, de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 1 µg, de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 10 µg, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 100 µg, de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 1 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 5 mg, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 15 mg, de aproximadamente 15 mg a aproximadamente 20 mg, de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 25 mg, de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 30 mg, o de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 35 mg por dosis de HUMIRATM, por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, una vez cada dos meses, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

#### Terapias de combinación con timosina-α

En muchas realizaciones, los procedimientos proporcionan terapia de combinación que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor de NS3 tal como se ha descrito anteriormente, y una cantidad eficaz de timosina-α, en terapia de combinación para el tratamiento de una infección por VHC.

Dosificaciones eficaces de timosina-α varían de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 5 mg, por ejemplo, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 1,0 mg, de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 1,5 mg, de aproximadamente 1,5 mg a aproximadamente 2,0 mg, de aproximadamente 2,0 mg a aproximadamente 2,5 mg, de aproximadamente 2,5 mg a aproximadamente 3,0 mg, de aproximadamente 3,0 mg a aproximadamente 3,5 mg, de aproximadamente 3,5 mg a aproximadamente 4,0 mg, de aproximadamente 4,0 mg a aproximadamente 4,5 mg, o de aproximadamente 4,5 mg a aproximadamente 5,0 mg. En realizaciones particulares, la timosina-α se administra en dosificaciones que contienen una cantidad de 1,0 mg o 1,6 mg.

En una realización, la divulgación proporciona un procedimiento que usa una cantidad eficaz de timosina-α ZADAXIN™ y una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3 en el tratamiento de una infección por VHC en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosificación de ZADAXIN™ que contiene una cantidad de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 1,6 mg por dosis, por vía subcutánea dos veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con el compuesto inhibidor de NS3.

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

En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona un procedimiento de tratamiento de una infección por VHC en un individuo que tiene una infección por VHC, comprendiendo el procedimiento administrar una cantidad eficaz de un inhibidor de NS3, y cantidad eficaz de un antagonista de TNF-α, y una cantidad eficaz de uno o más interferones.

En una realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN-γ y una cantidad eficaz de un antagonista de TNF-α en el tratamiento de una infección por VHC en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de IFN-γ que contiene una cantidad de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 300 µg de fármaco por dosis de IFN-γ, por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de un antagonista de TNF-α que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF-α, por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

En una realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados

- para usar una cantidad eficaz de IFN- $\gamma$  y una cantidad eficaz de un antagonista de TNF- $\alpha$  en el tratamiento de una infección por VHC en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 10  $\mu$ g a aproximadamente 100  $\mu$ g de fármaco por dosis de IFN- $\gamma$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de un antagonista de TNF- $\alpha$  que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1  $\mu$ g a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.
- 10 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\gamma$  y una cantidad eficaz de un antagonista de TNF- $\alpha$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación semanal total de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 30  $\mu$ g a aproximadamente 1.000  $\mu$ g de fármaco a la semana en dosis divididas administradas por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, o administradas de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de un antagonista de TNF- $\alpha$  que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1  $\mu$ g a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.
- 20 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\gamma$  y una cantidad eficaz de un antagonista de TNF- $\alpha$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación semanal total de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de aproximadamente 100  $\mu$ g a aproximadamente 300  $\mu$ g de fármaco a la semana en dosis divididas administradas por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, o administradas de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de un antagonista de TNF- $\alpha$  que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1  $\mu$ g a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.
- 30 En una realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  de consenso INFERGEN® y un antagonista de TNF- $\alpha$  en el tratamiento de una infección por VHC en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de INFERGEN® que contiene una cantidad de aproximadamente 1  $\mu$ g a aproximadamente 30  $\mu$ g, de fármaco por dosis de INFERGEN®, por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de un antagonista de TNF- $\alpha$  que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1  $\mu$ g a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.
- 40 En una realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  de consenso INFERGEN® y un antagonista de TNF- $\alpha$  en el tratamiento de una infección por VHC en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de INFERGEN® que contiene una cantidad de aproximadamente 1  $\mu$ g a aproximadamente 9  $\mu$ g, de fármaco por dosis de INFERGEN®, por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, una vez al mes, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de un antagonista de TNF- $\alpha$  que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1  $\mu$ g a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.
- 50 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  de consenso PEGilado y una cantidad eficaz de un antagonista de TNF- $\alpha$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso PEGilado (PEG-CIFN) que contiene una cantidad de aproximadamente 4  $\mu$ g a aproximadamente 60  $\mu$ g de peso de aminoácido CIFN por dosis de PEG-CIFN, por vía subcutánea una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, o mensualmente, en combinación con una dosificación de un antagonista de TNF- $\alpha$  que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1  $\mu$ g a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  de consenso PEGilado y una cantidad eficaz de un antagonista de TNF- $\alpha$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso PEGilado (PEG-CIFN) que contiene una cantidad de aproximadamente 18  $\mu$ g a aproximadamente 24  $\mu$ g de peso de aminoácido CIFN por dosis de PEG-CIFN, por vía subcutánea una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, o mensualmente, en combinación con una dosificación de un antagonista de TNF- $\alpha$  que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1  $\mu$ g a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  2a o 2b o 2c y una cantidad eficaz de un antagonista de TNF- $\alpha$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de IFN- $\alpha$  2a, 2b o 2c que contiene una cantidad de aproximadamente 1 MU a aproximadamente 20 MU de fármaco por dosis de IFN- $\alpha$  2a, 2b o 2c por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de un antagonista de TNF- $\alpha$  que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1  $\mu$ g a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  2a o 2b o 2c y una cantidad eficaz de un antagonista de TNF- $\alpha$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de IFN- $\alpha$  2a, 2b o 2c que contiene una cantidad de aproximadamente 3 MU de fármaco por dosis de IFN- $\alpha$  2a, 2b o 2c por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de un antagonista de TNF- $\alpha$  que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1  $\mu$ g a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  2a o 2b o 2c y una cantidad eficaz de un antagonista de TNF- $\alpha$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de IFN- $\alpha$  2a, 2b o 2c que contiene una cantidad de aproximadamente 10 MU de fármaco por dosis de IFN- $\alpha$  2a, 2b o 2c por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, en combinación con una dosificación de un antagonista de TNF- $\alpha$  que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1  $\mu$ g a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  2a PEGASYS® pegilado y una cantidad eficaz de un antagonista de TNF- $\alpha$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de PEGASYS® que contiene una cantidad de aproximadamente 90  $\mu$ g a aproximadamente 360  $\mu$ g, de fármaco por dosis de PEGASYS®, por vía subcutánea una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, o mensualmente, en combinación con una dosificación de un antagonista de TNF- $\alpha$  que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1  $\mu$ g a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$  2a PEGASYS® PEGilado y una cantidad eficaz de un antagonista de TNF- $\alpha$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de PEGASYS® que contiene una cantidad de aproximadamente 180  $\mu$ g, de fármaco por dosis de PEGASYS®, por vía subcutánea una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces al mes, o mensualmente, en combinación con una dosificación de un antagonista de TNF- $\alpha$  que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1  $\mu$ g a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados

- para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$ 2b PEG-INTRON® PEGilado y una cantidad eficaz de un antagonista de TNF- $\alpha$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de PEG-INTRON® que contiene una cantidad de aproximadamente 0,75  $\mu$ g a aproximadamente 3,0  $\mu$ g de fármaco por kilogramo de peso corporal por dosis de PEG-INTRON®, por vía subcutánea una vez a la semana,
- 5 cada dos semanas, tres veces al mes, o mensualmente, en combinación con una dosificación de un antagonista de TNF- $\alpha$  que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1  $\mu$ g a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.
- 10 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente modificados para usar una cantidad eficaz de IFN- $\alpha$ 2b PEG-INTRON® PEGilado y una cantidad eficaz de un antagonista de TNF- $\alpha$  en el tratamiento de una infección viral en un paciente que comprende administrar al paciente una dosificación de PEG-INTRON® que contiene una cantidad de aproximadamente 1,5  $\mu$ g de fármaco por kilogramo de peso corporal por dosis de PEG-INTRON®, por vía subcutánea una vez a la semana, cada dos semanas, tres veces
- 15 al mes, o mensualmente, en combinación con una dosificación de un antagonista de TNF- $\alpha$  que contiene una cantidad de aproximadamente 0,1  $\mu$ g a aproximadamente 40 mg por dosis de un antagonista de TNF- $\alpha$ , por vía subcutánea una vez al día, cada dos días, tres veces a la semana, o dos veces a la semana, o al día de manera sustancialmente continua o de manera continua, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.
- 20 Terapias de combinación con otros agentes antivirales
- Otros agentes tales como inhibidores de la helicasa NS3 de VHC también son fármacos atractivos para la terapia de combinación, y se contemplan para su uso en terapias de combinación descritas en el presente documento. Ribozimas tales como Heptazyme™ y oligonucleótidos de fosforotioato que son complementarios a secuencias de proteínas de VHC y que inhiben la expresión de proteínas del núcleo viral también son adecuados para su uso en
- 25 terapias de combinación descritas en el presente documento.
- En algunas realizaciones, el(los) agente(s) antiviral(es) adicional(es) se administra(n) durante todo el ciclo del tratamiento con el compuesto inhibidor de NS3 de la invención, y el comienzo y final de los periodos de tratamiento coinciden. En otras realizaciones, el(los) agente(s) antiviral(es) adicional(es) se administra(n) durante un periodo de tiempo que se solapa con el del tratamiento con compuesto inhibidor de NS3, por ejemplo, el tratamiento con el(los) agente(s) antiviral(es) adicional(es) comienza antes de que comience el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3 y termina antes de que termine el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3; el tratamiento con el(los) agente(s) antiviral(es) adicional(es) comienza después de que comience el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3 y termina después de que termine el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3; el tratamiento con el(los) agente(s) antiviral(es) adicional(es) comienza después de que comience el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3 y termina antes de que termine el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3; o el tratamiento con el(los) agente(s) antiviral(es) adicional(es) comienza antes de que comience el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3 empiece y termina después de que termine el tratamiento con compuesto inhibidor de NS3.
- 30 El compuesto inhibidor de NS3 puede administrarse junto con (es decir, simultáneamente en formulaciones separadas; simultáneamente en la misma formulación; administrarse en formulaciones separadas y en el plazo de aproximadamente 48 horas, en el plazo de aproximadamente 36 horas, en el plazo de aproximadamente 24 horas, en el plazo de aproximadamente 16 horas, en el plazo de aproximadamente 12 horas, en el plazo de aproximadamente 8 horas, en el plazo de aproximadamente 4 horas, en el plazo de aproximadamente 2 horas, en el plazo de aproximadamente 1 hora, en el plazo de aproximadamente 30 minutos, o en el plazo de aproximadamente 15 minutos o menos) uno o más agentes antivirales adicionales.
- 40 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de IFN- $\alpha$  puede modificarse para reemplazar la pauta de IFN- $\alpha$  objeto por una pauta de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que comprende administrar una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 100  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.
- 45 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de IFN- $\alpha$  puede modificarse para reemplazar la pauta de IFN- $\alpha$  objeto por una pauta de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que comprende administrar una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 150  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.
- 50 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de IFN- $\alpha$  puede modificarse para reemplazar la pauta de IFN- $\alpha$  objeto por una pauta de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que comprende administrar una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 200  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8
- 55

días, o una vez cada 10 días durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de IFN- $\alpha$  puede modificarse para reemplazar la pauta de IFN- $\alpha$  objeto por una pauta de interferón alfacon-1 INFERGEN® que comprende administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez al día o tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de IFN- $\alpha$  puede modificarse para reemplazar la pauta de IFN- $\alpha$  objeto por una pauta de interferón alfacon-1 INFERGEN® que comprende administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez al día o tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de IFN- $\gamma$  puede modificarse para reemplazar la pauta de IFN- $\gamma$  objeto por una pauta de IFN- $\gamma$  que comprende administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 25  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de IFN- $\gamma$  puede modificarse para reemplazar la pauta de IFN- $\gamma$  objeto por una pauta de IFN- $\gamma$  que comprende administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 50  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de IFN- $\gamma$  puede modificarse para reemplazar la pauta de IFN- $\gamma$  objeto por una pauta de IFN- $\gamma$  que comprende administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 100  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  que comprende: (a) administrar una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 100  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días; y (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 50  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de antagonista de TNF objeto por una pauta de antagonista de TNF que comprende administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado del grupo de: (a) etanercept en una cantidad de 25 mg de fármaco por dosis por vía subcutánea dos veces a la semana, (b) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por dosis por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después, o (c) adalimumab en una cantidad de 40 mg de fármaco por dosis por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada 2 semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  que comprende: (a) administrar una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 100  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días; y (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 100  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  que comprende: (a) administrar una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 150  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días; y (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 50  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  que comprende: (a) administrar una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 150  $\mu\text{g}$  de fármaco por dosis, por vía



subcutánea tres veces a la semana; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

5 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  que comprende: (a) administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 25  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

10 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  que comprende: (a) administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15 5  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 50  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

15 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  que comprende: (a) administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 100  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

20 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  que comprende: (a) administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez al día; y (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 25  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

25 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  que comprende: (a) administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez al día; y (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 50  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

30 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  que comprende: (a) administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez al día; y (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 100  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

35 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 100  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días; (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 100  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (c) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

40 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de

IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 100  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días; (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 50  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (c) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

10 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 150  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días; (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 50  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (c) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

20 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 150  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días; (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 100  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (c) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

25 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 200  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días; (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 50  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (c) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

35 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 200  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días; (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 100  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (c) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

45 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 25  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (c) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía

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

5 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y un antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que  
10 contiene una cantidad de 50  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (c) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del  
15 tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y un antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que  
20 contiene una cantidad de 100  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (c) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del  
25 tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF que  
30 comprende: (a) administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez al día; (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 25  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (c) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía  
35 intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF que  
40 comprende: (a) administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez al día; (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 50  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (c) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea  
45 dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF que  
50 comprende: (a) administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez al día; (b) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 100  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (c) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea  
55 dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.



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

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN-α y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN-α y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN-α y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de IFN-α de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 100 µg de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días; y (b) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN-α y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN-α y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN-α y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de IFN-α de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 150 µg de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días; y (b) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN-α y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN-α y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN-α y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de IFN-α de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) que contiene una cantidad de 200 µg de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana, una vez cada 8 días, o una vez cada 10 días; y (b) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN-α y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN-α y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN-α y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 9 µg de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez al día o tres veces a la semana; y (b) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN-α y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN-α y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN-α y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de interferón alfacon-1 INFERGEN® que contiene una cantidad de 15 µg de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez al día o tres veces a la semana; y (b) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN-γ y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN-γ y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN-γ y antagonista de TNF que comprende: (a)

5 administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 25  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (b) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

10 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 50  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (b) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

15 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de combinación de IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF puede modificarse para reemplazar la pauta de combinación de IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF objeto por una pauta de combinación de IFN- $\gamma$  y antagonista de TNF que comprende: (a) administrar una dosificación de IFN- $\gamma$  que contiene una cantidad de 100  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea tres veces a la semana; y (b) administrar una dosificación de un antagonista de TNF seleccionado de (i) etanercept en una cantidad de 25 mg por vía subcutánea dos veces a la semana, (ii) infliximab en una cantidad de 3 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía intravenosa en las semanas 0, 2 y 6, y cada 8 semanas después o (iii) adalimumab en una cantidad de 40 mg por vía subcutánea una vez a la semana o una vez cada dos semanas; durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

20 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que incluye una pauta de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) puede modificarse para reemplazar la pauta de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) por una pauta de peginterferón alfa-2a que comprende administrar una dosificación de peginterferón alfa-2a que contiene una cantidad de 180  $\mu$ g de fármaco por dosis, por vía subcutánea una vez a la semana durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

25 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que incluye una pauta de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) puede modificarse para reemplazar la pauta de IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) por una pauta de peginterferón alfa-2b que comprende administrar una dosificación de peginterferón alfa-2b que contiene una cantidad de 1,0  $\mu$ g a 1,5  $\mu$ g de fármaco por kilogramo de peso corporal por dosis, por vía subcutánea una vez o dos veces a la semana durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

30 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente puede modificarse para incluir la administración de una dosificación de ribavirina que contiene una cantidad de 400 mg, 800 mg, 1000 mg o 1200 mg de fármaco por vía oral al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

35 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente puede modificarse para incluir la administración de una dosificación de ribavirina que contiene (i) una cantidad de 1000 mg de fármaco por vía oral al día para pacientes que tienen un peso corporal inferior a 75 kg o (ii) una cantidad de 1200 mg de fármaco por vía oral al día para pacientes que tienen un peso corporal superior o igual a 75 kg, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

40 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente puede modificarse para reemplazar la pauta de inhibidor de NS3 objeto por una pauta de inhibidor de NS3 que comprende administrar una dosificación de 0,01 mg a 0,1 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía oral al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

45 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente puede modificarse para reemplazar la pauta de inhibidor de NS3 objeto por una pauta de inhibidor de NS3 que comprende administrar una dosificación de 0,1 mg a 1 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía oral al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

50 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente puede modificarse para reemplazar la pauta de inhibidor de NS3 objeto por una pauta de inhibidor de NS3 que comprende administrar una dosificación de 1 mg a 10 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía oral al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

55 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente puede modificarse para reemplazar la

pauta de inhibidor de NS3 objeto por una pauta de inhibidor de NS3 que comprende administrar una dosificación de 10 mg a 100 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía oral al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

5 Como ejemplos no limitativos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de inhibidor de NS5B puede modificarse para reemplazar la pauta de inhibidor de NS5B objeto por una pauta de inhibidor de NS5B que comprende administrar una dosificación de 0,01 mg a 0,1 1 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía oral al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

10 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de inhibidor de NS5B puede modificarse para reemplazar la pauta de inhibidor de NS5B objeto por una pauta de inhibidor de NS5B que comprende administrar una dosificación de 0,1 mg a 1 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía oral al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

15 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de inhibidor de NS5B puede modificarse para reemplazar la pauta de inhibidor de NS5B objeto por una pauta de inhibidor de NS5B que comprende administrar una dosificación de 1 mg a 10 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía oral al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

20 Como ejemplos, cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente que caracterizan una pauta de inhibidor de NS5B puede modificarse para reemplazar la pauta de inhibidor de NS5B objeto por una pauta de inhibidor de NS5B que comprende administrar una dosificación de 10 mg a 100 mg de fármaco por kilogramo de peso corporal por vía oral al día, opcionalmente en dos o más dosis divididas al día, durante la duración deseada del tratamiento con un compuesto inhibidor de NS3.

#### *Identificación de pacientes*

25 En determinadas realizaciones, la pauta específica de terapia farmacológica usada en el tratamiento del paciente con VHC se selecciona de acuerdo con ciertos parámetros de la enfermedad presentados por el paciente, tales como la carga viral inicial, el genotipo de la infección por VHC en el paciente, la histología hepática y/o la fase de fibrosis hepática en el paciente.

30 Así, en algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC en los que el procedimiento objeto se modifica para tratar a un paciente con fracaso terapéutico durante una duración de 48 semanas.

En otras realizaciones, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para VHC en los que el procedimiento objeto se modifica para tratar a un paciente que no responde al tratamiento, en el que el paciente recibe un ciclo de terapia de 48 semanas.

35 En otras realizaciones, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC en los que el procedimiento objeto se modifica para tratar a un paciente que recae, en el que el paciente recibe un ciclo de terapia de 48 semanas.

40 En otras realizaciones, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC en los que el procedimiento objeto se modifica para tratar a un paciente sin tratamiento previo infectado con VHC genotipo 1, en el que el paciente recibe un ciclo de terapia de 48 semanas.

En otras realizaciones, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC en los que el procedimiento objeto se modifica para tratar a un paciente sin tratamiento previo infectado con VHC genotipo 4, en el que el paciente recibe un ciclo de terapia de 48 semanas.

45 En otras realizaciones, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC en los que el procedimiento objeto se modifica para tratar a un paciente sin tratamiento previo infectado con VHC genotipo 1, en el que el paciente tiene una alta carga viral (HVL), donde "HVL" se refiere a una carga viral de VHC superior a  $2 \times 10^6$  copias de genoma de VHC por ml de suero, y en el que el paciente recibe un ciclo de terapia de 48 semanas.

50 En una realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene fibrosis hepática en fase avanzada o grave tal como se mide mediante una puntuación de Knodell de 3 o 4 y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 60 semanas, o de aproximadamente 30 semanas a aproximadamente un año, o de aproximadamente 36 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 48 semanas, o al menos

55

aproximadamente 24 semanas, o al menos aproximadamente 30 semanas, o al menos aproximadamente 36 semanas, o al menos aproximadamente 40 semanas, o al menos aproximadamente 48 semanas, o al menos aproximadamente 60 semanas.

5 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene fibrosis hepática en fase avanzada o grave tal como se mide mediante una puntuación de Knodell de 3 o 4 y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 50 semanas, o aproximadamente 48 semanas.

10 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene una infección por VHC genotipo 1 y una carga viral inicial superior a 2 millones de copias de genoma viral por ml de suero del paciente y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 60 semanas, o de aproximadamente 30 semanas a aproximadamente un año, o de aproximadamente 36 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 48 semanas, o al menos aproximadamente 24 semanas, o al menos aproximadamente 30 semanas, o al menos aproximadamente 36 semanas, o al menos aproximadamente 40 semanas, o al menos aproximadamente 48 semanas, o al menos aproximadamente 60 semanas.

20 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene una infección por VHC genotipo 1 y una carga viral inicial superior a 2 millones de copias de genoma viral por ml de suero del paciente y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 50 semanas, o aproximadamente 48 semanas.

30 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene una infección por VHC genotipo 1 y una carga viral inicial superior a 2 millones de copias de genoma viral por ml de suero del paciente y sin fibrosis hepática o en fase temprana tal como se mide mediante una puntuación de Knodell de 0, 1 o 2 y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 60 semanas, o de aproximadamente 30 semanas a aproximadamente un año, o de aproximadamente 36 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 48 semanas, o al menos aproximadamente 24 semanas, o al menos aproximadamente 30 semanas, o al menos aproximadamente 36 semanas, o al menos aproximadamente 40 semanas, o al menos aproximadamente 48 semanas, o al menos aproximadamente 60 semanas.

40 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene una infección por VHC genotipo 1 y una carga viral inicial superior a 2 millones de copias de genoma viral por ml de suero del paciente y sin fibrosis hepática o en fase temprana tal como se mide mediante una puntuación de Knodell de 0, 1 o 2 y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 50 semanas, o aproximadamente 48 semanas.

45 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene una infección por VHC genotipo 1 y una carga viral inicial inferior o igual a 2 millones de copias de genoma viral por ml de suero del paciente y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de aproximadamente 20 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 48 semanas, o de aproximadamente 30 semanas a aproximadamente 40 semanas, o a aproximadamente 20 semanas, o a aproximadamente 24 semanas, o a aproximadamente 30 semanas, o a aproximadamente 36 semanas, o a aproximadamente 48 semanas.

55 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene una infección por VHC genotipo 1 y una carga viral inicial inferior o igual a 2 millones de copias de genoma viral por ml de suero del paciente y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de aproximadamente 20 semanas a aproximadamente 24 semanas.

En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el

5 tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene una infección por VHC genotipo 1 y una carga viral inicial inferior o igual a 2 millones de copias de genoma viral por ml de suero del paciente y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 48 semanas.

10 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene una infección por VHC genotipo 2 o 3 y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 60 semanas, o de aproximadamente 30 semanas a aproximadamente un año, o de aproximadamente 36 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 48 semanas, o al menos aproximadamente 24 semanas, o al menos aproximadamente 30 semanas, o al menos aproximadamente 36 semanas, o al menos aproximadamente 40 semanas, o al menos aproximadamente 48 semanas, o al menos aproximadamente 60 semanas.

15 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene una infección por VHC genotipo 2 o 3 y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de aproximadamente 20 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 48 semanas, o de aproximadamente 30 semanas a aproximadamente 40 semanas, o hasta aproximadamente 20 semanas, o hasta aproximadamente 24 semanas, o hasta aproximadamente 30 semanas, o hasta aproximadamente 36 semanas, o hasta aproximadamente 48 semanas.

20 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene una infección por VHC genotipo 2 o 3 y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de aproximadamente 20 semanas a aproximadamente 24 semanas.

30 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene una infección por VHC genotipo 2 o 3 y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de al menos aproximadamente 24 semanas.

35 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene una infección por VHC genotipo 1 o 4 y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 60 semanas, o de aproximadamente 30 semanas a aproximadamente un año, o de aproximadamente 36 semanas a aproximadamente 50 semanas, o de aproximadamente 40 semanas a aproximadamente 48 semanas, o al menos aproximadamente 24 semanas, o al menos aproximadamente 30 semanas, o al menos aproximadamente 36 semanas, o al menos aproximadamente 40 semanas, o al menos aproximadamente 48 semanas, o al menos aproximadamente 60 semanas.

45 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene una infección por VHC caracterizada por cualquiera de los genotipos 5, 6, 7, 8 y 9 de VHC y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de aproximadamente 20 semanas a aproximadamente 50 semanas.

50 En otra realización, la divulgación proporciona cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente para el tratamiento de una infección por VHC, en los que el procedimiento objeto se modifica para incluir las etapas de (1) identificar un paciente que tiene una infección por VHC caracterizada por cualquiera de los genotipos 5, 6, 7, 8 y 9 de VHC y a continuación (2) administrar al paciente la terapia farmacológica del procedimiento objeto durante un periodo de tiempo de al menos aproximadamente 24 semanas y a aproximadamente 48 semanas.

#### **SUJETOS ADECUADOS PARA EL TRATAMIENTO**

55 Cualquiera de las pautas de tratamiento anteriores puede administrarse a individuos a los que se les ha diagnosticado una infección por VHC. Cualquiera de las pautas de tratamiento anteriores puede administrarse a individuos en los que el tratamiento previo para la infección por VHC ha fracasado ("pacientes con fracaso en el tratamiento", incluyendo los que no responden al tratamiento y los que recaen).

Individuos a los que se les ha diagnosticado que están infectados con VHC son de particular interés en muchas realizaciones. Se identifican individuos que están infectados con VHC porque tienen ARN de VHC en su sangre, y/o

tienen anticuerpo anti-VHC en su suero. Tales individuos incluyen individuos positivos para ELISA anti-VHC, e individuos con un ensayo de inmunotransferencia recombinante (RIBA) positivo. Además, tales individuos pueden tener, aunque no necesariamente, niveles elevados de ALT sérica.

- 5 Los individuos a los que se les ha diagnosticado que están infectados con VHC incluyen individuos sin tratamiento previo (por ejemplo, individuos no tratados con anterioridad para el VHC, particularmente aquellos que no han recibido anteriormente tratamiento a base de IFN- $\alpha$ /o a base de ribavirina) e individuos en los que ha fracasado el tratamiento previo para el VHC (pacientes con "fracaso en el tratamiento"). Los pacientes con fracaso en el tratamiento incluyen los que no responden al tratamiento (es decir, individuos en los que el título de VHC no se redujo significativa o suficientemente mediante un tratamiento previo para el VHC, por ejemplo, una monoterapia de IFN- $\alpha$  previa, una terapia de combinación de IFN- $\alpha$  y ribavirina previa, o una terapia de combinación de IFN- $\alpha$  pegilado y ribavirina previa); y los que recaen (es decir, individuos que se trataron anteriormente para el VHC, por ejemplo, los que recibieron una monoterapia de IFN- $\alpha$  previa, una terapia de combinación de IFN- $\alpha$  y ribavirina previa, o una terapia de combinación IFN- $\alpha$  pegilado y ribavirina previa, cuyo título de VHC disminuyó, y posteriormente aumentó).
- 10
- 15 En realizaciones particulares de interés, los individuos pueden tener un título de VHC de al menos aproximadamente  $10^5$ , al menos aproximadamente  $5 \times 10^5$ , o al menos aproximadamente  $10^6$ , o al menos aproximadamente  $2 \times 10^6$ , copias de genoma de VHC por mililitro de suero. El paciente puede estar infectado con cualquier genotipo del VHC (genotipo 1, incluyendo 1 a y 1b, 2, 3, 4, 6, etc. y subtipos (por ejemplo, 2a, 2b, 3a, etc.)), particularmente un genotipo difícil de tratar tal como el genotipo 1 del VHC y subtipos del VHC particulares y cuasiespecies.
- 20 También son de interés individuos positivos al VHC (tal como se ha descrito anteriormente) que presentan fibrosis grave o cirrosis temprana (no descompensada, clase A o menos de Child-Pugh), o cirrosis más avanzada (descompensada, clase B o C de Child-Pugh) debida a infección crónica por VHC y que son virémicos a pesar del tratamiento antiviral previo con terapias a base de IFN- $\alpha$  o que no pueden tolerar las terapias a base de IFN- $\alpha$ , o que tienen una contraindicación para tales terapias. En realizaciones particulares de interés, individuos positivos al VHC con fibrosis hepática en fase 3 o 4 según el sistema de puntuación METAVIR son adecuados para el tratamiento con los procedimientos de la presente invención. En otras realizaciones, individuos adecuados para el tratamiento con los procedimientos de la presente invención son pacientes con cirrosis descompensada con manifestaciones clínicas, incluyendo pacientes con cirrosis hepática muy avanzada, incluyendo aquellos que están esperando un trasplante de hígado. Aun en otras realizaciones, los individuos adecuados para el tratamiento con los procedimientos de la presente invención incluyen pacientes con grados más leves de fibrosis incluyendo aquellos con fibrosis temprana (fases 1 y 2 en los sistemas de puntuación METAVIR, Ludwig y Scheuer; o fases 1, 2 o 3 en el sistema de puntuación Ishak.).
- 25
- 30

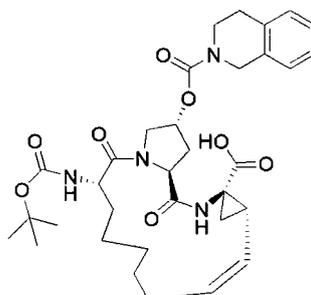
### PREPARACIÓN DE INHIBIDORES DE NS3

#### Metodología

#### 35 Preparación de compuestos con una estructura general

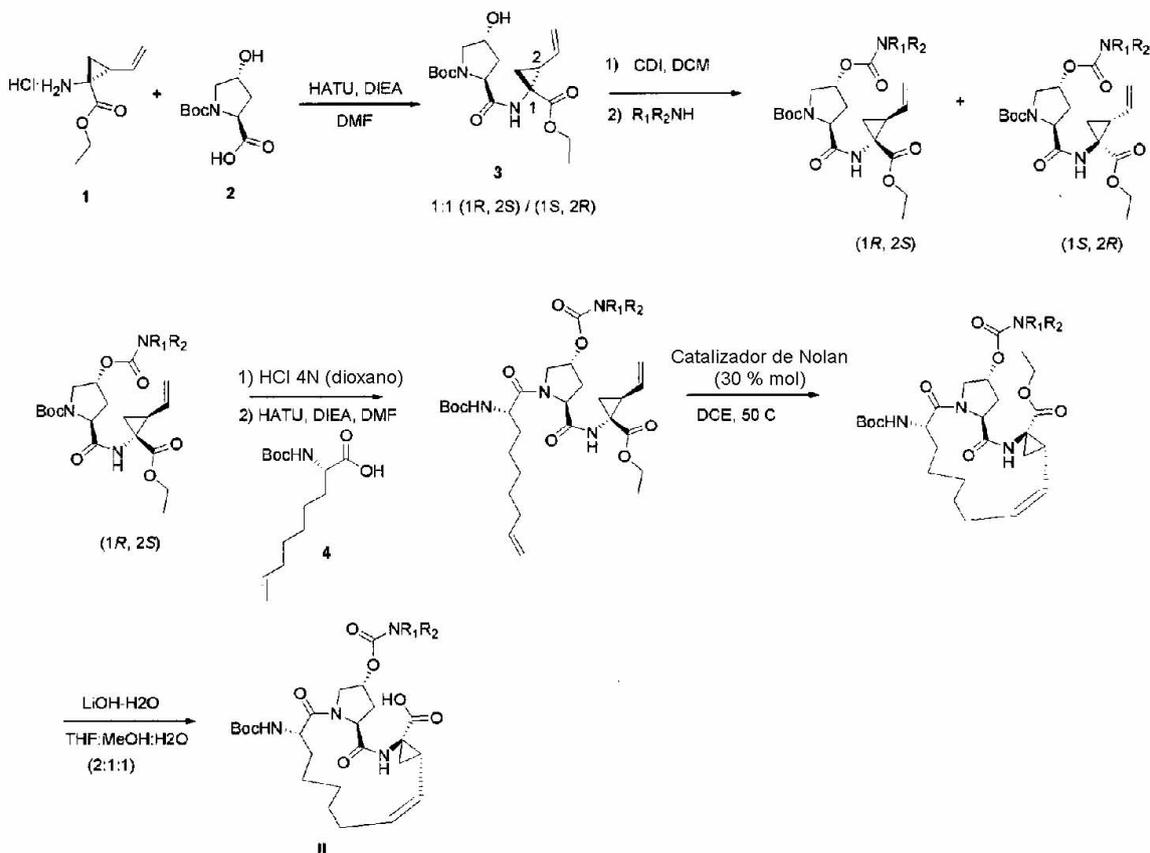
Se usaron dos procedimientos para preparar compuestos con una estructura general. En ambos procedimientos, los intermedios **1** y **4** se prepararon de acuerdo con procedimientos divulgados en la solicitud internacional PCT/CA00/00353 (número de publicación WO 00/59929). El intermedio **4** también se adquirió de RSP Amino Acids.

40 Ejemplo 1-1: (no de acuerdo con la presente invención) Síntesis del compuesto n.º 101 (compuesto AR00220042) por el procedimiento A:

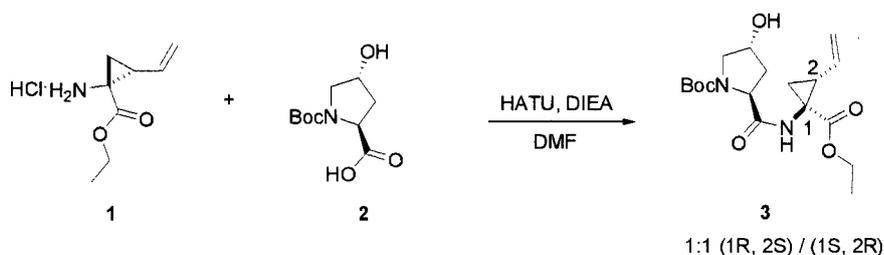


Compuesto n.º. 101 (Compuesto AR00220042)

#### Procedimiento A:

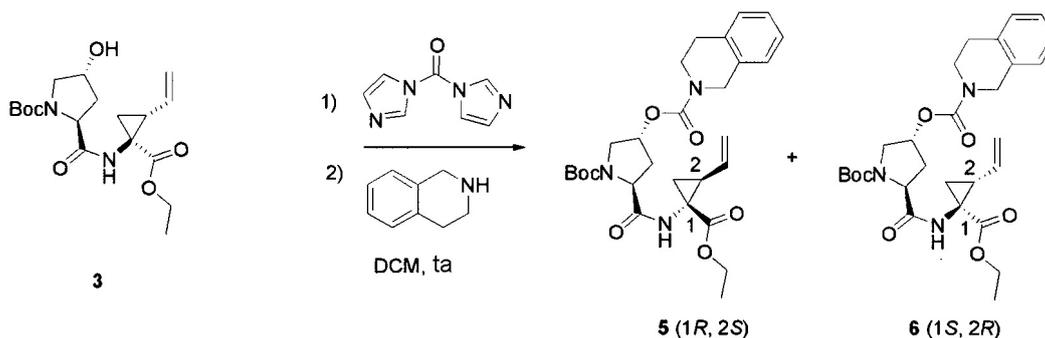


**Etapa 1: Síntesis de éster terc-butílico del ácido 2S-(1-etoxicarbonil-2-vinil-ciclopropilcarbamoil)-4R- hidroxipirrolidin-1-carboxílico (3)**



- 5 A un matraz cargado con carboxilato de etil-(1R, 2S)/(1S, 2R)-1-amino-2-vinilciclopropilo (**1**, 1,0 g, 5,2 mmol), *trans*-N-(*tert*-butoxicarbonil)-4-hidroxi-L-prolina (**2**, 1,3 g, 1,1 equiv) y HATU (2,7 g, 1,1 equiv) se le añadieron 30 ml de DMF para preparar una solución. Se enfrió hasta 0 °C en un baño de agua y hielo, seguido de la adición lenta de una solución de DIEA (4,4 ml, 4 equiv) en DMF (15 ml) mientras se agitaba. Se dejó que la reacción se calentara hasta TA y se agitó durante toda la noche.
- 10 Después de 16 h se completó la reacción monitorizada por HPLC. Se diluyó con EtOAc (100 ml), se lavó con agua (3 × 40 ml), NaHCO<sub>3</sub> saturado (2 × 40 ml), y salmuera (2 × 40 ml), después se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para dar un aceite de color cobre oscuro. Se purificó el producto bruto en gel de sílice (eluyente: acetona/hexanos 3:7), dando **3** puro como un polvo espumoso de color canela (770 mg, 32 %).

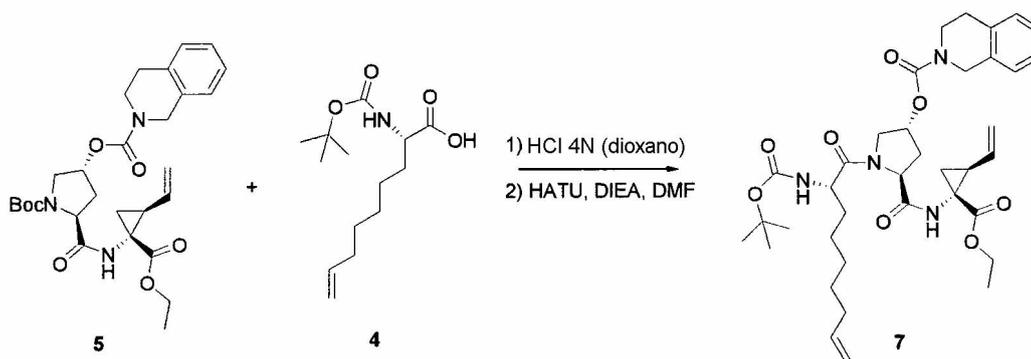
- 15 **Etapa 2: Síntesis de éster 1-terc-butoxicarbonil-5-(1R-etoxicarbonil-2S-vinil-ciclopropilcarbamoil) -pirrolidin-3R-ílico del ácido 3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (5), y éster 1-terc-butoxicarbonil-5-(1S-etoxicarbonil-2R-vinil-ciclopropilcarbamoil)-pirrolidin-3R-ílico del ácido 3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (6)**



Se disolvió el dipéptido **3** (300 mg, 0,81 mmol) en DCM (8 ml), seguido de la adición de CDI (163 mg, 1,2 equiv) en una porción. Se agitó la reacción a TA durante toda la noche. Después de 15 h se completó la reacción monitorizada por TLC (DCM/MeOH 9:1). Se añadió 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (0,32 ml, 3 equiv) a la reacción en porciones, y se agitó la reacción a TA durante toda la noche.

Después de 22 h, la TLC mostró la terminación de la reacción. Se diluyó la reacción con DCM (15 ml) y se lavó con HCl ac. 1 N (15 ml), salmuera (15 ml), se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se concentró. Se purificó el producto bruto en gel de sílice (eluyente: DCM/Et<sub>2</sub>O/acetona 30:10:1). El punto superior aislado (**5**) fue polvo espumoso de color blanco (169 mg, 40 %), y el punto inferior (**6**) fue un sólido blanco (156 mg, 38 %). EM m/e 550 ( $\text{M}^+\text{+Na}$ ).

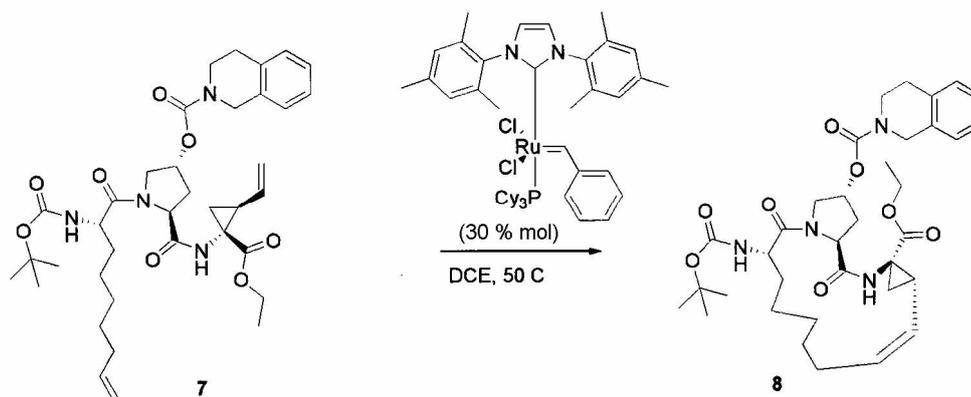
10 **Etapa 3: Síntesis de éster 1-(2S-terc-butoxicarbonilamino -non-8-enoil)-5-(1R-etoxicarbonil-2S-vinil-ciclopropilcarbamoil)-pirrolidino-3R-ílico del ácido 3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (7)**



Se disolvió el isómero superior **5** (118 mg, 0,22 mmol) en HCl 4 N (dioxano, 8 ml) y se dejó a TA durante 90 min para retirar el grupo protector BOC. Después, se concentró, recogiendo en acetonitrilo y se concentró de nuevo dos veces. A este residuo pardusco claro se le añadió **4** (66,8 mg, 1,1 equiv) y HATU (93,5 mg, 1,1 equiv), seguido de 2 ml de DMF bajo nitrógeno. Se enfrió la reacción en un baño de hielo-agua durante 15 min, después de esto se añadió una solución de DMF de 0,5 ml de DIEA (0,13 ml, 4 equiv) a la reacción gota a gota mientras se agitaba. Se dejó que el baño de hielo alcanzara lentamente la TA y se agitó la reacción durante toda la noche.

Después de 24 h, la reacción se volvió de color pardusco oscuro. Su TLC de alícuota mostró la terminación de la reacción. Se diluyó la mezcla con EtOAc (30 ml) y se lavó con agua (3 x 15 ml),  $\text{NaHCO}_3$  sat. (2 x 15 ml), salmuera (15 ml), se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), y se concentró para dar **7** como un residuo oleoso de color naranja (156 mg). Se usó directamente en la etapa siguiente sin purificación adicional. EM m/e 703 ( $\text{M}^+\text{+Na}$ ).

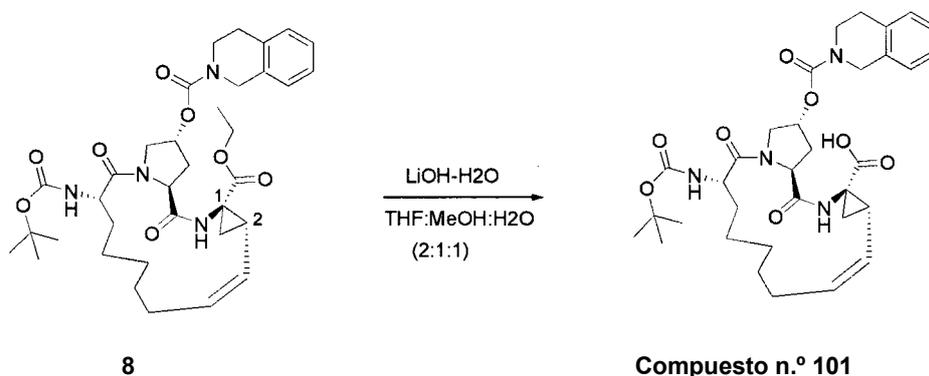
**Etapa 4: Preparación de éster etílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico**



Se disolvió el producto en bruto 7 (135 mg, 0,2 mmol) en 20 ml de DCE DriSolve para preparar una solución, seguido de la adición del catalizador de Nolan (5 mg, 0,3 equiv) a TA bajo nitrógeno. La solución se volvió morada. Se dejó la reacción sobre un baño de aceite precalentado (50 °C) y se agitó durante toda la noche.

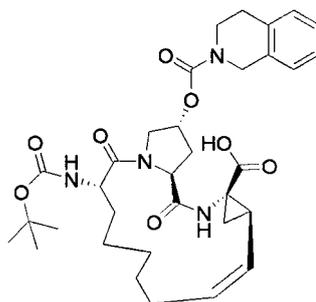
- 5 Después de 10 h, la reacción se había vuelto de color pardusco oscuro. La TLC (DCM/EtOAc 1:1) mostró una conversión limpia a un nuevo punto con un  $R_f$  ligeramente inferior. Se concentró la reacción y se purificó en gel de sílice (eluyente: DCM/EtOAc gradiente de 5:1 a 2:1), dando el producto 8 como un polvo espumoso de color canela (75 mg, 58 %). EM m/e 653,1 ( $M^+ + 1$ ).

10 **Etapa 5: Preparación del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto 101)**



- 15 Se disolvió el éster macrocíclico 8 (60 mg, 0,092 mmol) en 0,9 ml de un disolvente mezclado (THF/MeOH/H2O 2:1:1), seguido de la adición de LiOH-H2O (23 mg, 6 equiv). Se agitó la mezcla a TA durante toda la noche. Después de 18 h, la TLC (DCM/EtOAc 9:1) mostró una conversión limpia a un nuevo punto con un  $R_f$  ligeramente inferior. Se concentró la reacción casi hasta sequedad y se particionó entre HCl ac. 1 N (15 ml) y DCM (20 ml). Se extrajo la capa acuosa con DCM (2 x 10 ml). Se combinaron las capas orgánicas, se secó sobre Na2SO4 y se concentró, dando el compuesto n.º 101 como un polvo espumoso de color pardusco claro (50 mg, 87 %). RMN de 1H (CD3OD, 400 MHz)  $\delta$  1,20-1,67 (m, 21H), 1,70-1,83 (m, 1H), 1,88-2,10 (m, 1H), 2,12-2,58 (m, 4H), 2,82 (m, 2H), 3,60-3,80 (m, 2H), 3,86 (m, 1H), 4,20 (m, 1H), 4,35 (m, 1H), 4,54 (s, 7H), 4,58 (m, 3H), 5,29-5,41 (m, 2H), 5,57 (m, 1H), 7,0-7,24 (m, 4H). EM m/e 625,1 ( $M^+ + 1$ ).

Ejemplo 1-1a: (no de acuerdo con la presente invención)

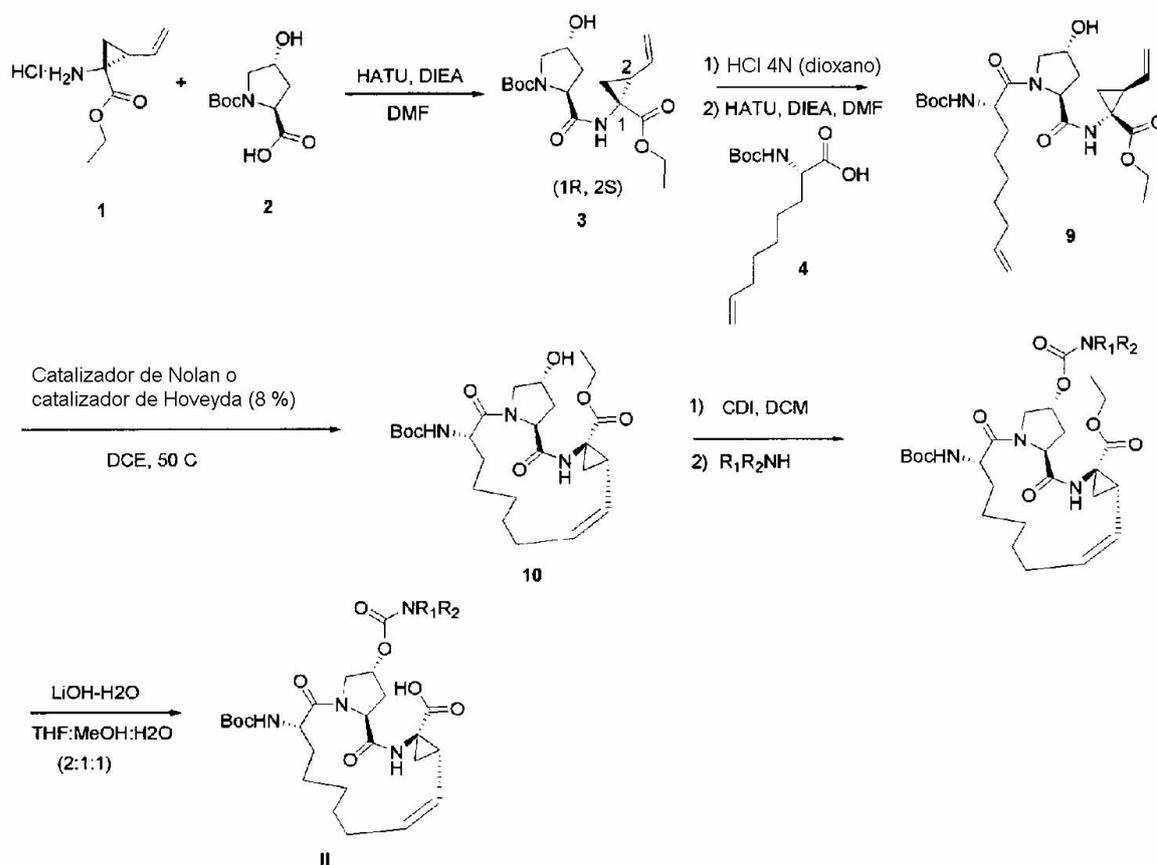


Compuesto AR00220122

5 Se preparó el ácido (1S, 4S, 6R, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00220122) se forma similar de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 1-1, sustituyendo el compuesto 5 con el 6 en la etapa 3. EM m/e 625 (M<sup>+</sup>+1).

**Ejemplo 1-2:** (no de acuerdo con la presente invención) Síntesis del compuesto n.º 101 (compuesto AR00220042) por el procedimiento B:

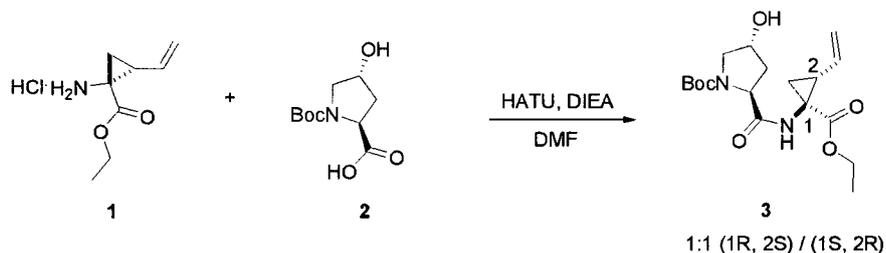
Procedimiento B:



10

El compuesto n.º 101 también se preparó de acuerdo con el procedimiento anterior. La síntesis del intermedio macrocíclico **10** descrito en el presente documento es similar al descrito en la solicitud internacional PCT/CA00/00353 (publicación n.º WO 00/59929).

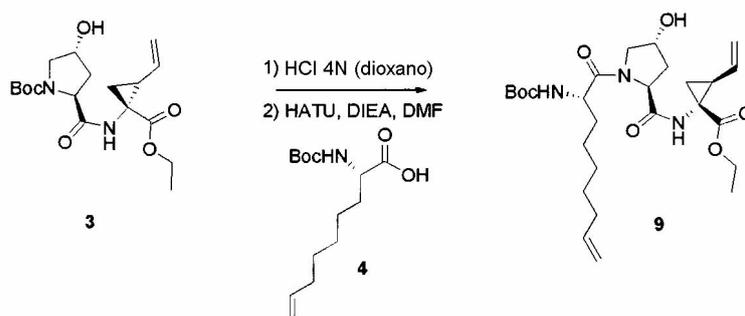
15 **Etapas 1:** Síntesis de éster terc-butílico del ácido 2S-(1-etoxicarbonil-2-vinil-ciclopropilcarbamoil)-4R-hidroxi-pirrolidin1-carboxílico (3)



A un matraz cargado con carboxilato de etil-(1R, 2S)/(1S, 2R)-1-amino-2-vinilciclopropilo (**1**, 1,0 g, 5,2 mmol), *trans*-N-(*tert*-butoxicarbonil)-4-hidroxi-L-prolina (**2**, 1,3 g, 1,1 equiv) y HATU (2,7 g, 1,1 equiv) se le añadieron 30 ml de DMF para preparar una solución. Se enfrió hasta 0 °C en un baño de agua y hielo, seguido de la adición lenta de una solución de DIEA (4,4 ml, 4 equiv) en DMF (15 ml) mientras se agitaba. Se dejó que la reacción se calentara hasta TA y se agitó durante toda una noche.

Después de 16 h, se completó la reacción monitorizada por HPLC. Se diluyó con EtOAc (100 ml), se lavó con agua (3 x 40 ml), NaHCO<sub>3</sub> saturado (2 x 40 ml), y salmuera (2 x 40 ml), después se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para dar un aceite de color cobre oscuro. Se purificó el producto bruto en gel de sílice (eluyente: acetona/hexanos 3:7), dando **3** puro como un polvo espumoso de color canela (770 mg, 32 %).

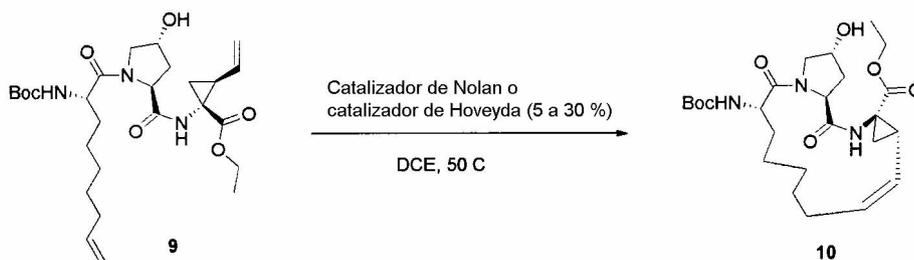
**Etapa 2: Síntesis de éster etílico del ácido 1R-[[1-(2S-*tert*-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4R-hidroxi-pirrolidina-2S-carbon-il]-(1R)-amino]-2S-vinil-ciclopropanocarboxílico (**9**)**



Se disolvió el compuesto **3** (2,85 mg, 7,7 mmol) en 10 ml de HCl 4 N (dioxano) y se dejó a TA durante 90 min para retirar el grupo protector BOC. Después, se concentró, recogiendo en acetonitrilo y se concentró de nuevo dos veces. A este residuo pardusco claro se le añadió **4** (2,2 mg, 8,1 mmol) y HATU (3,2 mg, 8,5 mmol), seguido de 80 ml de DMF bajo nitrógeno. Se enfrió la reacción en un baño de hielo-agua durante 15 min, después de esto, se añadió una solución de DMF de 5 ml de DIEA (5,4 ml, 30,9 mmol) a la reacción gota a gota mientras se agitaba. Se dejó que el baño de hielo alcanzara lentamente la TA y se agitó la reacción durante toda la noche.

Después de 18 h, la TLC mostró la terminación de la reacción. Se diluyó la reacción con EtOAc (300 ml) y se lavó con agua (3 x 150 ml), NaHCO<sub>3</sub> sat. (2 x 150 ml), salmuera (150 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se retiró el disolvente. Se purificó el producto bruto por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice en Biotage 40M (eluyente =MeOH del 3 % al 5 % en DCM) para dar **9** como un sólido espumoso pardusco (3,5 g, 87 %).

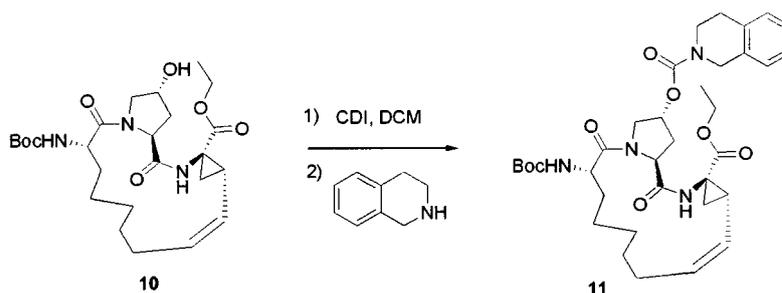
**Etapa 3: Síntesis de éster etílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-*tert*-butoxicarbonilamino-18-hidroxi-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (**10**)**



Se disolvió el compuesto **9** (2,6 g, 5,0 mmol) en 500 ml de DCE DriSolve en un matraz de fondo redondo de 1 l para preparar una solución. Se desgasificó burbujeando nitrógeno durante 1 h. Después, se añadió el catalizador de

Hoveyda (0,25 equiv) a TA bajo nitrógeno. Se dejó la reacción sobre un baño de aceite precalentado (50 °C) y se agitó durante toda la noche. Después de 16 h, la reacción se había vuelto de color pardusco oscuro. La TLC (DCM/EtOAc 1:1) mostró una conversión limpia a un nuevo punto con un  $R_f$  ligeramente inferior. Se concentró la reacción y se purificó en gel de sílice (Biotage 40 M, eluyente = DCM/EtOAc gradiente de 1:1 a 1: 2), dando el producto **10** como un polvo espumoso de color canela (0,64 g, 52 %). RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1,21 (t,  $J=7,0$  Hz, 3H), 1,43 (s, 9H), 1,20-1,50 (m, 6H), 1,53-1,68 (m, 2H), 1,83-1,96 (m, 2H), 1,98-2,28 (m, 4H), 2,60 (m, 1H), 3,13 (s.a., 1H), 3,68 (m, 1H), 3,94 (m, 1H), 4,01-4,19 (m, 2H), 4,48 (m, 1H), 4,56 (s.a., 1H), 4,79 (m, 1H), 5,26 (t,  $J=9,4$  Hz, 1H), 5,36 (d,  $J=7,8$  Hz, 1H), 5,53 (m, 1H), 7,19 (s.a., 1H). EM m/e 494,0 ( $\text{M}^++1$ ).

**Etapa 4: Síntesis de éster etílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (11)**

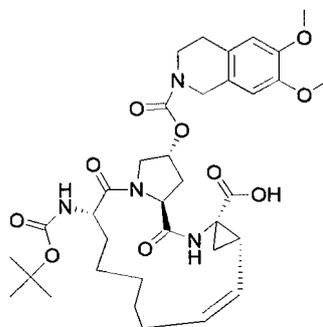


Se disolvió el intermedio macrocíclico **10** (110 mg, 0,22 mmol) en DCM (2,2 ml), seguido de la adición de CDI (45 mg, 0,27 mmol) en una porción. Se agitó la reacción a TA durante toda la noche. Después de 15 h, se completó la reacción monitorizada por TLC (DCM/MeOH 9:1). Se añadió 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (0,14 ml, 1,1 mmol) a la reacción gota a gota, y se agitó la reacción a TA durante toda la noche. Después de 22 h, la TLC mostró la terminación de la reacción. Se diluyó la reacción con DCM (6 ml) y se lavó con VHC ac. 1 N (2 x 2 ml), bicarbonato de sodio sat. (2 ml), salmuera (2 ml), se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se concentró. Se purificó el producto bruto en gel de sílice (Biotage 40S, eluyente: MeOH del 2 al 4 % en DCM), dando **11** como un polvo espumoso de color amarillento pálido (131 mg, 90 %).

**Etapa 5: Se hidrolizó el compuesto 11 de la misma forma que se describe en la etapa 5 del ejemplo 1-1 para dar el compuesto n.º 101.**

También se prepararon los siguientes compuestos de acuerdo con el procedimiento B descrito anteriormente, sustituyéndose la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina con diversas otras aminas secundarias. La mayoría de estas aminas se adquirieron a partir de fuentes comerciales, o son compuestos de la literatura conocidos, por lo tanto, se prepararon usando los procedimientos enumerados aquí (1. Stokker, G E. Tetrahedron Lett. 1996, 37(31), 5453-5456. 2. Chan, N W. Bioorganic & Medicinal Chemistry 2000, 8, 2085-2094. 3. Vecchietti, V. et al, J. Med. Chem. 1991, 34, 2624-2633.) Para estas entradas de amina que no se prepararon directamente de acuerdo con procedimientos de la literatura, o no se ha informado antes en la literatura de la entrada específica, a nuestro conocimiento, sus síntesis se dan dentro de cada ejemplo.

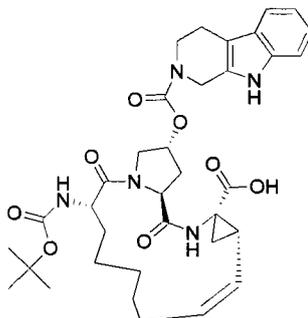
Ejemplo 1-3 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00226824

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(6,7-dimetoxi-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00226824) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. EM m/e 585,2 ( $\text{M}^++1-100$ ).

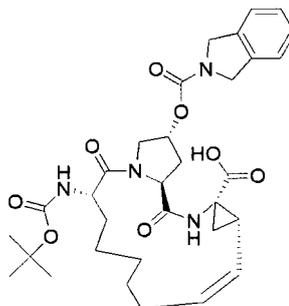
Ejemplo 1-4 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00226825

5 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-18-(1,3,4,9-tetrahydro-b-carbolin-2-carboniloxi)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00226825) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 2,3,4,9-tetrahidro-1H-b-carbolina en la etapa 4. EM m/e 564,2 (M<sup>+</sup>+100).

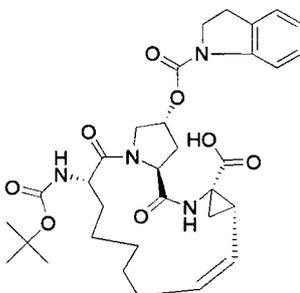
Ejemplo 1-5 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00291871

10 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(1,3-dihidro-isoindol-2- carboniloxi)-2,15-  
 15 dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00291871) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 2,3-dihidro-1H-isoindol en la etapa 4. RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 1,21-1,44 (m, 8H), 1,32 (s, 9H), 1,54-1,62 (m, 2H), 1,78-1,88 (m, 2H), 2,04-2,13 (m, 1H), 2,16-2,23 (m, 1H), 2,24-2,36 (m, 2H), 2,66-2,74 (m, 1H), 3,87-3,90 (m, 1H), 4,15 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 4,37-4,43 (m, 1H), 4,61-4,77 (m, 5H), 5,18 (t, J = 10,3 Hz, 1H), 5,24-5,31 (m, 1H), 5,40-5,45 (m, 1H), 5,58-5,66 (m, 1H), 7,11-7,30 (m, 4H). EM m/e 611,0 (M<sup>+</sup>+1).

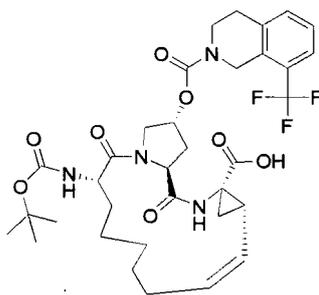
Ejemplo 1-6 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00291875

20 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(2,3-dihidro-indol-1- carboniloxi)-2,15-  
 dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00291875) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 2,3-dihidro-1H-indol en la etapa 4. EM m/e 610,9 (M<sup>+</sup>+1).

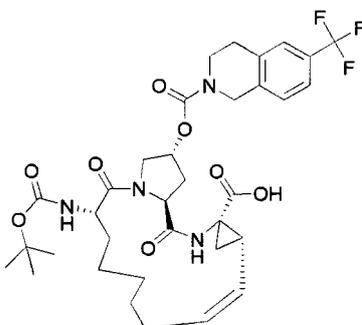
Ejemplo 1-7 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00294382

- 5 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-18-(8-trifluorometil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00294382) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 8-trifluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. EM m/e 693,0 (M<sup>+</sup>)

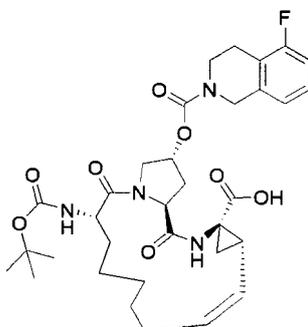
Ejemplo 1-8 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00294383

- 10 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-18-(6-trifluorometil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboniloxi)-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00294383) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 6-trifluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,46-7,38 (m, 2H), 7,26-7,18 (m, 1H), 6,98 (s, 1H), 5,62 (q, 1H), 5,42 (s, 1H), 5,21-5,15 (m, 2H), 4,78-4,60 (m, 3H), 4,40 (s, 1H), 4,16-4,00 (m, 1H), 3,92-3,81 (m, 1H), 3,80-3,60 (m, 2H), 3,00-2,85 (m, 2H), 2,72-2,64 (s.a., 1H), 2,40-1,18 (m, 20H). EM: m/e 693,0 (M<sup>+</sup>).
- 15

Ejemplo 1-9 (no de acuerdo con la presente invención):

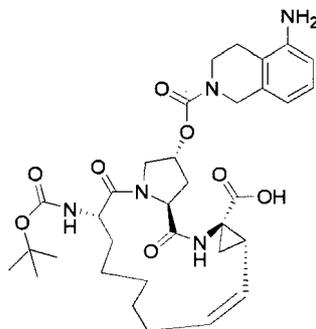


Compuesto AR00294384

- 20 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(5-fluoro-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00294384) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 5-fluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,19-7,11 (m, 1H), 7,05 (m, 1H), 6,91 (t, 2H), 5,62 (q, 1H), 5,40 (s, 1H), 5,24 (d, 1H), 5,20 (t, 1H), 4,78 (s, 1H), 4,64-4,56 (m, 2H), 4,42 (s, 1H), 4,12-4,02 (m, 1H), 3,92-3,81 (m, 1H), 3,78-3,61 (m, 2H), 2,84-2,80 (m, 2H), 2,74-2,64 (m, 1H), 2,36-2,18 (m, 2H), 1,91-1,81 (m, 2H), 1,64-1,54 (m, 2H), 1,48-1,10 (m, 15H). EM:

m/e 643,0 ( $M^+$ ).

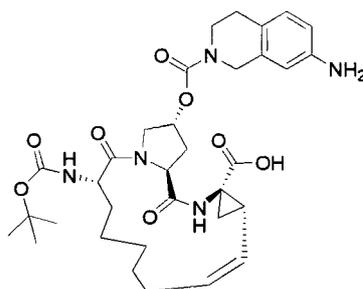
Ejemplo 1-10 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00301745

- 5 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(5-amino-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2- carboniloxi)-14-terc-butoxi-carbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00301745) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 5-amino-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. EM: m/e 640,1 ( $M^+$ ).

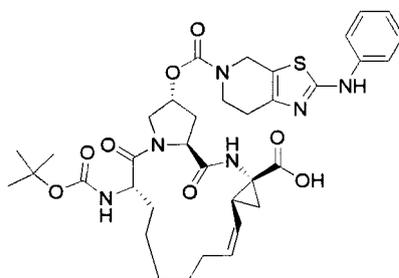
Ejemplo 1-11 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00301749

- 10 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(7-amino-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2- carboniloxi)-14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00301749) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 7-amino-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. EM: m/e 640,1 ( $M^+$ ), 641,1 ( $M^+ + 1$ )

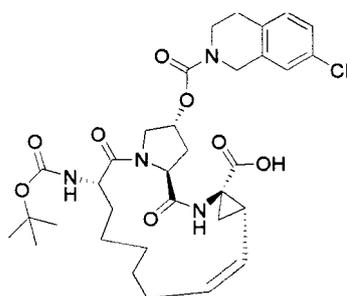
Ejemplo 1-12 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304000

- 20 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-18-(2-fenilamino-6,7-dihidro-4H-tiazolo[5,4-c] piridin-5-carboniloxi)-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304000) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó fenil-(4,5,6,7-tetrahidro-tiazolo[5,4c]piridin-2-il)-amina en la etapa 4. EM m/e 721,2 (M-1).

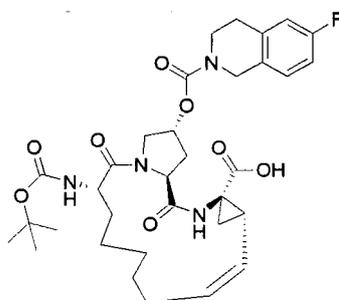
Ejemplo 1-13 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304062

- 5 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(7-cloro-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304062) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 7-cloro-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. EM m/e 659,0 (M<sup>+</sup>), 661,0 (M<sup>+</sup>+2)

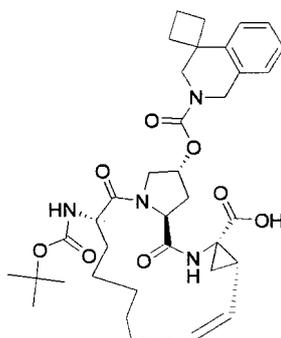
Ejemplo 1-14 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304063

- 10 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(6-fluoro-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304063) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 6-fluoro-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. EM m/e 643,0 (M<sup>+</sup>), 644,0 (M<sup>+</sup>+1)

Ejemplo 1-15 (no de acuerdo con la presente invención):

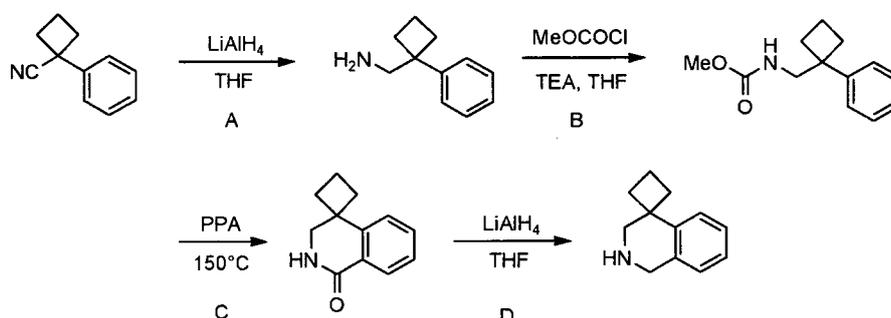


Compuesto AR00304065

- 15  
20 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(4,4-espirociclobutil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304065) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 4,4-espirociclobutil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, d<sub>6</sub>-acetona) δ 7,99 (d, 1H), 7,57-7,66 (m, 1H), 7,27 (t, 1H), 7,09-7,22 (m, 2H), 5,99 (s.a., 1H), 5,56 (dd, 1H), 5,42 (s.a., 1H), 5,19-5,30 (m, 1H), 4,52-4,70 (m, 1H), 4,27-4,42 (m, 1H), 4,17-4,27 (m, 1H), 3,91 (dd, 1H), 3,63-3,82 (m, 2H), 2,22-2,51 (m, 6H), 1,93-2,20 (m, 3H), 1,79-1,91 (m, 1H), 1,52-1,66 (m, 1H), 1,16-1,50 (m, 19H). EM: m/z 665,1 (M<sup>+</sup>+1)

Ejemplo 1-15a (no de acuerdo con la presente invención):

## Preparación de 4,4-espirociclobutil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina:

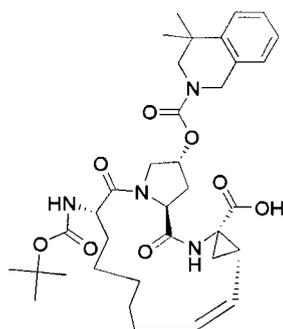


5 A: A una solución de 1-fenil-1-ciclopropano-carbonitrilo (2,00 g, 12,7 mmol) en 100 ml de THF se le añadió una solución 1,0 M de LiAlH<sub>4</sub> (19,1 ml, 19,1 mmol) gota a gota a TA. Se agitó la reacción a TA durante 15 horas, después se desactivó lentamente a 0 °C con 10 ml de H<sub>2</sub>O y después 10 ml de NaOH 1,0 N y se agitó a TA durante 1,5 horas. Se filtró la solución y se retiró el THF por evaporación rotatoria. Se extrajo la fase acuosa con EtOAc, y se lavó el extracto orgánico con H<sub>2</sub>O y salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se concentró para dar 0,70 g (34 %) de un aceite transparente que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

10 B: A una solución de C-(1-fenil-ciclobutil)-metilamina (0,70 g, 4,34 mmol) y TEA (0,67 ml, 4,78 mmol) en 40 ml de THF a 0 °C se le añadió cloruro de metilo gota a gota. Se agitó la reacción a TA durante 15 horas. Al día siguiente, se añadieron agua y EtOAc y se separó la capa orgánica y se lavó con HCl 1 N y salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se concentró hasta un aceite, y se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

15 C: Se añadió una mezcla de éster metílico del ácido (1-fenil-ciclobutilmetil)-carbámico (0,95 g, 4,34 mmol) y PPA (20 ml) a un baño de arena precalentado hasta 150 °C. Después de 30 minutos, se enfrió la reacción hasta temperatura ambiente (TA). Después de enfriar, se añadió agua gota a gota y se extrajo la solución dos veces con DCM. Se lavaron los extractos orgánicos con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se concentró hasta un aceite transparente que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

20 D: A una solución de la 3,4-dihidro-2H-isoquinolin-1-ona (0,406 g, 2,17 mmol) en 20 ml de THF a 0 °C se le añadió una solución 1,0 M de LiAlH<sub>4</sub> (3,26 ml, 3,26 mmol) gota a gota. Se dejó que la reacción se calentara hasta TA y se agitó durante 15 horas, después se desactivó lentamente a 0 °C con 5 ml de H<sub>2</sub>O y después 5 ml de NaOH 1,0 N y se agitó a TA durante 1,5 horas. Se filtró la solución y se retiró el THF por evaporación rotatoria. Se extrajo la fase acuosa con EtOAc, y se lavó el extracto orgánico con H<sub>2</sub>O y salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se concentró para dar 0,21 g (56 %) de un aceite transparente que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

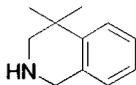
Ejemplo 1-16 (no de acuerdo con la presente invención):

25

Compuesto AR00304066

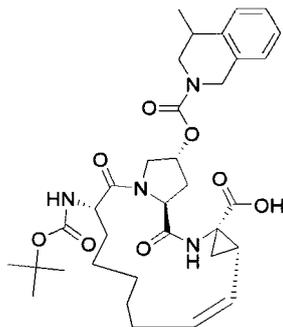
30 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(4,4-dimetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carbonilo)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304066) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 4,4-dimetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, d<sub>6</sub>-acetona) δ 7,98 (d, 1H), 7,39 (s.a., 1H), 7,09-7,24 (m, 3H), 5,99 (s.a., 1H), 5,57 (dd, 1H), 5,37-5,46 (s.a., 1H), 5,24 (dd, 1H), 4,55-4,69 (m, 1H), 4,26-4,36 (m, 1H), 4,16-4,26 (m, 1H), 3,90 (dd, 1H), 3,40-3,49 (m, 1H), 2,28-2,50 (m, 4H), 1,98-2,09 (2H), 1,79-1,92 (m, 1H), 1,52-1,65 (m, 3H), 1,16-1,51 (m, 22H). EM: m/z 653,0 (M<sup>+</sup>+1)

Ejemplo 1-16a (no de acuerdo con la presente invención):



Se preparó la 4,4-dimetil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina siguiendo la experimentación de las etapas de A a D en el ejemplo 1-15a, el 2-metil-2-fenil-propionitrilo (preparado según Caron, S.; Vazquez, E.; Wojcik, J. M. J. Am. Chem. Soc. 2000, 122, 712-713) se convirtió en el compuesto del título.

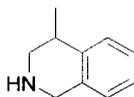
5 Ejemplo 1-17 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304067

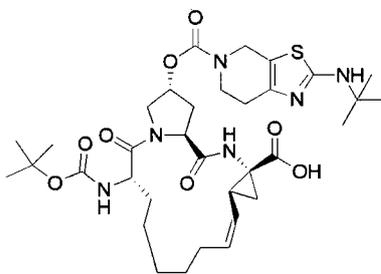
10 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(4-metil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304067) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 4-metil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, d<sub>6</sub>-acetona) δ 7,93-8,03 (m, 1H), 7,04-7,28 (m, 4H), 6,02 (s.a., 1H), 5,56 (dd, 1H), 5,40 (m, 1H), 5,23 (dd, 1H), 4,66-4,85 (m, 1H), 4,54-4,64 (m, 1H), 4,34-4,54 (m, 1H), 4,17-4,34 (m, 1H), 3,91 (dd, 1H), 3,57-3,78 (m, 1H), 3,42-3,57 (m, 1H), 2,26-2,52 (m, 4H), 1,96-2,09 (m, 2,0), 1,77-1,92 (m, 1,0), 1,50-1,64 (m, 3,0), 1,13-1,50 (m, 17h). EM: m/z 639,0 (M<sup>+</sup>+1)

15 Ejemplo 1-17a (no de acuerdo con la presente invención):



Se preparó la 4-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina a partir de 2-fenilpropilamina según Grunewald, G. L.; Sall, D. J.; Monn, J. A. J. Med. Chem. 1988, 31, 433-444.

Ejemplo 1-18 (no de acuerdo con la presente invención):

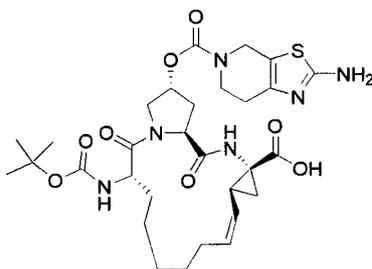


20

Compuesto AR00304103

25 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(2-terc-butilamino-6,7-dihidro-4H-tiazolo[5,4-c]piridin-5-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304103) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó terc-butil-(4,5,6,7-tetrahidro-tiazolo[5,4-c]piridin-2-il)-amina en la etapa 4. EM m/e 731,2 (M<sup>+</sup>+1).

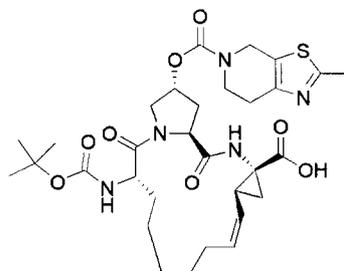
Ejemplo 1-19 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304154

- 5 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(2-amino-6,7-dihidro-4H-tiazolo[5,4-c] piridin-5-carboniloxi)-14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4 -carboxílico (compuesto AR00304154) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 4,5,6,7-tetrahidro-tiazolo[5,4-c]piridin-2-ilamina en la etapa 4. EM m/e 675,1 (M<sup>+</sup>+1).

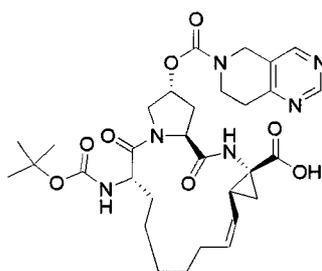
Ejemplo 1-20 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304158

- 10 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(2-metil-6,7-dihidro-4H-tiazolo[5,4-c] piridin-5-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304158) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 2-metil-4,5,6,7-tetrahidro-tiazolo[5,4-c]piridina en la etapa 4. EM m/e 546,2 (M<sup>+</sup>+1-100).

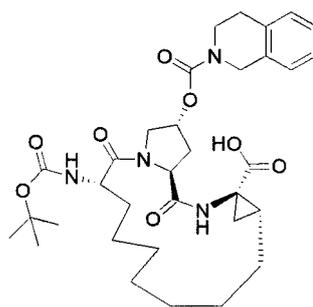
Ejemplo 1-21 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304183

- 15 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidina-6-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304183) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 5,6,7,8-tetrahidro-pirido[4,3-d]pirimidina en la etapa 4. EM m/e 625,2 (M-1).
- 20

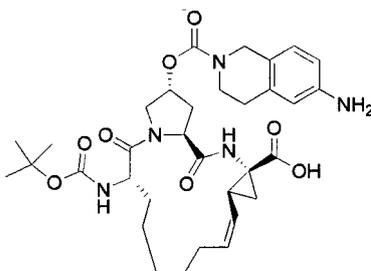
Ejemplo 1-22 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00312023

- 5 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-4-carboxílico (compuesto AR00312023) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que el producto 10 de metátesis de cierre de anillo de la etapa 3 se redujo adicionalmente con H<sub>2</sub> / Rh-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> antes de la siguiente etapa de acoplamiento (documento WO 0059929, p. 76-77). EM m/e 625,3 (M-1).

Ejemplo 1-23 (no de acuerdo con la presente invención):

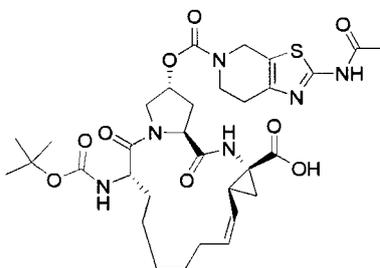


10

Compuesto AR00314578

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(6-amino-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00314578) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-6-ilamina en la etapa 4. EM (POS ESI) m/z 540,2 [parental, (M<sup>+</sup>+1)-100 (grupo Boc)].

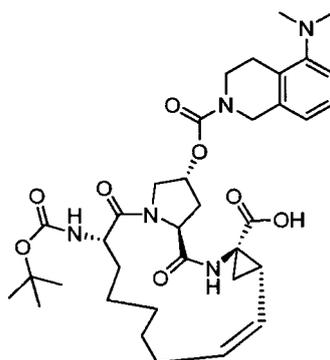
- 15 Ejemplo 1-24 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00314685

- 20 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(2-acetilamino-6,7-dihidro-4H-tiazolo[5,4-c]piridin-5-carboniloxi)-14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00314685) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó N-(4,5,6,7-tetrahidro-tiazolo [5,4-c]piridin-2-il)-acetamida en la etapa 4. EM m/e 589,2 (M<sup>+</sup>+1-100).

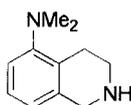
Ejemplo 1-25 (no de acuerdo con la presente invención):



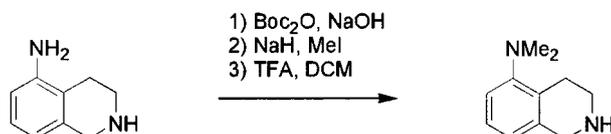
Compuesto AR00315997

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(5-dimetilamino-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carbonilo)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00315997) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó dimetil-(1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-5-il)-amina (ejemplo 1-25a) en la etapa 4. EM m/e 668,0 (M<sup>+</sup>)

Ejemplo 1-25a (no de acuerdo con la presente invención):



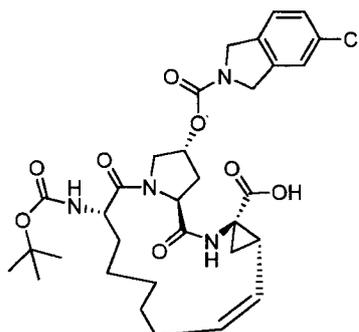
La síntesis de dimetil-(1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-5-il)-amina se describe en el siguiente esquema:



A una solución de 5-aminotetrahidroisoquinolina (3,68 g, 24,8 mmol) en 1,4-dioxano (100 ml) se añadió NaOH 3 N (8,27 ml, 24,8 mmol). Después de enfriar hasta 0 °C, se añadió gota a gota (Boc)<sub>2</sub>O (5,42 g, 24,8 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml) y se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente. Se vertió la mezcla de reacción en agua y se extrajo con EtOAc (2x). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con solución de NaHCO<sub>3</sub> ac.sat., agua y salmuera, después se secó y se concentró. Se purificó el residuo por cromatografía en columna en gel de sílice para dar 5,44 g (88 %) del producto protegido con Boc deseado como un sólido blanco.

A una solución del producto de la etapa previa descrita anteriormente (0,2 g, 0,81 mmol) en THF (5 ml) se le añadió NaH a 0 °C. Después de 15 minutos, se añadió CH<sub>3</sub>I y se continuó con la agitación durante toda la noche a temperatura ambiente. Después de su terminación, se desactivó la mezcla de reacción con agua helada, se extrajo con EtOAc (25 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró. Se retiró el grupo Boc con TFA-DCM al 60 % (2 ml) a 0 °C para dar 110 mg (77,5 %) del producto final como un sólido verdoso claro. EM: 177,1 (MH<sup>+</sup>).

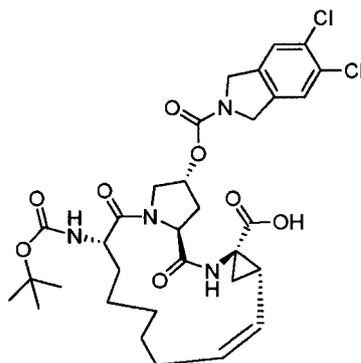
Ejemplo 1-26 (no de acuerdo con la presente invención):



## Compuesto AR00315998

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(5-cloro-1,3-dihidroisoindol-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00315998) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol en la etapa 4. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,24-7,02 (m, 3H), 6,82 (s, 1H), 5,68-5,51 (m, 1H), 5,36 (s, 1H), 5,11-4,96 (m, 2H), 4,67-4,44 (m, 5H), 4,29-4,20 (m, 1H), 4,20-4,11(m, 1H), 3,82-3,74 (m, 1H), 2,69-2,55 (m, 1H), 2,31-2,15 (m, 1H), 2,14-2,06 (m, 1H), 2,03 (s, 1H), 2,01-1,86 (m, 1H), 1,86-1,24 (m, 11H), 1,22 (s, 9H). EM: m/e 644,9 (M<sup>+</sup>), 646,9 (M<sup>+</sup>+2)

Ejemplo 1-27 (no de acuerdo con la presente invención):



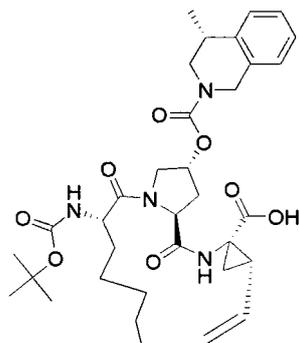
10

## Compuesto AR00315999

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(5,6-dicloro-1,3-dihidroisoindol-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00315999) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 5,6-dicloro-2,3-dihidro-1H-isoindol en la etapa 4. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,29 (s, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,06 (s, 1H), 5,57-5,50 (m, 1H), 5,33 (s, 1H), 5,23-5,09 (m, 2H), 4,73-4,65 (m, 1H), 4,64-4,48 (m, 5H), 4,33-4,29 (m, 1H), 4,11-4,02 (m, 1H), 3,82-3,74 (m, 1H), 2,73-2,61 (m, 1H), 2,29-2,08 (m, 3H), 2,01 (s, 1H), 1,83-1,65 (m, 2H), 1,63-1,46 (m, 2H), 1,40-1,12 (m, 15H). EM: m/e 678,9 (M<sup>+</sup>), 681 (M<sup>+</sup>+2)

15

Ejemplo 1-28 (no de acuerdo con la presente invención):

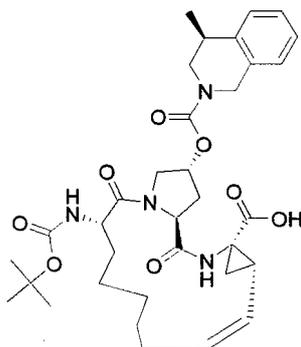


## Compuesto AR00320122

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(4R-metil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00320122) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 4R-metil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,02-7,24 (m, 3H), 5,59 (dd, 1H), 5,30-5,44 (m, 2H), 4,66-4,81 (m, 1H), 4,14-4,64 (m, 3H), 3,83-3,92 (m, 1H), 3,58-3,81 (m, 1H), 3,44-3,56 (m, 1H), 2,86-3,86 (m, 1H), 2,23-2,58 (m, 4H), 1,87-2,13 (m, 2H), 1,70-1,87 (m, 1H), 1,50-1,70 (m, 3H), 1,07-1,51 (m, 19H), 0,80-0,96 (m, 2H). EM: m/z 639,0 (M<sup>+</sup>+1)

25

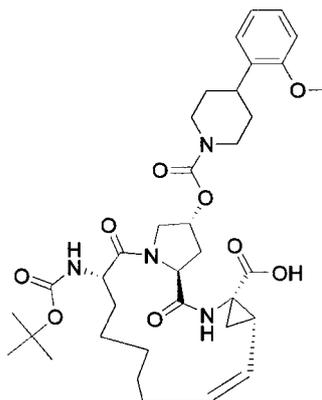
Ejemplo 1-29 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320123

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(4S-metil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00320123) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 4S-metil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,01-7,23 (m, 3H), 5,58 (dd, 1H), 5,32-5,45 (m, 2H), 4,66-4,82 (m, 1H), 4,12-4,64 (m, 3H), 3,86-3,94 (m, 1H), 3,52-3,74 (m, 1H), 3,43-3,56 (m, 1H), 2,88-3,85 (m, 1H), 2,24-2,60 (m, 4H), 1,87-2,15 (m, 2H), 1,71-1,87 (m, 1H), 1,52-1,70 (m, 3H), 1,07-1,52 (m, 19H), 0,80-0,96 (m, 2H). EM: *m/z* 639,0 (M<sup>+</sup>+1)

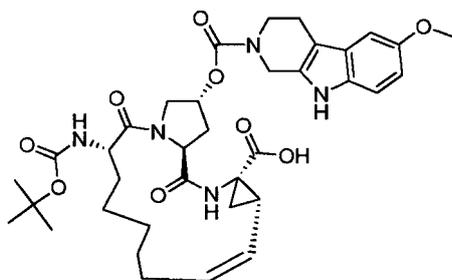
Ejemplo 1-30 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320576

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-[4-(2-metoxi-fenil)-piperidin-1-carboniloxi]-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00320576) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 4-(2-metoxi-fenil)-piperidina en la etapa 4. EM *m/e* 583,3 (M<sup>+</sup>+100).

Ejemplo 1-31 (no de acuerdo con la presente invención):

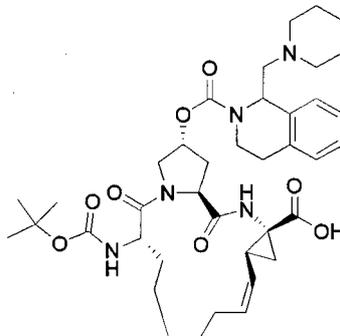


Compuesto AR00320577

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(6-metoxi-1,3,4,9-tetrahidro-b-carbolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00320577) de

acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 6-metoxi-2,3,4,9-tetrahydro-1H-b-carbolina en la etapa 4. EM m/e 594,2 ( $M^+ + 1 - 100$ ).

Ejemplo 1-32 (no de acuerdo con la presente invención):



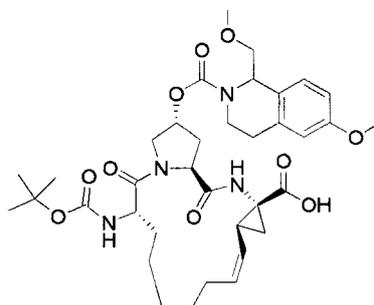
5

Compuesto AR00301383

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-18-(1-piperidin-1-ilmetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00301383) de acuerdo con el procedimiento B, excepto que se usó 1-piperidin-1-ilmetil-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolina en la etapa 4. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,33 - 7,24 (m, 4H), 7,20 (s.a., 1H), 6,61 (s.a., 1H), 5,75 - 5,52 (m, 2H), 5,50 - 5,33 (m, 2H), 4,63 - 4,43 (m, 2H), 4,42 - 4,07 (m, 4H), 3,96 (s.a., 1H), 3,67 - 3,11 (m, 5H), 3,06 - 2,88 (m, 2 H), 2,86 - 2,74 (m, 2 H), 2,56 - 2,35 (m, 3H), 2,23 (q, 1H), 2,04 - 1,90 (m, 2H), 1,89 - 1,52 (m, 10H), 1,51 - 1,32 (m, 12H); EM (POS APCI) m/z 722,3 ( $M^+ + 1$ ).

10

Ejemplo 1-33 (no de acuerdo con la presente invención):



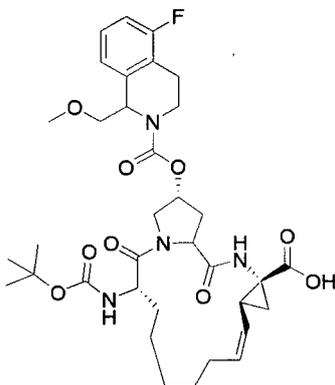
15

Compuesto AR00333842

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(6-metoxi-1-metoximetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00333842) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 1-2, excepto que se usó cloruro de 6-metoxi-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahydro-isoquinolina para reemplazar la 1,2,3,4-tetrahydro-isoquinolina en la etapa 4. EM (APCI-): m/z 697,2 (M-1).

20

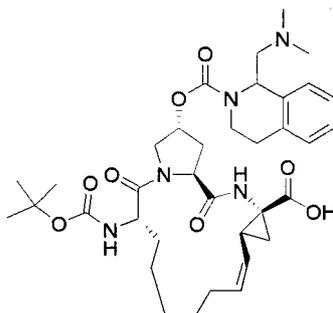
Ejemplo 1-34 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00365349

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(5-fluoro-1-metoximetil-3,4-dihidro -1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00365349) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 1-2, excepto que se usó cloruro de 5-fluoro-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. EM (APCI): m/z 685,3 (M-1).

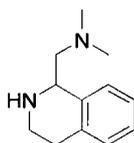
Ejemplo 1-35 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00333224

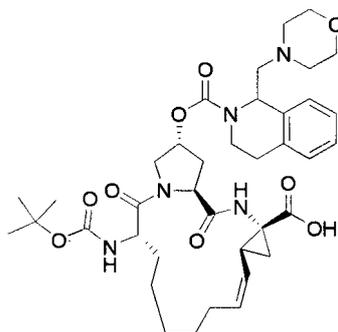
Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(1-dimetilaminometil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00333224) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 1-2, excepto que se usó -(1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-1-ilmetil)-amina (sintetizada de acuerdo con el ejemplo 1-35a) para reemplazar la 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. EM (APCI): m/z 582,3 (NM<sup>+</sup>-Boc).

Ejemplo 1-35a (no de acuerdo con la presente invención):



Se sintetizó la dimetil-(1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-1-ilmetil)-amina por una forma similar a la que se muestra en el ejemplo 3-76a, excepto que se usó, en la etapa 1, fenetilamina para reemplazar la 2-(3-metoxi-fenil)-etilamina, y que en la primera parte de la etapa 3, se usó dimetil-amina para reemplazar el metóxido de sodio como nucleófilo. Se usó el producto bruto directamente en la siguiente etapa de acoplamiento sin purificación adicional.

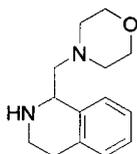
Ejemplo 1-36 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00333225

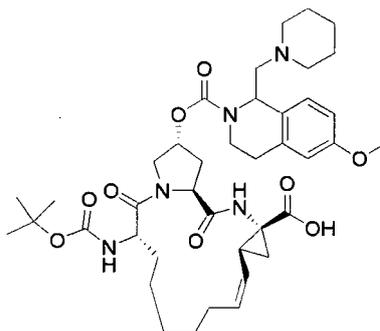
- 5 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(1-morfolin-4-ilmetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00333225) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 1-2, excepto que se usó 1-morfolin-4-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina (sintetizada de acuerdo con el ejemplo 1-36a) para reemplazar al 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. EM (APCI-): m/z 722,3 (M-1).

Ejemplo 1-36a (no de acuerdo con la presente invención):



- 10 Se sintetizó la 1-morfolin-4-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina de forma similar a la que se muestra en el ejemplo 3-76a, excepto que se usó, en la etapa 1, fenetilamina para reemplazar la 2-(3-metoxi-fenil)-etilamina, y que en la primera parte de la etapa 3, se usó morfolina para reemplazar el metóxido de sodio como nucleófilo. Se usó el producto bruto directamente en la siguiente etapa de acoplamiento sin purificación adicional.

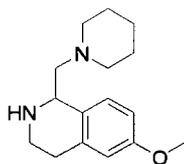
Ejemplo 1-37 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00333248

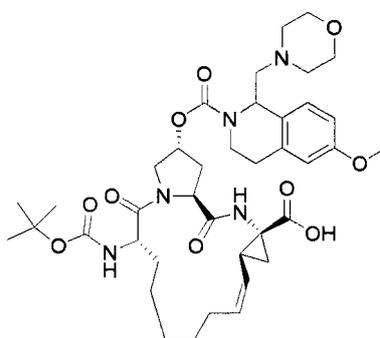
- 15  
20 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(6-metoxi-1-piperidin-1-ilmetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00333248) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 1-2, excepto que se usó 6-metoxi-1-piperidin-1-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina (sintetizada de acuerdo con el ejemplo 1-37a) para reemplazar al 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. EM (APCI-): m/z 750,4 (M-1).

Ejemplo 1-37a (no de acuerdo con la presente invención):



5 Se sintetizó la 6-metoxi-1-piperidin-1-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina de forma similar a la que se muestra en el ejemplo 3-76a, excepto que, en la primera parte de la etapa 3, se usó piperidina para reemplazar al metóxido de sodio como nucleófilo. Se usó el producto bruto directamente en la siguiente etapa de acoplamiento sin purificación adicional.

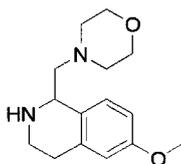
Ejemplo 1-38 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00333276

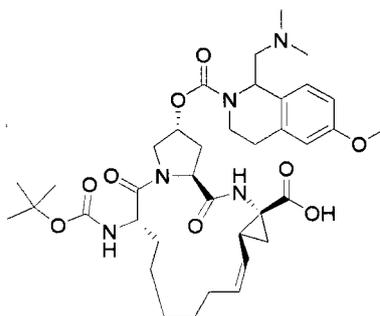
10 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(6-metoxi-1-morfolin-4-ilmetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00333276) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 1-2, excepto que se usó 6-metoxi-1-morfolin-4-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina (sintetizada de acuerdo con el ejemplo 1-38a) para reemplazar al 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. EM (APCI): m/z 750,3 (M-1).

Ejemplo 1-38a (no de acuerdo con la presente invención):



15 Se sintetizó la 6-metoxi-1-morfolin-4-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina de una forma similar a la que se muestra en el ejemplo 3-76a, excepto que, en la primera parte de la etapa 3, se usó morfolina para reemplazar al metóxido de sodio como nucleófilo. Se usó el producto bruto directamente en la siguiente etapa de acoplamiento sin purificación adicional.

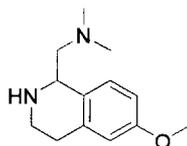
20 Ejemplo 1-39 (no de acuerdo con la presente invención):



## Compuesto AR00333277

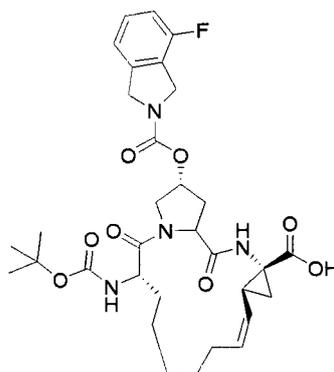
5 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(1-dimetilaminometil-6-metoxi-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00333277) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 1-2, excepto que se usó (6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-1-ilmetil)-amina (sintetizada de acuerdo con el ejemplo 1-39a) para reemplazar la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4. EM (APCI+): m/z 712,3 (MH<sup>+</sup>).

Ejemplo 1-39a (no de acuerdo con la presente invención):



10 Se sintetizó la (6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-1-ilmetil)-dimetil-amina de una forma similar a la que se muestra en el ejemplo 3-76a, excepto que, en la primera parte de la etapa 3, se usó dimetilamina para reemplazar al metóxido de sodio como nucleófilo. Se usó el producto bruto directamente en la siguiente etapa de acoplamiento sin purificación adicional.

Ejemplo 1-40 (no de acuerdo con la presente invención):

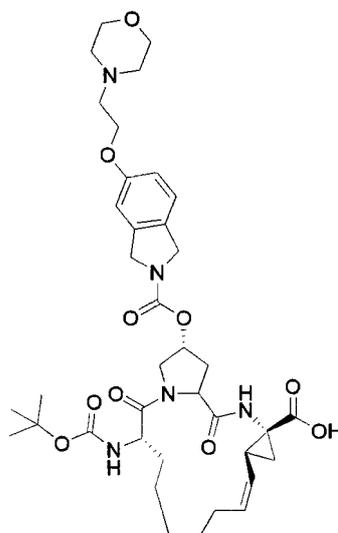


15

## Compuesto AR00365369

20 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-(4-fluoro-1,3-dihidroisoindol-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00365369) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 1-2, excepto que se usó 4-fluoro-2,3-dihidro-1H-isoindol (sintetizado de acuerdo con el ejemplo 3-55a) para reemplazar la 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO) δ 12,21 (s.a., 1 H), 8,66 (s.a., 1 H), 7,35 (q, 1 H), 7,19 (d, 1 H), 7,11 (q, 2 H), 7,03 (s.a., 1 H), 5,51 (q, 1 H), 5,33 - 5,21 (m, 2 H), 4,66 (s, 4 H), 4,22 (q, 1 H), 4,24 (t, 1 H), 3,99 - 3,89 (m, 1 H), 3,73 - 3,64 (m, 1 H), 2,65 - 2,55 (m, 1 H), 2,28 - 2,08 (m, 3 H), 1,77 - 1,61 (m, 2 H), 1,54 - 1,42 (m, 1H), 1,42 - 1,03 (m, 16 H); EM (APCI-): m/z 627,3 (M-1).

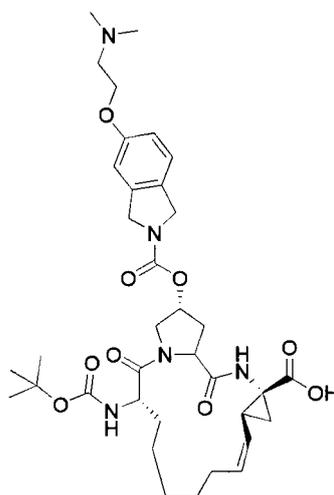
Ejemplo 1-41 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00371946

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-[5-(2-morfolin-4-il-etoxi) -1,3-dihidro-  
 5 isoindol-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto  
 AR00371946) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 1-2, excepto que se usó 5-(2-morfolin-4-il-  
 etoxi)-2,3-dihidro-1H-isoindol (preparada de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol.  
 45, N.º 26, 5771, procedimiento de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 685-688. Para la entrada  
 de amina protegida en N-Boc: RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,13 (dd, 1H), 6,85 - 6,74 (m, 2H), 4,61 (t, 4H), 4,10  
 10 (t, 2H), 3,73 (t, 4H), 2,81 (t, 2H), 2,61 -2,54 (m, 4H), 1,51 (s, 9H); EM (APCI+): m/z 349,1 (M+1)) se usó para  
 reemplazar la 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. EM (APCI+): m/z 640,3 [(M+1)-Boc].

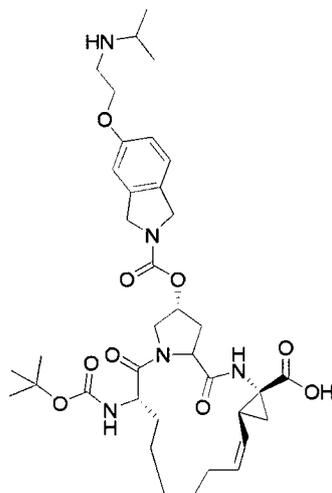
Ejemplo 1-42 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00371947

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-[5-(2-dimetilaminoetoxi)-1,3- dihidro-  
 15 isoindol-2- carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto  
 AR00371947) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 1-2, excepto que se usó [2-(2,3-dihidro-1H-  
 isoindol-5-iloxi)-etil]-dimetil-amina (preparada de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002,  
 Vol. 45, N.º 26, 5771, procedimiento de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 685-688. Para la  
 entrada de amina protegida en N-Boc: RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,14 (dd, 1H), 6,88 - 6,76 (m, 2H), 4,61 (t,  
 20 4H), 4,04 (t, 2H), 2,72 (t, 2H), 2,34 (s, 6H), 1,50 (s, 9H); EM (APCI+): m/z 307,1 (M+1)) se usó para reemplazar la  
 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4. EM (APCI+): m/z 698,2 (M+1).

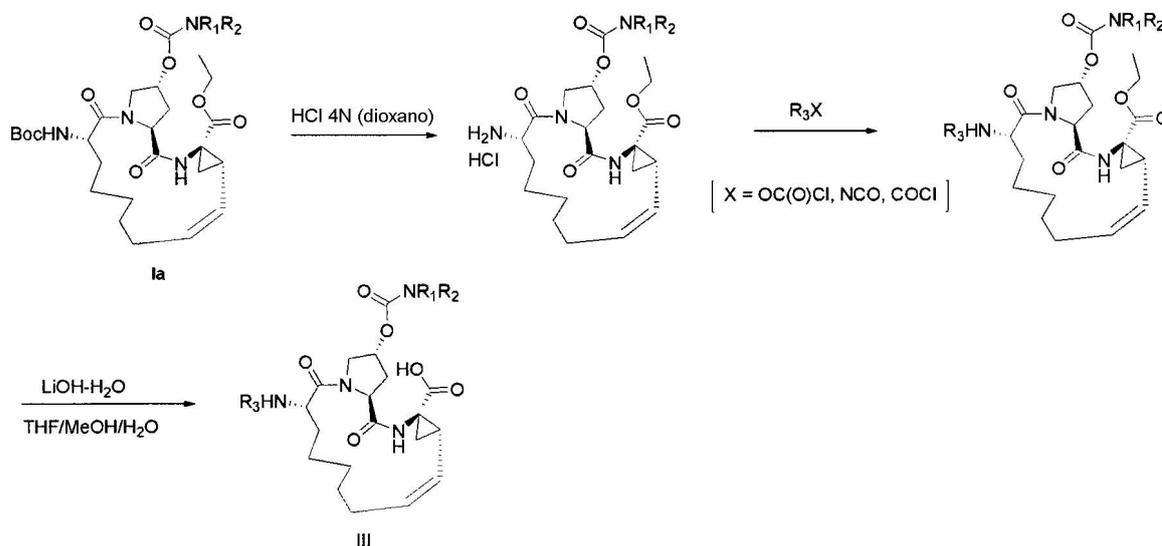
Ejemplo 1-43 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00371948

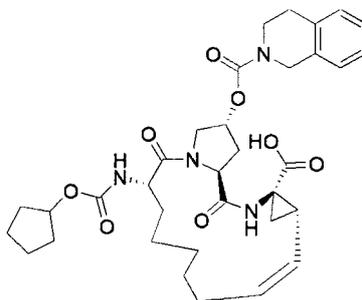
Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-[5-(2-isopropilaminoetoxi)-1,3-dihidroisoindol-2-carboniloxi]-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00371948) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 1-2, excepto que se usó [2-(2,3-dihidro-1H-isoindol-5-iloxi)-etil]-isopropil-amina (preparada de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, N.º 26, 5771, procedimiento de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 685-688. Para la entrada de amina protegida en N-Boc: RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,13 (dd, 1H), 6,86 - 6,75 (m, 2H), 4,62 (t, 4H), 4,06 (t, 2H), 2,99 (t, 2H), 2,88 (septuplete, 1H), 1,62 (s.a., 1H), 1,51 (s, 9H), 1,10 (d, 6H); EM (APCI+): m/z 321,2 (M+1)) se usó para reemplazar la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4. EM (APCI-): m/z 710,3 (M-1).

## 2. Preparación de compuestos con estructura general III



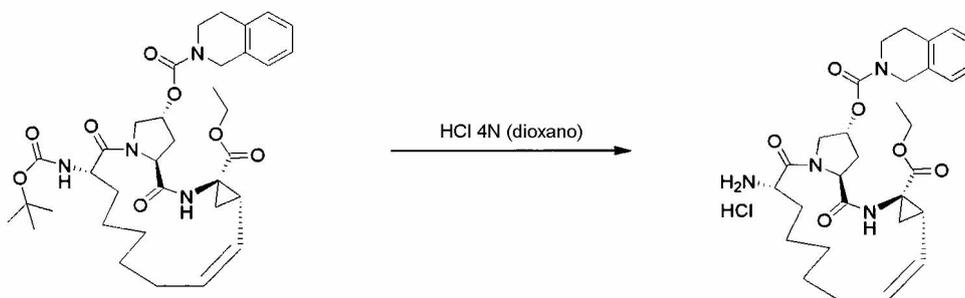
Se prepararon los compuestos con estructura general II de acuerdo con el esquema general mostrado anteriormente. En primer lugar, se retiró un compuesto con estructura Ia de su grupo protector Boc, seguido de ataque nucleófilo del grupo amino sobre un electrófilo, para formar un carbamato, amida o urea.

### Ejemplo 2-1 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto 00247310

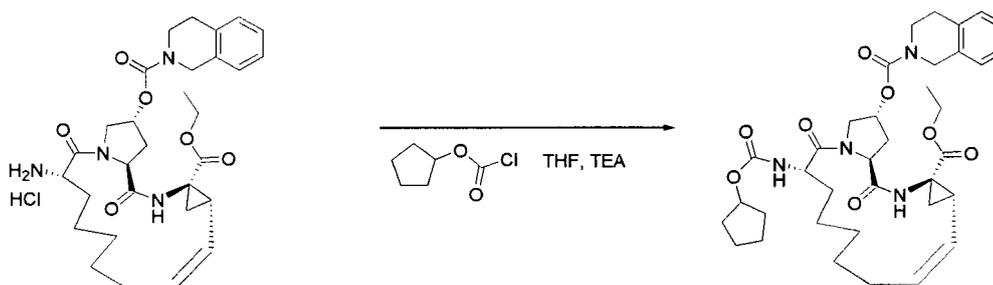
**Etapa 1: Preparación de éster etílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-amino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico.**



5

Se disolvió material de partida protegido en N-Boc (102 mg, 0,16 mmol) en 6 ml de HCl 4 N (dioxano) y se dejó a TA durante 90 min. La HPLC mostró la completa retirada del grupo protector Boc. Después, se concentró la mezcla de reacción, recogiendo en acetonitrilo y se concentró de nuevo dos veces. Se llevó el polvo espumoso de color pardusco claro resultante a la siguiente etapa.

**10 Etapa 2: Preparación de éster etílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-ciclopentiloxycarbonilamino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico.**



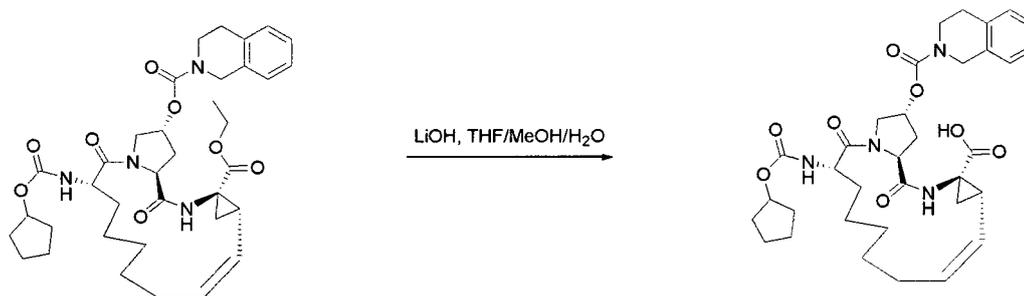
15

A una solución de ciclopentanol (42 mg, 0,48 mmol) en THF (16 ml), se le añadió gota a gota una solución de tolueno de fosgeno (0,42 ml, 1,9 M, 0,80 mmol). Se agitó la mezcla a TA durante 2 h para formar el reactivo de cloroforniato de ciclopentilo. Después, se concentró la reacción a aproximadamente la mitad del volumen. Después, se diluyó hasta el volumen original, y se concentró de nuevo hasta la mitad del volumen, para retirar completamente el exceso de fosgeno. Se diluyó adicionalmente esta solución del cloroforniato de ciclopentilo con THF (16 ml), se enfrió hasta 0 °C, y se añadió al residuo sólido (0,16 mmol) de la etapa 1 anterior a 0 °C. Después, se añadió TEA (0,11 ml, 0,81 mmol) a la mezcla de reacción, y se agitó la reacción a 0 °C durante 2 h. Se completó la reacción por HPLC. Se concentró, se recogió en EtOAc (15 ml), y después se lavó con agua, bicarbonato de sodio sat., agua y salmuera (10 ml cada una), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró. Se purificó el residuo de aceite amarillento bruto por cromatografía ultrarrápida en Biotage 40S (eluyente = hexanos/EtOAc 1:1), dando el producto deseado como un polvo espumoso crujiente de color blanco (65,2 mg, 63 %). EM (MH<sup>+</sup> 665,2)

20

25

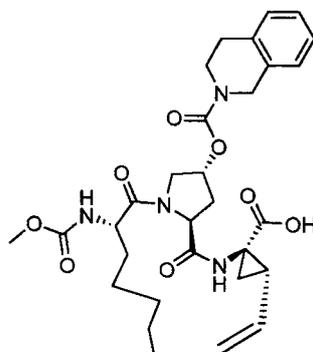
**Etapa 3: Preparación del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-ciclopentiloxycarbonilamino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00247310).**



Se siguieron los mismos procedimientos de hidrólisis que en la etapa 5 del ejemplo 1-1.

- 5 También se prepararon los siguientes compuestos siguiendo los mismos procedimientos que se mencionaron anteriormente en el ejemplo 2-1, sustituyéndose el cloroformiato de ciclopentilo por otros electrófilos y/o sustituyéndose la P2-tetrahidroisoquinolina por otras entradas de amina como se ilustra en la etapa 4 del procedimiento B en el ejemplo 1-2.

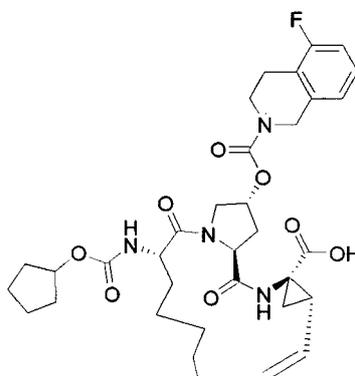
Ejemplo 2-2 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto 00294376

- 10 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2- carboniloxi)-14-metoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-tricyclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00294376) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 2-1, excepto que se usó cloroformiato de metilo en la etapa 2.

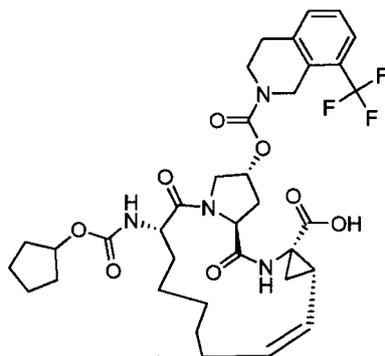
Ejemplo 2-3 (no de acuerdo con la presente invención):



- 15 Compuesto AR00304074

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-ciclopentiloxicarbonilamino-18-(5-fluoro-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-tricyclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304074) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se usó 5-fluoro-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. EM m/e 583,2 (M<sup>+</sup>+1).

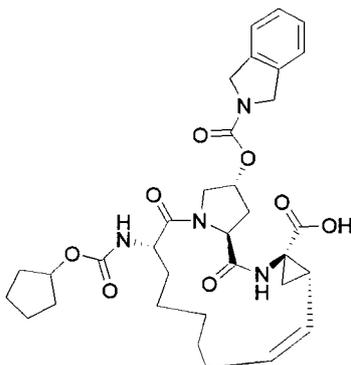
- 20 Ejemplo 2-4 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304075

- 5 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-ciclopentiloxicarbonilamino-2,15-dioxo-18- (8-trifluorometil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304075) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se usó 8-trifluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. EM m/e 705,1 ( $M^+ + 1$ ).

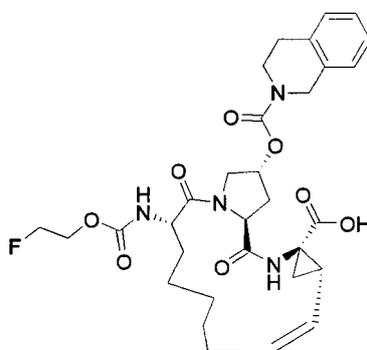
Ejemplo 2-5 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304076

- 10 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-ciclopentiloxicarbonilamino-18-(1,3-dihidroisoindol-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304076) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se usó 2,3-dihidro-1H-isoindol en la etapa 4 del ejemplo 1-2. EM m/e 623,2 ( $M^+ + 1$ ).

Ejemplo 2-6 (no de acuerdo con la presente invención):

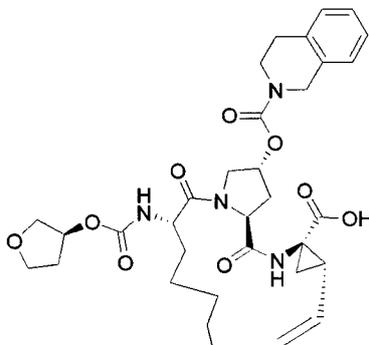


Compuesto AR00304125

- 15 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-14-(2-fluoroetoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304125) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 2-1, excepto que se usó 2-fluoroetanol para formar el

reactivo de cloroformiato en la etapa 2 en lugar de ciclopentanol. EM m/e 615,1 ( $M^+ + 1$ ).

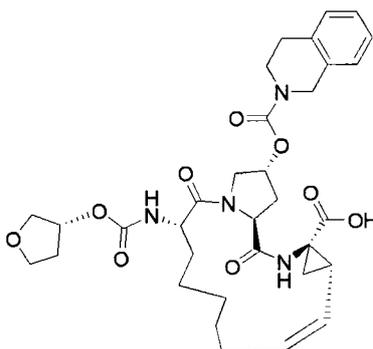
Ejemplo 2-7 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304126

- 5 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2- carboniloxi)-2,15-dioxo-14-(tetrahidrofuran-3S-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304126) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 2-1, excepto que se usó tetrahidrofuran-3S-ol para formar el reactivo de cloroformiato en la etapa 2 en lugar de ciclopentanol. EM m/e 639,2 ( $M^+ + 1$ ).

Ejemplo 2-8 (no de acuerdo con la presente invención):

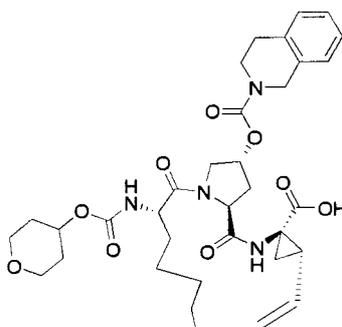


10

Compuesto AR00304127

- 15 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2- carboniloxi)-2,15-dioxo-14-(tetrahidrofuran-3R-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304127) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 2-1, excepto que se usó tetrahidrofuran-3R-ol para formar el reactivo de cloroformiato en la etapa 2 en lugar de ciclopentanol. EM m/e 639,2 ( $M^+ + 1$ ).

Ejemplo 2-9 (no de acuerdo con la presente invención):

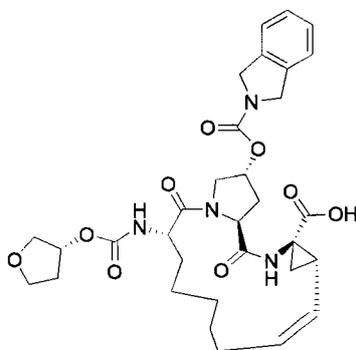


Compuesto AR00320002

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2- carboniloxi)-2,15-dioxo-14 -

(tetrahidropiran-4-ilocarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00320002) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 2-1, excepto que se usó tetrahidropiran-4-ol para formar el reactivo de cloroformiato en la etapa 2 en lugar de ciclopentanol. EM m/e 653,2 ( $M^+$ +1).

Ejemplo 2-10 (no de acuerdo con la presente invención):



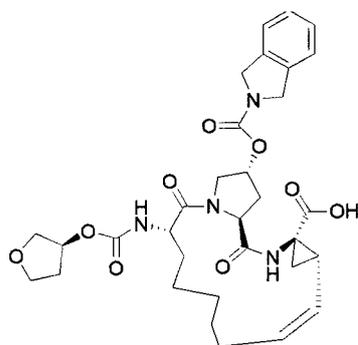
5

Compuesto AR00320074

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(1,3-dihidro-1H-isoindol-2- carboniloxi)-2,15-dioxo-14-(tetrahidrofuran-3R-ilocarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00320074) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se usó 2,3-dihidro-1H-indol en la etapa 4 del ejemplo 1-2 y que se usó tetrahidrofuran-3R-ol para formar el reactivo de cloroformiato en la etapa 2 del ejemplo 2-1 en lugar de ciclopentanol. EM m/e 625,2 ( $M^+$ +1).

10

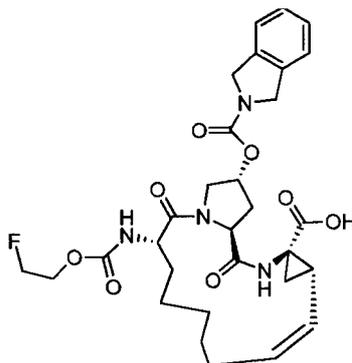
Ejemplo 2-11 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320075

15 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(1,3-dihidro-isoindol-2- carboniloxi)-2,15-dioxo-14- (tetrahidrofuran-3S-ilocarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00320075) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se usó 2,3-dihidro-1H-isoindol en la etapa 4 del ejemplo 1-2 y que se usó tetrahidrofuran-3S-ol para formar el reactivo de cloroformiato en la etapa 2 del ejemplo 2-1 en lugar de ciclopentanol. EM m/e 625,2 ( $M^+$ +1).

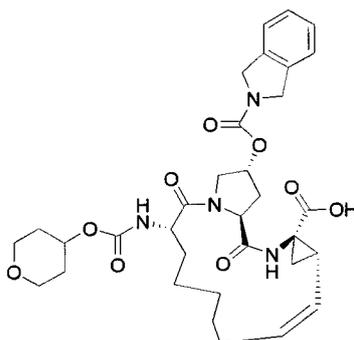
20 Ejemplo 2-12 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320076

5 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(1,3-dihidro-1H-isoindol-2- carboniloxi)-2,15-dioxo- 14-(tetrahidrofuran-3S-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00320076) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se usó 2,3-dihidro-1H-isoindol en la etapa 4 del ejemplo 1-2 y que se usó 2-fluoroetanol para formar el reactivo de cloroformiato en la etapa 2 del ejemplo 2-1 en lugar de ciclopentanol. EM m/e 601,1 ( $M^+ + 1$ ).

Ejemplo 2-13 (no de acuerdo con la presente invención):

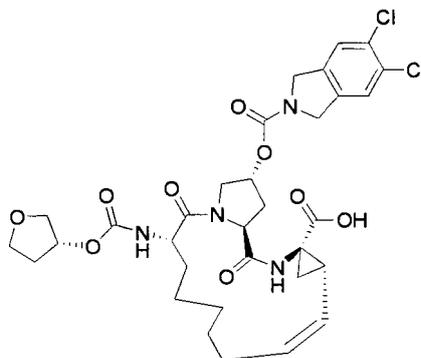


Compuesto AR00320077

10 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(1,3-dihidro-isoindol-2- carboniloxi)-2,15-dioxo- 14-(tetrahidropiran-4-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00320077) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se usó 2,3-dihidro-1H-indol en la etapa 4 del ejemplo 1-2 y que se usó tetrahidropiran-4-ol para formar el reactivo de cloroformiato en la etapa 2 del ejemplo 2-1 en lugar de ciclopentanol. EM m/e 601,1 ( $M^+ + 1$ ).

15

Ejemplo 2-14 (no de acuerdo con la presente invención):

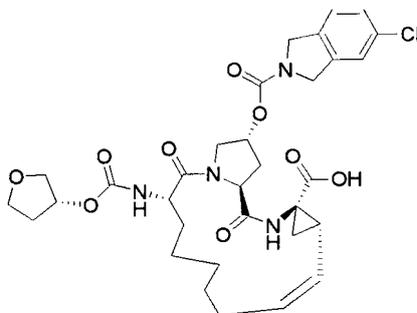


Compuesto AR00320445

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(5,6-dicloro-1,3-dihidroisoindol-2- carboniloxi)-2,15-dioxo- 14-

(tetrahidrofuran-3R-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00320445) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se usó 5,6-dicloro-2,3-dihidro-1H-isoindol en la etapa 4 del ejemplo 1-2 y que se usó tetrahidrofuran-3R-ol para formar el reactivo de cloroformiato en la etapa 2 del ejemplo 2-1 en lugar de ciclopentanol. EM: m/e 693,0 (M<sup>+</sup>), 695,1 (M<sup>+</sup>+2)

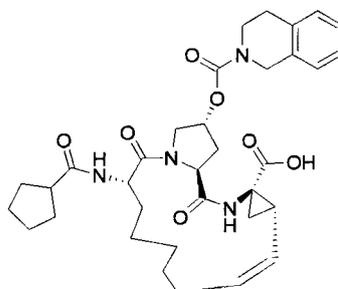
5 Ejemplo 2-15 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320448

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(5-cloro-1,3-dihidro-isoindol-2- carboniloxi)-2,15-dioxo- 14-(tetrahidrofuran-3R-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00320448) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se usó 5-dicloro-2,3-dihidro-1H-isoindol en la etapa 4 del ejemplo 1-2 y que se usó tetrahidrofuran-3R-ol para formar el reactivo de cloroformiato en la etapa 2 del ejemplo 2-1 en lugar de ciclopentanol. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,38 (s, 1H), 7,32-7,28 (m, 2H), 7,22 (d, 1H), 7,10 (s.a., 1H), 5,56-5,50 (q, 1H), 5,42-5,38 (t, 1H), 5,35 (s.a., 1H), 4,80-4,48 (m, 6H), 4,44 (m, 1H), 4,16 (d, 1H), 3,84 (dd, 1H), 3,78-3,69 (m, 1H), 3,68-3,60 (m, 1H), 3,50 (t, 1H), 2,55-2,36 (m, 3H), 2,21-2,12 (m, 1H), 1,98-1,85 (m, 1H), 1,72-1,62 (m, 2H), 1,61-1,51 (m, 2H), 1,50-1,20 (m, 9H). EM: m/e 659,1 (M<sup>+</sup>), 661,1 (M<sup>+</sup>+2)

Ejemplo 2-16 (no de acuerdo con la presente invención):

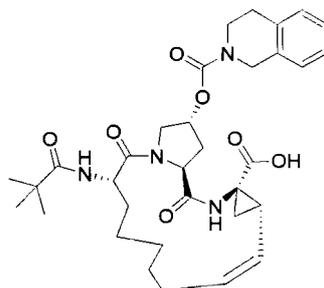


AR00248689

20 Síntesis del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-ciclopentanocarbonilamino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin- 2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR248689)

En primer lugar se cargó el ácido ciclopentil carboxílico sobre resina PS-TFP (adquirida de Argonaut Technologies) para formar un éster activo. En primer lugar, se hizo crecer el éster activado sobre resina (26 mg, 1,16 mmol/g, 0,03 mmol) en 0,5 ml de cloroformo, seguido de la adición de resina de MP-carbonato (adquirida de Argonaut Technologies, 300 mg, 2,5 mmol/g, 0,75 mmol). Después, a esta mezcla de resina se le añadió solución de cloroformo 0,5 M del material macrocíclico (15 mg, 0,02 mmol), y se agitó la reacción durante toda la noche a TA. Se completó la reacción por HPLC después de 16 h. Después, se filtró y se concentró, dando el producto N-acilado limpio. Después, se hidrolizó siguiendo los mismos procedimientos de hidrólisis que en la etapa 5 del ejemplo 1-1, dando el producto deseado AR248689 como un sólido blanco (12,5 mg, 88 %). EM (APCI+): m/z 621,3 (MH<sup>+</sup>).

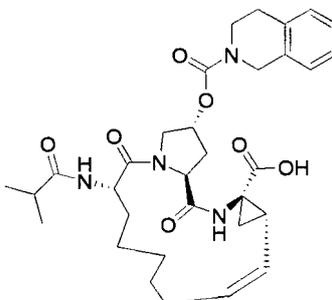
30 Ejemplo 2-17 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00248687

- 5 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2- carboniloxi)-14-(2,2-dimetilpropionilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00248687) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 2-16, excepto que en primer lugar se cargó ácido terc-butil-carboxílico sobre la resina PS-TFP. EM (APCI+): m/z 609,3 (MH<sup>+</sup>).

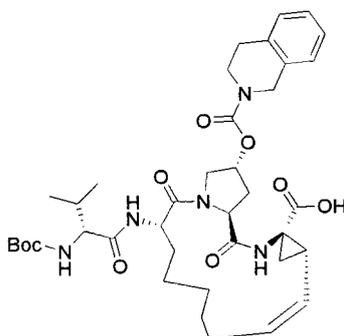
Ejemplo 2-18 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00248688

- 10 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2- carboniloxi)-14-isobutilamino- 2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00248688) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 2-16, excepto que en primer lugar se cargó ácido isopropil-carboxílico sobre la resina PS-TFP. EM (APCI+): m/z 595,3 (MH<sup>+</sup>).

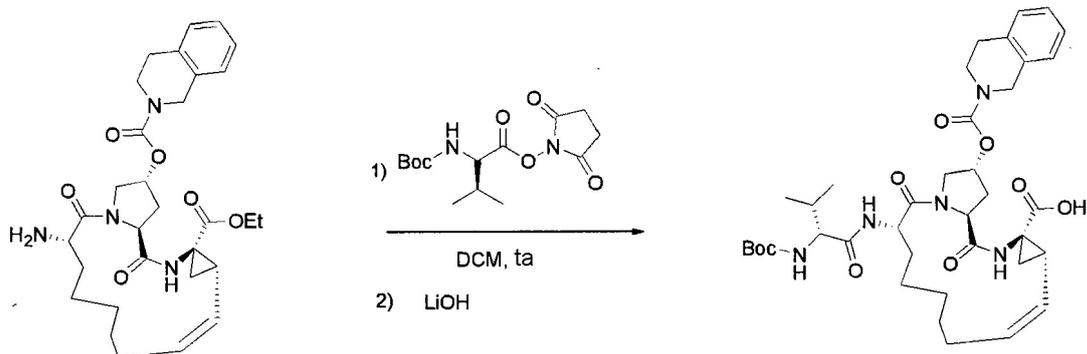
Ejemplo 2-19 (no de acuerdo con la presente invención):



15

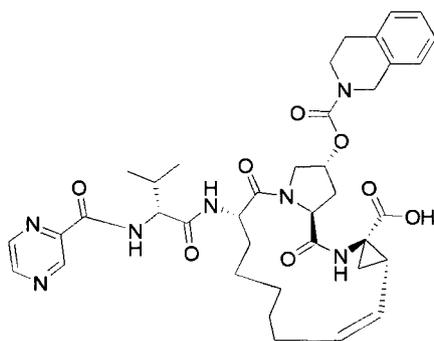
Compuesto AR00298989

Síntesis del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-(2-terc-butoxicarbonilamino-3-metil-butirilamino)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR298989)



5 Se agitaron juntos el éster etílico del ácido 14-amino-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nona-dec-7-eno-4-carboxílico (120 mg, 217  $\mu\text{mol}$ ) y el éster de N- $\alpha$ -t-Boc-L-valina N-hidroxisuccinamida (96 mg, 300  $\mu\text{mol}$ ) en 1,1 ml de diclorometano durante 14 horas. Se retiró el disolvente *in vacuo* y se añadió 1 ml de cada uno de agua y acetato de etilo. Se separaron las fases y se lavó la capa acuosa dos veces con 500  $\mu\text{l}$  de acetato de etilo. Se secaron las capas orgánicas combinadas sobre  $\text{MgSO}_4$  y se retiraron los disolventes *in vacuo* para proporcionar el compuesto deseado como un sólido blanco (132 mg, 81 %). EM  $m/z = 752,2$  ( $\text{MH}^+$ ).

Ejemplo 2-20 (no de acuerdo con la presente invención):

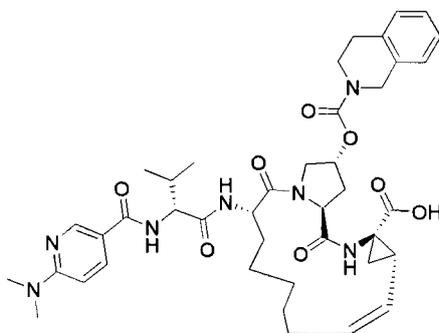


10

Compuesto AR00301338

15 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-14-{3-metil-2-[(pirazina-2-carbonil)-amino]-butirilamino}-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00301338) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 2-19, excepto se usó el éster 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ílico del ácido 3-metil-2-[(pirazina-2-carbonil)-amino]-butírico para reemplazar el éster de N- $\alpha$ -t-Boc-L-valina N-hidroxisuccinamida. EM  $m/e$  730,3 ( $\text{M}^+ + 1$ ).

Ejemplo 2-21 (no de acuerdo con la presente invención):

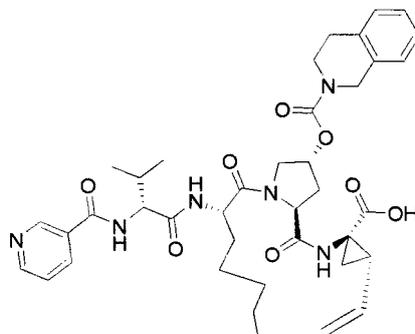


Compuesto AR00304072

20 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-14-{2-[(6-dimetilamino-piridina-3-carbonil)-amino]-3-metil-butirilamino}-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304072) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 2-19, excepto se

usó el éster 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ílico del ácido 2-[(6-dimetilamino-piridin-3-carbonil)-amino]-3-metil-butírico para reemplazar el éster de N- $\alpha$ -t-Boc-L-valina N-hidroxisuccinamida. RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz):  $\delta$  8,69 (s, 1 H), 8,46 (s, 1 H), 8,37-8,39 (m, 1 H), 8,14-8,21 (m, 2 H), 7,07-7,18 (m, 5 H), 5,63 (q, 1 H), 5,36-5,42 (m, 2 H), 4,49-4,56 (m, 3 H), 4,42-4,45 (m, 1 H), 4,31-4,32 (m, 1 H), 3,92-3,95 (m, 1 H), 3,65-3,72 (m, 2 H), 2,85-2,91 (m, 2 H), 2,33-2,55 (m, 4 H), 1,93-2,03 (m, 3 H), 1,61-1,68 (m, 3 H), 1,27-1,52 (m, 12 H), 0,86-0,96 (m, 8 H). EM m/e 770,4 (M-1).

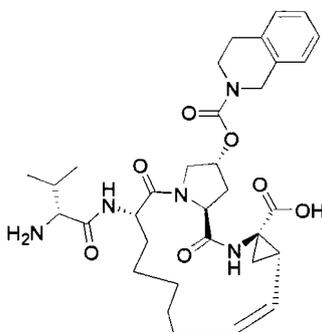
Ejemplo 2-22 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304073

10 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-14-{3-metil-2-[(piridin-3-carbonil)-amino]-butirilamino}-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304073) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 2-19, excepto se usó el éster 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ílico del ácido 3-metil-2-[(piridin-3-carbonil)-amino]-butírico para reemplazar el éster de N- $\alpha$ -t-Boc-L-valina N-hidroxisuccinamida. EM m/e 729,2 ( $\text{M}^+ + 1$ ).

Ejemplo 2-23 (no de acuerdo con la presente invención):

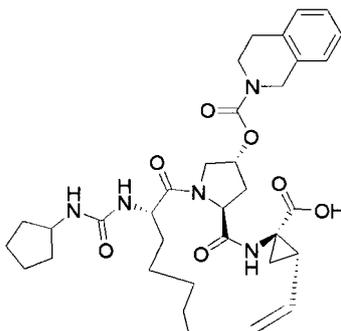


15

Compuesto AR00298990

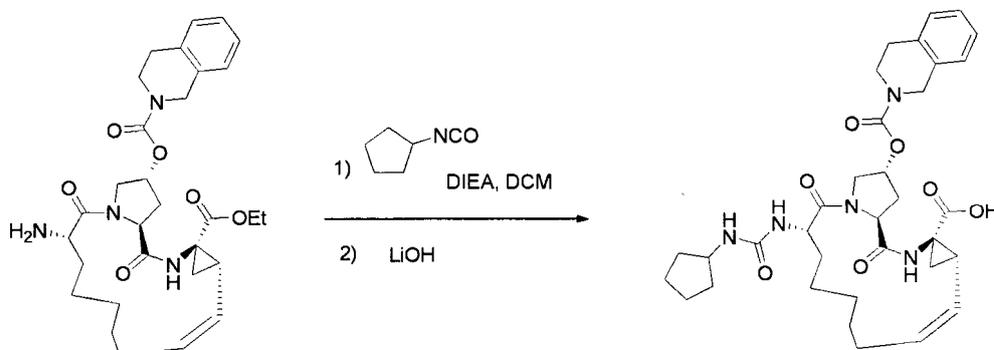
Se preparó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-(2-amino-3-metil-butirilamino)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto 298990) siguiendo los mismos procedimientos que en la etapa 1 del ejemplo 2-1. EM m/e 624,2 ( $\text{M}^+ + 1$ ).

20 Ejemplo 2-24 (no de acuerdo con la presente invención):



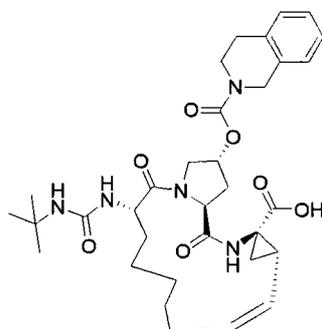
## Compuesto AR00294378

Síntesis del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-(3-ciclopentil-ureido)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR294378)



- 5 Se recogieron la sal de clorhidrato del éster etílico del ácido 14-amino-2,15-dioxo-18-(8-trifluorometil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nona-dec-7-eno-4-carboxílico (49 mg, 74  $\mu\text{mol}$ ) y diisopropiletilamina (29 mg, 222  $\mu\text{mol}$ ) e isocianato de ciclopentilo (25 mg, 222  $\mu\text{mol}$ ) en 375  $\mu\text{l}$  de diclorometano a 19 °C durante 1 hora. Se cargó directamente la reacción en una columna ultrarrápida C18 y se eluyó con agua/acetonitrilo (del 10 al 100 %) que contenía TFA al 0,1 % para proporcionar el producto del título como un sólido blanco (42 mg, 77 %). EM  $m/z$  = 732,2 ( $M^+$ ).
- 10

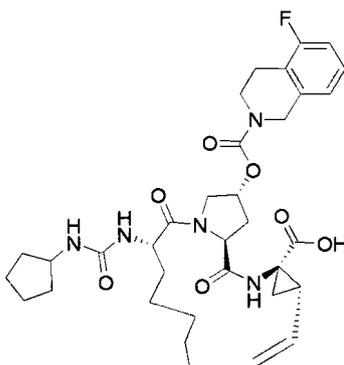
Ejemplo 2-25 (no de acuerdo con la presente invención):



## Compuesto AR00294377

- 15 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-(3-terc-butil-ureido)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00294377) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se usó isocianato de terc-butilo para reemplazar el isocianato de ciclopentilo en los procedimientos del ejemplo 2-24. EM  $m/e$  624,1 ( $M^+$ ).

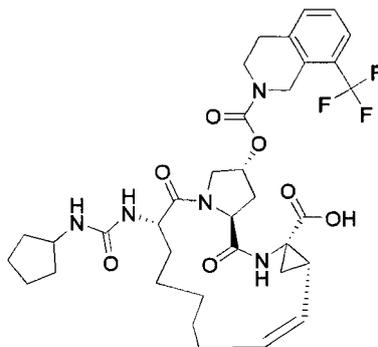
Ejemplo 2-26 (no de acuerdo con la presente invención):



## Compuesto AR00304077

5 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-(3-ciclopentil-ureido-18-(5-fluoro-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304077) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se usó 5-fluoro-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. EM m/e 654,2 (M<sup>+</sup>+1).

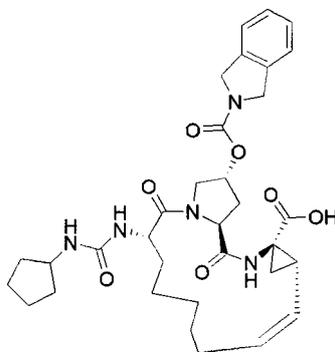
Ejemplo 2-27 (no de acuerdo con la presente invención):



## Compuesto AR00304078

10 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-(3-ciclopentil-ureido)-2,15-dioxo-18-(8-trifluorometil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboniloxi)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304078) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se usó 8-trifluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. EM m/e 704,1 (M<sup>+</sup>+1).

Ejemplo 2-28 (no de acuerdo con la presente invención):

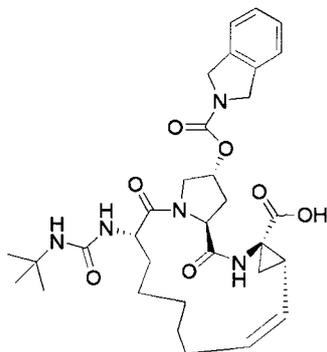


15

## Compuesto AR00304079

20 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-(3-ciclopentil-ureido)-18-(1,3-dihidroisoindol-2-carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00304079) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se usó 2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. EM m/e 622,2 (M<sup>+</sup>+1).

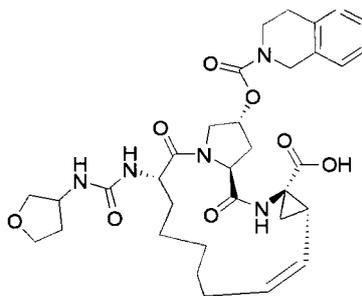
Ejemplo 2-29 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320078

5 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-(3-terc-butil-ureido)-18-(1,3-dihidroisoindol-2- carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00320078) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se usó 2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2, y que se usó isocianato de terc-butilo para reemplazar a isocianato de ciclopentilo en los procedimientos del ejemplo 2-24. EM m/e 610,1 (M<sup>+</sup>+1).

Ejemplo 2-30 (no de acuerdo con la presente invención):

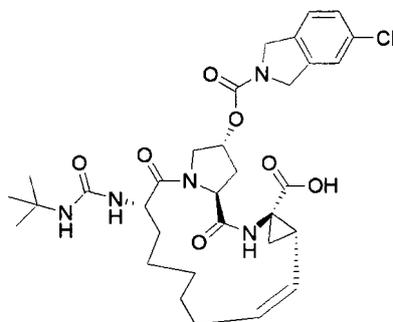


Compuesto AR00320221

10 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2- carboniloxi)-2,15-dioxo-14-[3-(tetrahydrofuran-3-il)-ureido]-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00320221) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se usó 3-isocianato-tetrahydrofurano para reemplazar a isocianato de ciclopentilo en los procedimientos del ejemplo 2-24. EM m/e 638,2

15 (M<sup>+</sup>+1).

Ejemplo 2-31 (no de acuerdo con la presente invención):

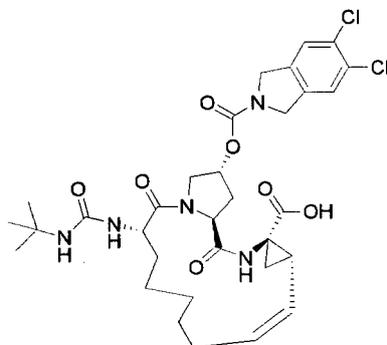


Compuesto AR00320449

20 Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-(3-terc-butil-ureido)-18-(5-cloro-1,3-dihidroisoindol-2- carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00320449) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se usó 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2, y que se usó isocianato de terc-butilo para reemplazar a isocianato de ciclopentilo en los procedimientos del ejemplo 2-24. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ

7,34 (s, 1H), 7,28-7,25 (m, 2H), 7,24 (s, 1H), 7,20 (s, 1H), 5,51 (m, 2H), 5,40 (s, 1H), 4,73-4,60 (m, 3H), 4,53 (t, 1H), 4,38 (d, 1H), 4,28 (d, 1H), 3,98 (dd, 1H), 2,43 (m, 2H), 2,38-2,30 (m, 1H), 2,12-2,00 (m, 2H), 1,81-1,70 (m, 1H), 1,64-1,56 (m, 3H), 1,48-1,20 (m, 8H), 1,18 (s, 9H). EM: m/e 644,0 ( $M^+$ ), 645,9 ( $M^++2$ )

Ejemplo 2-32 (no de acuerdo con la presente invención):



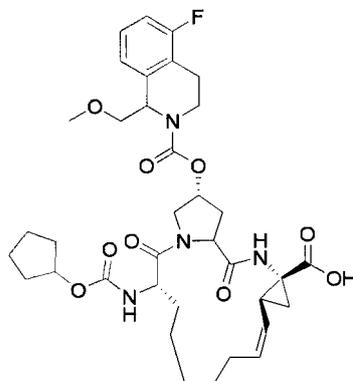
5

Compuesto AR00320450

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-(3-terc-butil-ureido)-18-(5,6-dicloro-1,3-dihidroisoindol-2- carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00320450) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-24, excepto que se usó 5,6-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2, y que se usó isocianato de terc-butilo para reemplazar a isocianato de ciclopentilo en los procedimientos del ejemplo 2-24. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,50 (s, 1H), 7,38 (s, 1H), 5,56 (q, 1H), 5,42-5,38 (m, 2H), 4,72-4,61 (m, 4H), 4,55 (t, 1H), 4,34 (dd, 1H), 4,28 (d, 1H), 3,92 (dd, 1H), 2,45-2,32 (m, 2H), 2,32-2,18 (m, 1H), 2,08-2,00 (m, 1H), 1,75-1,68 (m, 1H), 1,63-1,54 (m, 3H), 1,50-1,22 (m, 8H), 1,18 (s, 9H). EM: m/e 678,0 ( $M^+$ ), 680,0 ( $M^++2$ )

10

15 Ejemplo 2-33 (no de acuerdo con la presente invención):

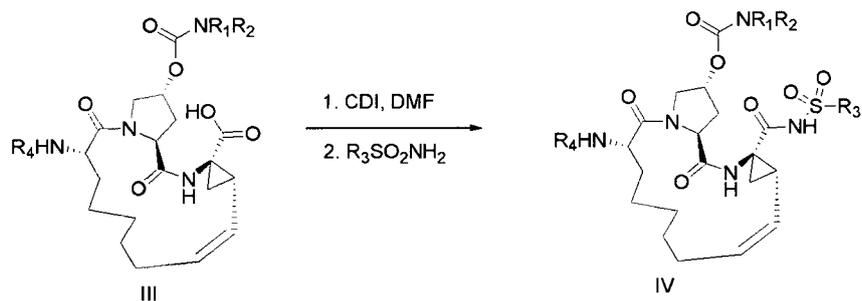


Compuesto AR00365381

Se sintetizó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-ciclopentiloxicarbonylamino-18-(5-fluoro-1-metoximetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2- carboniloxi)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-eno-4-carboxílico (compuesto AR00365381) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 2-1, excepto que se usó cloruro de 5-fluoro-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar al 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. EM (APCI-): m/z 697,4 ( $M-1$ ).

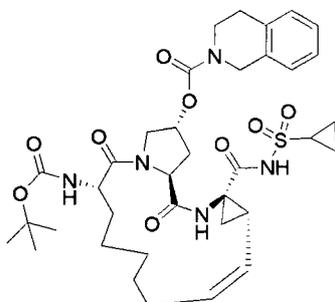
20

### 3. Preparación de compuestos con estructura general IV



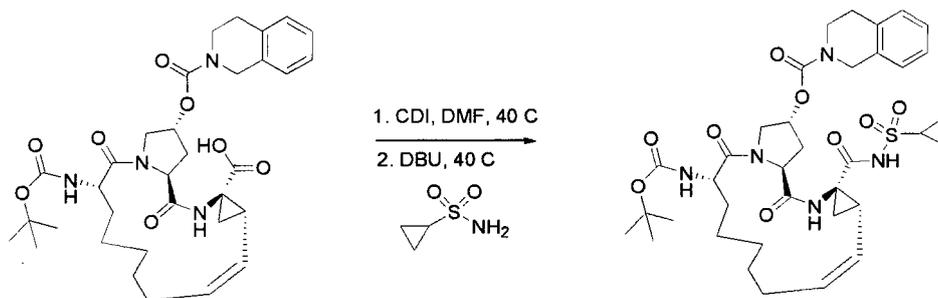
Se prepararon los compuestos con estructura general IV de acuerdo con el esquema mostrado anteriormente (1. Khan et al, Bioorg. & Med. Chem. Lett., 1997, 7 (23), 3017-3022. 2. Solicitud internacional PCT/US02/39926, documento WO 03/053349).

5 Ejemplo 3-1: (no de acuerdo con la presente invención)



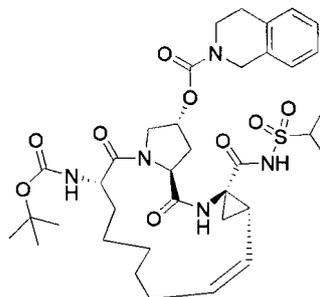
Compuesto AR00261408

10 **Síntesis de éster 14-terc-butoxicarbonilamino- 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (AR00261408)**



15 Se disolvió el ácido macrocíclico compuesto n.º 101 (7 mg, 0,011 mmol) en 0,1 ml de DMF, seguido de la adición de CDI (1,8 mg, 0,011 mmol). Se agitó la mezcla en un baño de aceite a 40 °C durante 1 h. Después, se añadió la ciclopropilsulfonamida (2,0 mg, 0,017 mmol) a la reacción, seguido de DBU (1,7 mg, 0,011 mmol). Se agitó la  
 20 reacción a 40 °C durante toda la noche. Después de 14 h, la LCEM mostró la terminación de la reacción. Se enfrió la reacción hasta TA, se particionó entre 2 ml de EA y 2 ml de HCl (ac.) al 5 %. Se lavó la capa orgánica con agua, bicarb. (2 ml ea), después se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Se realizó una cromatografía ultrarrápida del producto bruto en Biotage 12M (eluyente = DCM:MeOH 20:1), dando AR00261408 (4,2 mg, 52 %) RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ 0,80-2,10 (m, 25H), 2,20-2,27 (m, 1H), 2,37-2,59 (m, 3H), 2,84 (m, 1H), 3,60-3,70 (m, 1H), 3,82-3,90 (m, 1H), 4,20-4,30 (m, 2H), 4,45-4,70 (m, 5H), 4,95-5,05 (m, 2H), 5,30-5,48 (m, 2H), 5,74 (m, 1H), 6,74 (m, 1H), 7,0-7,23 (m, 4H). EM m/e 728,0 (M<sup>+</sup>+H).

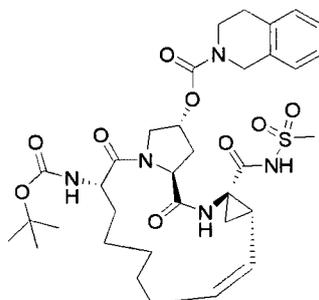
Ejemplo 3-2 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00261407

- 5 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-4-(propano-2-sulfonylamino-carbonil)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00261407) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-1, excepto que se usó isopropil sulfonamida para reemplazar a ciclopropil sulfonamida en la etapa de acoplamiento. EM m/e 728,4 (M-1).

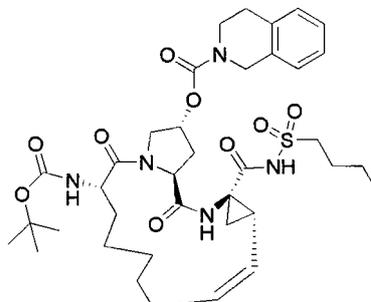
Ejemplo 3-3 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00254906

- 10 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-metanosulfonylamino-carbonil-2,15 -dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00254906) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-1, excepto que se usó metil sulfonamida para reemplazar a ciclopropil sulfonamida en la etapa de acoplamiento. RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ 1,20-1,52 (m, 16H), 1,54-1,98 (m, 5H), 2,20-2,30 (m, 1H), 2,38-2,46 (m, 1H), 2,47-2,59 (m, 3H), 2,84 (m, 1H), 3,18 (s, 3H), 3,56-3,70 (m, 1H), 3,82-3,90 (m, 1H), 4,22-4,33 (m, 2H), 4,47-4,69 (m, 4H), 4,90-5,10 (m, 2H), 5,47 (s.a., 1H), 5,74 (m, 1H), 6,74 (m, 1H), 7,03-7,23 (m, 4H). EM m/e 701,9 (M<sup>+</sup>), 602,2 (parental, MH<sup>+</sup>-grupo Boc).

Ejemplo 3-4 (no de acuerdo con la presente invención):

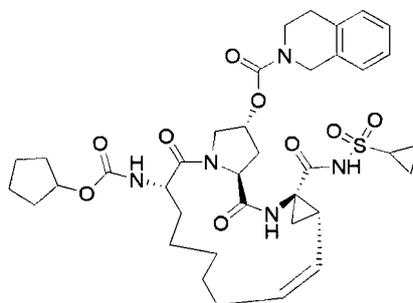


Compuesto AR00261409

- 20 Se sintetizó el éster 4-(butano-1-sulfonylamino-carbonil)-14-terc-butoxicarbonilamino-2,15 -dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00261409) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-1, excepto que se usó n-butil sulfonamida para reemplazar a ciclopropil sulfonamida en la etapa de acoplamiento. RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ 0,80-1,03 (m, 7H), 1,20-2,10 (m, 22H), 2,20-2,60 (m, 4H), 2,84 (m, 1H), 3,20 (m, 1H), 3,44 (m, 1H), 3,65 (m, 1H), 3,80-3,95 (m, 1H), 4,20-4,34 (m, 2H), 4,50-4,65 (m, 4H), 4,95-5,05 (m, 1H), 5,30-5,39 (m, 1H), 5,44-5,49 (m, 1H),

5,74 (m, 1H), 6,74 (m, 1H), 7,0-7,23 (m, 4H). EM /e 743,3 (M<sup>+</sup>, APCI-).

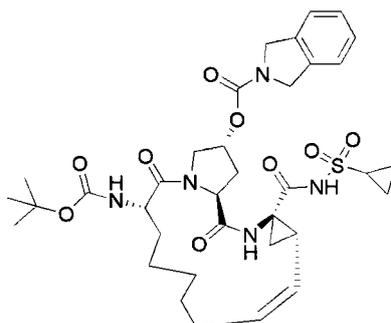
Ejemplo 3-5 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00282131

- 5 Se sintetizó el éster 14-ciclopentiloxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonylaminocarbonilo-2,15 -dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00282131) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 2-1 y 3-1. EM m/e 738,4 (M-1).

Ejemplo 3-6 (no de acuerdo con la presente invención):

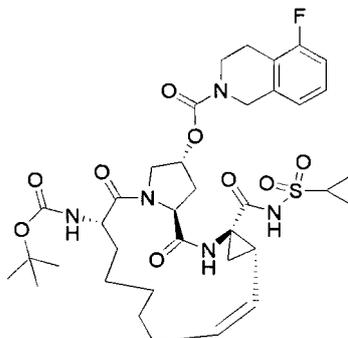


10

Compuesto AR00294381

- 15 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonylaminocarbonilo-2,15 -dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00294381) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-5 y 3-1. RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ 0,89-2,08 (m, 25H), 2,21-2,28 (m, 1H), 2,41-2,49 (m, 1H), 2,51-2,61 (m, 2H), 2,91 (m, 1H), 3,83 (m, 1H), 4,21 (m, 1H), 4,40 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 4,53-4,80 (m, 5H), 4,95-5,04 (m, 2H), 5,47 (s.a., 1H), 5,72 (m, 1H), 6,77 (m, 1H), 7,16 (m, 1H), 7,23-7,31 (m, 3H). EM m/e 712,3 (APCI-, M-H).

Ejemplo 3-7 (no de acuerdo con la presente invención):



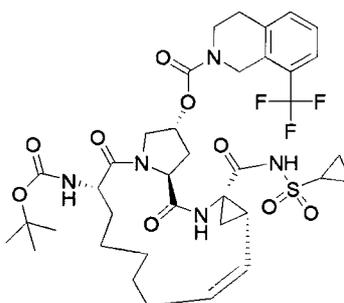
20

Compuesto AR00298996

- Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonylaminocarbonil-2,15 -dioxo-3,16-diaza-

5 triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-fluoro-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00298996) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que se usó 5-fluoro-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10,05 (s, 1H), 8,12 (s, 1H), 7,04 (s, 1H), 6,84-6,73 (m, 2H), 6,70 (s, 1H), 5,65 (q, 1H), 5,40 (s, 1H), 4,59 (m, 2H), 4,54-4,40 (m, 3H), 4,30-4,10 (m, 2H), 3,82-3,74 (m, 1H), 3,72-3,51 (m, 2H), 2,92-2,68 (m, 3H), 2,55-2,30 (m, 3H), 2,21-2,15 (m, 1H), 2,00-1,60 (m, 3H), 1,40-0,75 (m, 18H). EM: m/e 746,0 (M<sup>+</sup>).

Ejemplo 3-8 (no de acuerdo con la presente invención):

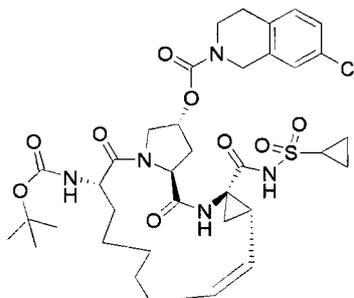


10

Compuesto AR00298997

15 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-8-trifluorometil-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00298997) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que se usó 8-trifluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,55 (dd, 1H), 7,42 (dd, 1H), 7,35 (t, 1H), 5,71-5,61 (m, 1H), 5,40 (m, 1H), 4,60 (s, 1H), 4,52 (m, 1H), 4,42 (m, 1H), 4,15 (m, 1H), 3,91 (m, 1H), 3,78-3,62 (m, 2H), 3,00-2,82 (m, 3H), 2,58-2,52 (m, 3H), 2,51-2,32 (m, 2H), 1,86-1,56 (m, 3H), 1,41 (m, 2H), 1,32-1,21 (m, 5H), 1,04-0,98 (m, 14H). EM: m/e 795,9 (M<sup>+</sup>).

Ejemplo 3-9 (no de acuerdo con la presente invención):

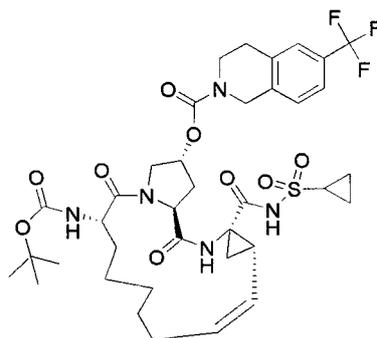


20

Compuesto AR00301746

25 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-7-cloro-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00301746) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que se usó 7-cloro-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10,10 (s, 1H), 7,08 (d, 1H), 7,02-6,96 (m, 2H), 6,60 (d, 1H), 5,64 (q, 1H), 5,40 (s, 1H), 4,92-4,41 (m, 2H), 4,55-4,40 (m, 3H), 4,28-4,12 (m, 2H), 3,82-3,75 (m, 1H), 3,65-3,46 (m, 3H), 2,88-2,80 (m, 1H), 2,78-2,56 (m, 2H), 2,52-2,42 (m, 1H), 2,38-2,30 (m, 1H), 2,21-2,12 (q, 1H), 1,82-1,74 (m, 2H), 1,45-1,12 (m, 16H), 1,10-0,98 (m, 2H), 0,90-0,75 (m, 2H). EM m/e 761,9 (M<sup>+</sup>)

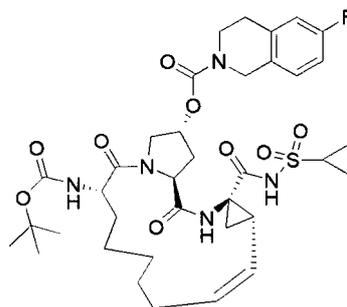
30 Ejemplo 3-10 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00301747

- Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15 -dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-6-trifluorometil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00301747) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que se usó 6-trifluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,44 (m, 2H), 7,38-7,30 (m, 1H), 7,28-7,24 (m, 1H), 5,65 (q, 1H), 5,40 (m, 1H), 5,08 (m, 1H), 4,56 (s.a., 2H), 4,60-4,50 (m, 1H), 4,48 (m, 1H), 4,15 (d, 1H), 3,88 (d, 1H), 3,75-3,67 (m, 2H), 2,93-2,82 (m, 3H), 2,66-2,54 (m, 1H), 2,52-2,44 (m, 1H), 2,42-2,40 (m, 2H), 1,91-1,76 (m, 2H), 1,74-1,70 (dd, 1H), 1,64-1,58 (m, 1H), 1,54-1,36 (m, 4H), 1,34-1,25 (m, 12H), 1,50-1,20 (m, 2H), 1,00-0,70 (m, 1H), 0,52-0,34 (m, 1H). EM: m/e 795,9 (M<sup>+</sup>)

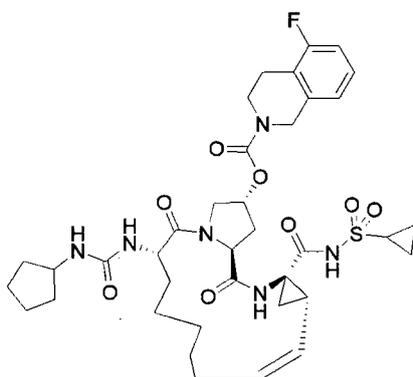
Ejemplo 3-11 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00301751

- Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-6-fluoro-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00301751) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que se usó 6-fluoro-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,21-7,02 (m, 1H), 6,92 (m, 2H), 6,92 (m, 2H), 5,68 (q, 1H), 5,40 (m, 1H), 5,08 (t, 1H), 4,58 (m, 2H), 4,45 (m, 1H), 4,12 (d, 1H), 3,88 (d, 1H), 3,78-3,60 (m, 3H), 2,86-2,72 (m, 3H), 2,71-2,61 (m, 1H), 2,52-2,42 (m, 1H), 2,41-2,34 (m, 1H), 1,88-1,76 (m, 2H), 1,74-1,70 (m, 1H), 1,64-1,58 (m, 1H), 1,56-1,38 (m, 2H), 1,37-1,24 (m, 14H), 1,13-1,04 (m, 2H), 1,02-0,89 (m, 1H), 0,88-0,82 (m, 1H). EM: m/e 746,0 (M<sup>+</sup>). EM m/e 757,2 (M<sup>+</sup>+1).

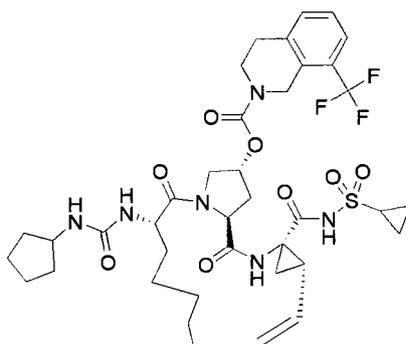
Ejemplo 3-12 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304080

5 Se sintetizó el éster 14-(3-ciclopentil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15 -dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-5-fluoro-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00304080) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que se usó 5-fluoro-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2.

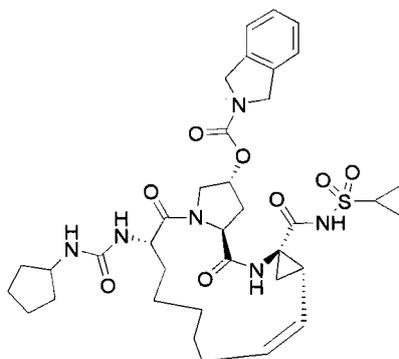
Ejemplo 3-13 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304081

10 Se sintetizó el éster 14-(3-ciclopentil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza -triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-8-trifluorometil-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00304081) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que se usó 8-trifluorometil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. EM m/e 807,2 (M<sup>+</sup>+1).

Ejemplo 3-14 (no de acuerdo con la presente invención):

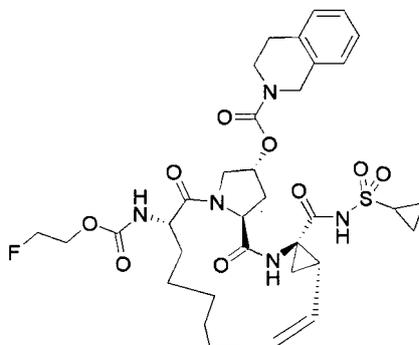


Compuesto AR00304082

Se sintetizó el éster 14-(3-ciclopentil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza -triciclo

[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00304082) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que se usó 2,3-dihidro-1*H*-isoindol para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. EM m/e 725,2 ( $M^+ + 1$ ).

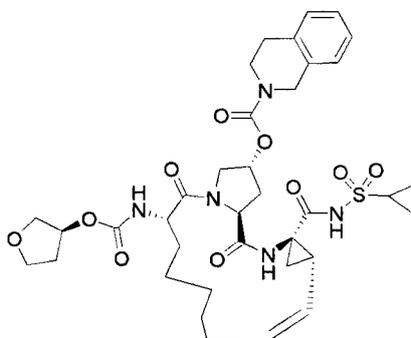
5 Ejemplo 3-15 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304161

10 Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-14-(2-fluoro-etoxicarbonilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00304161) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó 2-fluoroetanol para formar el reactivo de cloroformiato en la etapa 2 del ejemplo 2-1, en lugar de ciclopentanol. EM m/e 718,1 ( $M^+ + 1$ ).

Ejemplo 3-16 (no de acuerdo con la presente invención):

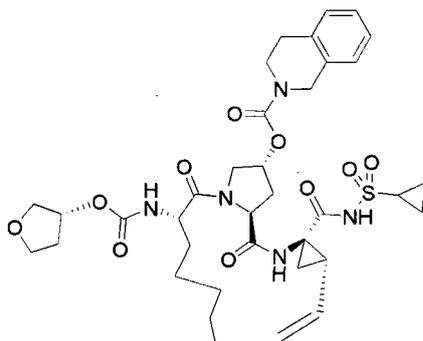


15

Compuesto AR00304162

20 Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(tetrahydrofuran-3-iloxicarbonilamino)- 3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin- 2-carboxílico (compuesto AR00304162) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó tetrahydro-furan-3*S*-ol para formar el reactivo de cloroformiato en la etapa 2 del ejemplo 2-1, en lugar de ciclopentanol. EM m/e 742,1 ( $M^+ + 1$ ).

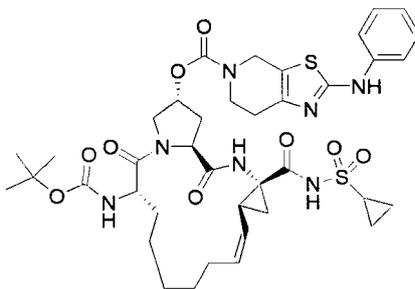
Ejemplo 3-17 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304163

5 Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(tetrahidrofuran-3R-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ilico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00304163) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó tetrahidro-furan-3*R*-ol para formar el reactivo de cloroformiato en la etapa 2 del ejemplo 2-1, en lugar de ciclopentanol. RMN de <sup>1</sup>H (d<sup>6</sup>-benceno, 500 MHz): δ 10,53 (s, 1 H), 6,78-6,96 (m, 4 H), 5,83-5,90 (m, 1 H), 5,66 (q, 1 H), 5,18-5,21 (m, 1 H), 5,13 (s.a., 1 H), 5,04 (s.a., 1 H), 4,41-4,87 (m, 3 H), 3,85-4,05 (m, 4 H), 3,67-3,74 (m, 1 H), 3,46-3,53 (m, 3 H), 3,23-3,34 (m, 1 H), 2,80-2,85 (m, 1 H), 2,34-2,59 (m, 4 H), 1,84-1,99 (m, 4 H), 0,98-1,60 (m, 14 H), 0,42-0,47 (m, 1 H), 0,27-0,32 (m, 1 H). EM m/e 741,2 (M-1).

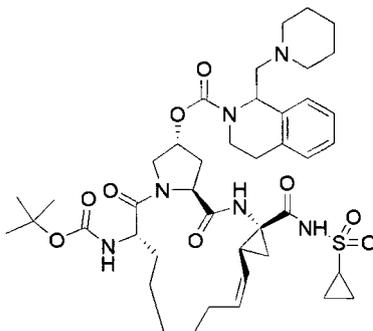
10 Ejemplo 3-18 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00311814

15 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15 -dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ilico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-2-fenilamino-6,7-dihidro-4*H*-tiazolo[5,4-*c*]piridin-5-carboxílico (compuesto AR00311814) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que se usó fenil-(4,5,6,7-tetrahidro-tiazolo[5,4-*c*]piridin-2-yl)-amina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. EM m/e 826,2 (M<sup>+</sup>+1).

Ejemplo 3-19 (no de acuerdo con la presente invención):

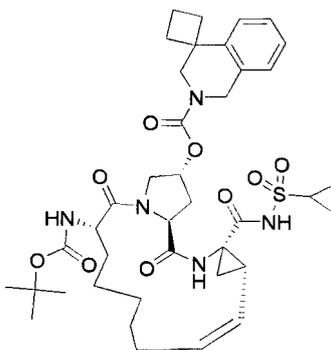


Compuesto AR00311815

20 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxi-carbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza- triciclo

5 [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1-piperidin-1-ilmetil-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00311815) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que se usó 1-piperidin-1-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8,94 (d, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,31 - 7,23 (m, 3H), 7,22 - 7,15 (m, 2H), 5,74-5,64 (m, 2H), 5,47 (s.a., 1H), 5,06 (t, 1H), 4,54 (dt, 1H), 4,40-4,17 (m, 4H), 4,11 - 4,04 (m, 1H), 3,96 - 3,88 (m, 1H), 3,75 - 3,40 (m, 5H), 3,14 - 2,32 (m, 7H), 2,05 (dd, 1H), 1,99 - 1,68 (m, 5H), 1,65 - 0,95 (m, 24H); EM (POS ESI) m/z 825,4 (M<sup>+</sup>).

Ejemplo 3-20 (no de acuerdo con la presente invención):

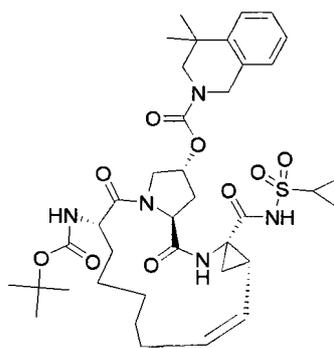


10

Compuesto AR00312024

15 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxi-carbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza - triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4,4-espirociclobutil-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00312024) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que se usó 4,4-espirociclobutil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,54-7,60 (m, 1H), 7,26 (dd, 1H), 6,97-7,21 (m, 1H), 5,66 (dd, 1H), 5,37-5,48 (m, 1H), 5,11 (dd, 1H), 4,58 (s, 2H), 4,39 (t, 3H), 4,11-4,26 (m, 1H), 3,77-3,96 (m, 1H), 3,87 (t, 3H), 3,60-3,70 (m, 1H), 2,83-2,93 (m, 1H), 2,23-2,68 (m, 6H), 1,70-2,23 (m, 7H), 1,18-1,69 (m, 18H), 0,81-1,12 (m, 3H). EM m/z 767,9 (M<sup>+</sup>+1)

Ejemplo 3-21 (no de acuerdo con la presente invención):

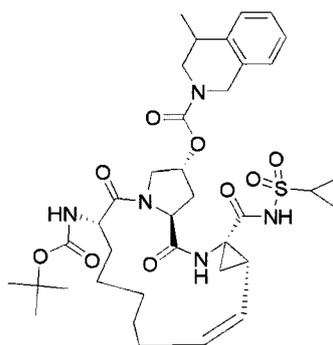


20

Compuesto AR00312025

25 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza - triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4,4-dimetil-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00312025) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que se usó 4,4-dimetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,31-7,40 (m, 1H), 6,97-7,23 (m, 3H), 5,67 (dd, 1H), 5,34-5,49 (m, 1H), 5,09 (dd, 1H), 4,64 (s, 1H), 4,50-4,61 (m, 1H), 4,33-4,44 (m, 3H), 4,11-4,24 (m, 1,0), 3,82-3,95 (m, 3H), 3,36-3,55 (m, 2H), 2,84-2,94 (m, 1H), 2,25-2,69 (m, 4H), 1,68-2,24 (m, 4H), 1,15-1,68 (m, 23H), 0,81-1,15 (m, 3H). EM m/z 756,0 (M<sup>+</sup>+1)

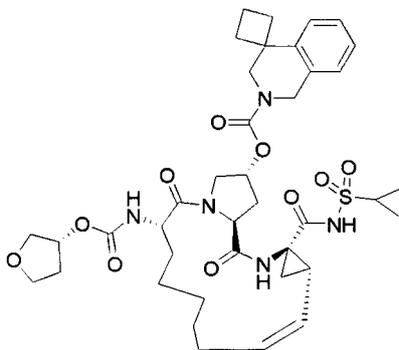
30 Ejemplo 3-22 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00312026

Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza -  
 5 triclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4-metil-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-  
 carboxílico (compuesto AR00312026) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1,  
 excepto que se usó 4-metil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la  
 etapa 4 del ejemplo 1-2. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,76 (s, 1H), 6,98-7,24 (m, 3H), 5,67 (dd, 1H), 5,2-5,51 (m,  
 10 1H), 5,04-5,15 (dd, 1H), 4,28-4,63 (m, 5H), 4,10-4,24 (m, 1H), 3,81-3,96 (m, 3H), 3,37-3,78 (m, 2H), 2,83-3,06 (m,  
 2H), 2,54-2,71 (m, 1H), 2,25-2,54 (m, 3H), 1,69-1,94 (m, 3H), 1,16-1,69 (m, 20H), 0,81-1,15 (3H). EM m/z 742,0  
 (M<sup>+</sup>+1)

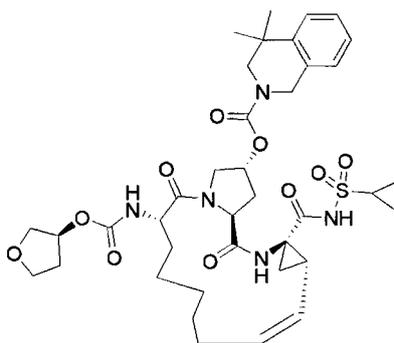
Ejemplo 3-23 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00314635

Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(tetrahydrofuran-3-iloicarbonilamino)- 3,16-  
 15 diaza -trico[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-4,4-espirociclobutil- 3,4-dihidro-1*H*-  
 isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00314635) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-  
 2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó 4,4-espirociclobutil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-  
 tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2, y se usó tetrahydro-furan-3*R*-ol para reemplazar a ciclopentanol  
 en la etapa 2 del ejemplo 2-1 para formar el agente de cloroformiato. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) δ 10,24-10,29  
 20 (s, 1H), 7,49-7,55 (m, 1H), 7,24 (dd, 1H), 7,14 (dd, 1H), 7,04 (dd, 1H), 6,81 (d 1H), 5,71 (dd, 1H), 4,95 (dd, 1H), 4,90  
 (s.a., 1H), 4,48-4,59 (m, 3H), 4,17-4,30 (m, 2H), 3,51-3,74 (m, 3H), 3,51-3,72 (6H), 2,80-2,86 (m, 1H), 2,36-2,54 (m,  
 3H), 2,10-2,33 (m, 4H), 1,80-2,10 (m, 6H), 1,24-1,80 (m, 7H), 0,65-1,24 (m, 10H). EM m/z 741,2 (M<sup>+</sup>+1)

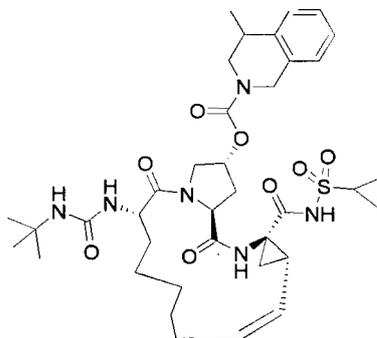
Ejemplo 3-24 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00314654

Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(tetrahydrofuran-3S-ilo)carbonilamino- 3,16-diaza-tricyclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4,4-dimetil-3,4-dihidro- 1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00314654) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó 4,4-dimetil-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahydro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2, y se usó tetrahydro-furan-3S-ol para reemplazar a ciclopentanol en la etapa 2 del ejemplo 2-1 para formar el agente de cloroformiato. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) δ 8,51-8,64 (s.a., 1H), 7,26-7,36 (m, 1H), 7,09-7,19 (m, 2H), 6,98-7,08 (m, 1H), 5,70 (dd, 1H), 4,95 (dd, 1H), 4,83 (d, 1H), 4,44-4,72 (m, 3H), 4,17-4,30 (m, 2H), 3,25-3,91 (m, 9H), 2,80-2,86 (m, 1H), 2,35-2,55 (m, 4H), 2,13-2,34 (m, 4H), 1,91-2,07 (m, 2H), 1,80-1,90 (m, 2H), 1,66-1,80 (m, 2H), 1,51-1,63 (m, 2H), 1,30-1,51 (m, 2H), 0,96-1,15 (m, 3H), 0,65-0,95 (m, 9H). EM m/z 770,1 (M<sup>+</sup>+1)

Ejemplo 3-25 (no de acuerdo con la presente invención):

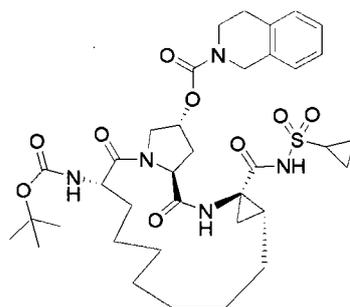


Compuesto AR00314656

Se sintetizó el éster 14-(3-terc-butil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15 4-dioxo-3,16-diaza-tricyclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-metil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00314656) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que se usó 4-metil-1,2,3,4-tetrahydro-isoquinolina para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2, y se usó isocianato de t-butilo para reemplazar a isocianato de ciclohexilo en el ejemplo 2-24.

RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) δ 7,60-7,72 (m, 1H), 7,06-7,48 (m, 4H), 5,73 (dd, 1H), 5,39-5,48 (m 1H), 5,18-5,27 (s.a. 1H), 4,98 (dd, 1H), 4,79-4,90 (s.a., 1H), 4,30-4,72 (m, 4H), 3,40-3,77 (m, 5H), 2,97 (d, 1H), 2,83-2,90 (m, 1H), 2,37-2,58 (m, 3H), 2,17-2,30 (dt, 1H), 2,22-2,35 (dt, 1H), 1,97-2,07 (m, 1H), 1,82-1,95 (m, 2H), 1,68-1,79 (m, 1H), 1,55-1,66 (m, 2H), 1,05-1,55 (m, 15H), 0,83-0,98 (m, 3H). EM m/z 741,2 (M<sup>+</sup>+1)

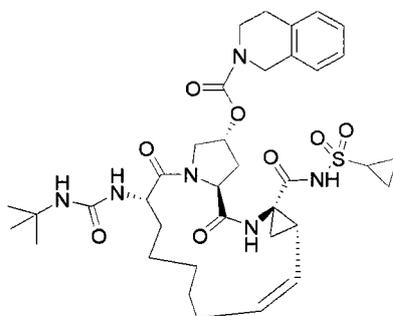
Ejemplo 3-26 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00314719

5 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonio-2,15 -dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00314719) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-22 y 3-1. EM m/e 630,2 (M<sup>+</sup>+100).

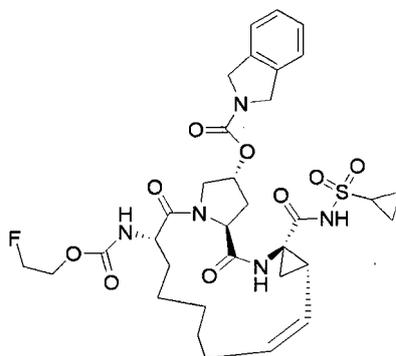
Ejemplo 3-27 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320001

10 Se sintetizó el éster 14-(3-terc-butil-ureido)4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-3,4-dihidro-1*H*-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00320001) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que se usó isocianato de t-butilo para reemplazar a isocianato de ciclopentilo en el ejemplo 2-24. EM m/e 725,7 (M-1).

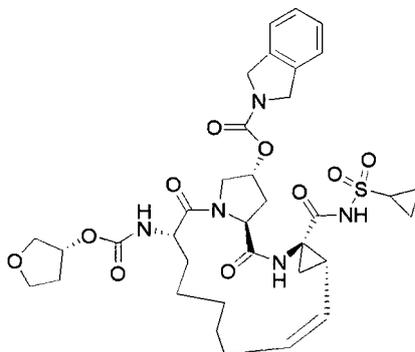
Ejemplo 3-28 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320073

15 Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-14-(2-fluoro-etoxicarbonilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00320073) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó 2,3-dihidro-1*H*-isoindol para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2, y se usó 2-fluoroetanol para reemplazar el ciclopentanol en la etapa 2 del ejemplo 2-1, para formar el reactivo de cloroformiato. EM m/e 704,0 (M<sup>+</sup>+1).

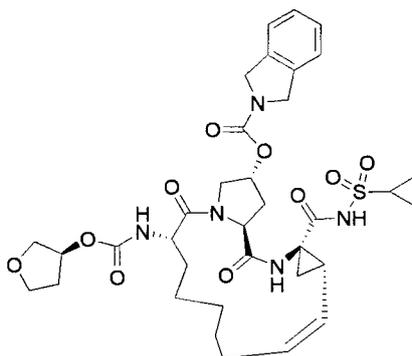
20

Ejemplo 3-29 (no de acuerdo con la presente invención):

Compuesto AR00320079

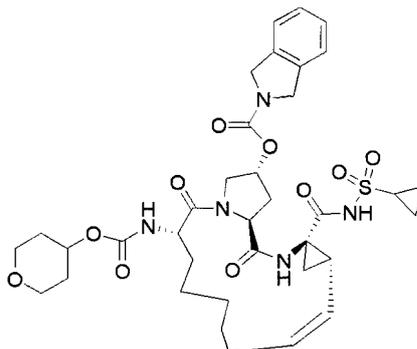
- 5 Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(tetrahydro-furan-3-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00320079) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó 2,3-dihidro-1*H*-isoindol para reemplazar a 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2, y se usó tetrahydro-furan-3*R*-ol para reemplazar el ciclopentanol en la etapa 2 del ejemplo 2-1, para formar el reactivo de cloroformiato. EM m/e 728,1 ( $M^+ + 1$ ).

- 10 Ejemplo 3-30 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320080

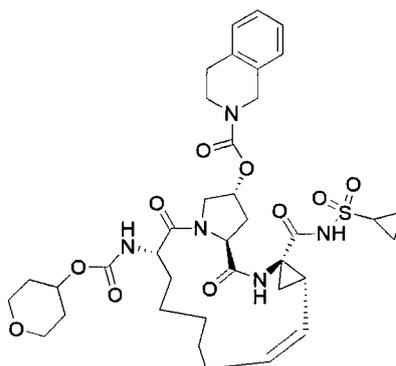
- 15 Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil- 2,15-dioxo-14-(tetrahydro-furan-3*S*-iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1*S*, 4*R*, 6*S*, 14*S*, 18*R*)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (Compuesto AR00320080) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó 2,3-dihidro-1*H*-isoindol para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2, y se usó tetrahydro-furan-3*S*-ol para reemplazar el ciclopentanol en la etapa 2 del ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformiato. EM m/e 728,1 ( $M^+ + 1$ ).

Ejemplo 3-31 (no de acuerdo con la presente invención):

## Compuesto AR00320081

5 Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil- 2,15-dioxo-14-(tetrahidro-piran-4-iloxicarbonilamino)- 3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (Compuesto AR00320081) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó 2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2, y se usó tetrahidro-piran-4-ol para reemplazar el ciclopentanol en la etapa 2 del ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformiato. EM m/e 742,1 (M<sup>+</sup>+1).

Ejemplo 3-32 (no de acuerdo con la presente invención):

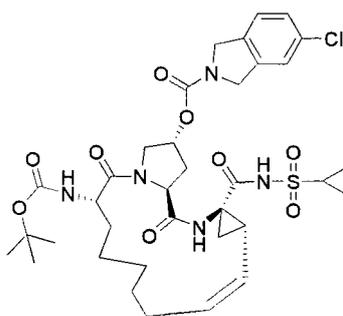


10

## Compuesto AR00320082

15 Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-(tetrahidro-piran-4- iloxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (Compuesto AR00320082) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó tetrahidro-piran-4-ol para reemplazar el ciclopentanol en la etapa 2 del ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformiato. EM m/e 756,1 (M<sup>+</sup>+1).

Ejemplo 3-33 (no de acuerdo con la presente invención):

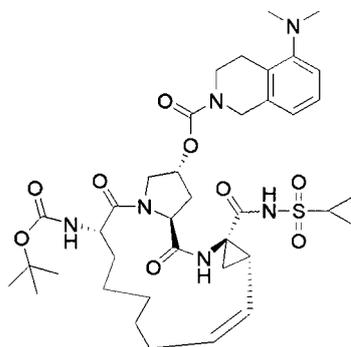


## Compuesto AR00320119

20 Se sintetizó el éster (14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclo-propanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido 1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-cloro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (Compuesto AR00320119) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que se usó 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,36 (s, 1H), 7,30 (s, 1H), 7,28 (s, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,12-7,20 (m, 1H), 6,64 (s.a., 1H), 5,72-5,64 (m, 1H), 5,41 (s, 1H), 5,14-5,04 (m, 1H), 4,80-4,62 (m, 2H), 4,61-4,56 (t, 1H), 4,54-4,48 (m, 1H), 4,10 (d, 1H), 3,85 (d, 1H), 2,90 (m, 1H), 2,65 (s.a., 1H), 2,54-2,48 (m, 1H), 2,46-2,32 (m, 2H), 1,91-1,72 (m, 2H), 1,64-1,56 (m, 2H), 1,56-1,21 (m, 8H), 1,18 (s, 9H), 1,12-1,05 (m, 1H) 1,00 (m, 1H), 0,94-0,82 (m, 2H). EM m/e 747,9 (M<sup>+</sup>)

25

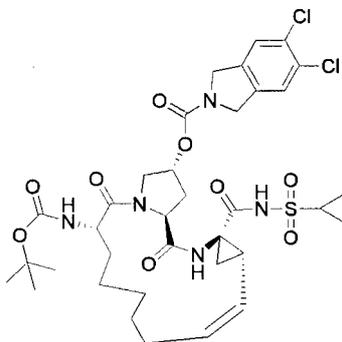
Ejemplo 3-34 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320120

Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-dimetilamino-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00320120) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que se usó dimetil-(1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-5-il)-amina (Ejemplo 1-25a) para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-iso-quinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10,08 (s, 1H), 7,13-7,05(m, 1H), 6,88-6,81 (d, 1H), 6,77 (d, 1H), 6,68 (d, 1H), 6,61-6,53 (s, 1H), 5,71-5,60 (q, 1H), 5,40 (s, 1H), 5,00-4,88 (m, 2H), 4,55-4,38 (m, 3H), 4,24-4,16 (m, 2H), 3,88-3,77 (d, 1H), 3,64-3,41 (m, 3H), 2,91-2,69 (m, 3H), 2,61 (s, 6H), 2,53-2,41 (m, 2H), 2,40-2,39 (m, 1H), 2,22-2,11 (m, 1H), 1,89-1,72 (m, 1H), 1,61-1,22 (m, 10H), 1,18 (s, 9H), 1,09-0,97 (m, 2H), 0,91-0,76 (m, 2H). EM: 771,1 (M<sup>+</sup>), 772,1 (M<sup>+</sup>+1), 773,1 (M<sup>+</sup>+2)

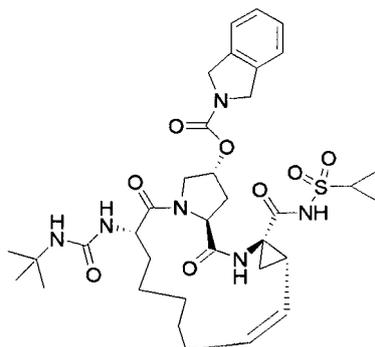
Ejemplo 3-35 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320121

Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5,6-dicloro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00320121) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que se usó 5,6-dicloro-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,52 (s, 1H), 7,38 (s, 1H), 6,61 (s.a., 1H), 5,72-5,65 (q, 1H), 5,40 (s, 1H), 5,08 (t, 1H), 4,78-4,62 (m, 3H), 4,63-4,57 (t, 1H), 4,50 (d, 1H), 4,20 (d, 1H), 3,65 (d, 1H), 2,90 (m, 1H), 2,55 (m, 1H), 2,52-2,45 (m, 1H), 2,46-2,31 (m, 2H), 1,91-1,75 (m, 3H), 1,67-1,60 (m, 1H), 1,58-1,25 (m, 8H), 1,18 (s, 9H), 1,12-1,05 (m, 2H), 1,04-0,81 (m, 2H). EM: m/e 781,9 (M<sup>+</sup>)

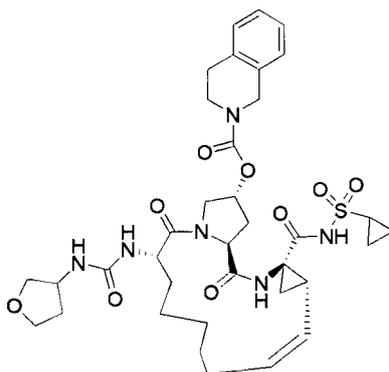
Ejemplo 3-36 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320220

Se sintetizó el éster 14-(3-terc-butil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00320220) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que se usó 2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2, y que se usó isocianato de t-butilo para reemplazar el isocianato de ciclopentilo en el ejemplo 2-24. EM m/e 713,1 (M<sup>+</sup>+1).

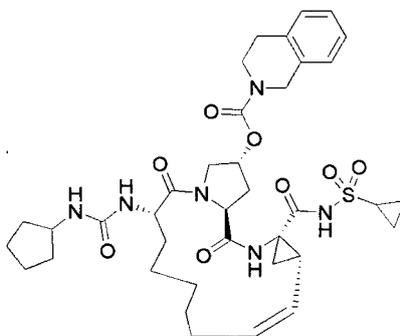
Ejemplo 3-37 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320222

Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-[3-(tetrahydro-furan-3-il)-ureido]-3,16- diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-dihidro-1H-isoquinolin- 2-carboxílico (compuesto AR00320222) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que se usó 3-isocianato-tetrahidrofurano para reemplazar isocianato de ciclopentilo en el ejemplo 2-24. EM m/e 740,8 (M<sup>+</sup>+1).

Ejemplo 3-38 (no de acuerdo con la presente invención):

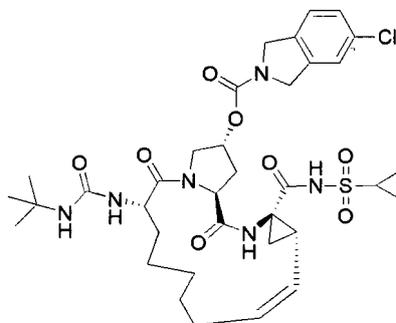


Compuesto AR00320403

Se sintetizó el éster (14-(3-ciclopentil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo

[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido 1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00320403) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1. EM m/e 739,2 (M<sup>+</sup>+1).

Ejemplo 3-39 (no de acuerdo con la presente invención):



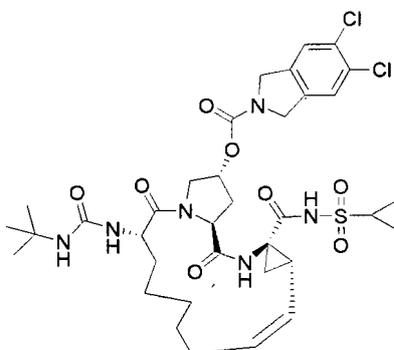
5

Compuesto AR00320446

Se sintetizó el éster (14-(3-terc-butil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido 1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-cloro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00320446) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que se usó 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2, y que se usó isocianato de t-butilo para reemplazar el isocianato de ciclopentilo en el ejemplo 2-24. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ-7,35 (s, 1H), 7,28 (s, 1H), 7,26 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 7,18 (s, 1H), 5,65-5,72 (q, 1H), 5,45 (s, 1H), 5,06 (t, 1H), 4,74-4,60 (m, 4H), 4,56 (t, 1H), 4,46 (m, 1H), 4,22 (d, 1H), 3,87-3,91 (dd, 1H), 2,86-2,94 (m, 1H), 2,65-2,54 (m, 1H), 2,52-2,45 (m, 1H), 2,42-2,34 (m, 2H), 1,92-1,83 (m, 1H), 1,78-1,70 (m, 2H), 1,62-1,56 (m, 1H), 1,54-3,92 (m, 4H), 1,39-1,23 (m, 7H), 1,12 (s, 9H), 1,02-0,98 (m, 1H), 0,94-0,86 (m, 1H). EM: m/e 747,1 (M<sup>+</sup>), 749,1 (M<sup>+</sup>+2)

15

Ejemplo 3-40 (no de acuerdo con la presente invención):

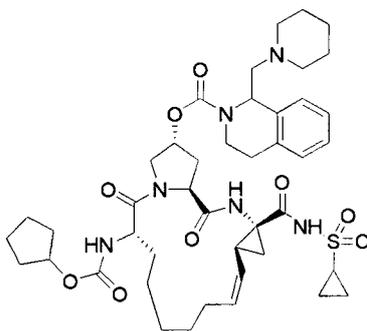


Compuesto AR00320447

20 Se sintetizó el éster 14-(3-terc-butil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5,6-dicloro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00320447) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que se usó 5,6-dicloro-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar la 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2, y que se usó isocianato de t-butilo para reemplazar el isocianato de ciclopentilo en el ejemplo 2-24. EM: m/e 781,1 (M<sup>+</sup>). 783,1 (M<sup>+</sup>+2)

25

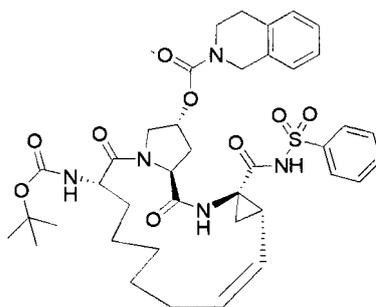
Ejemplo 3-41 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320506

5 Se sintetizó el éster 14-ciclopentiloxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1-piperidin-1-ilmetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00320506) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó 1-piperidin-1-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar la 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. EM (POS ESI) m/z 837,4 (M<sup>+</sup>).

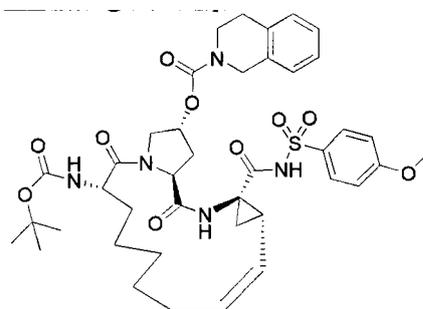
Ejemplo 3-42 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320547

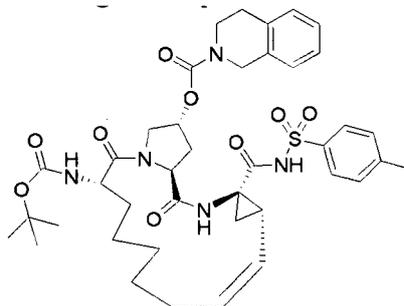
10 Se sintetizó el éster 4-bencenosulfonilaminocarbonil-14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00320547) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que se usó bencenosulfonamida para reemplazar la ciclopropilsulfonamida en la etapa de acoplamiento del ejemplo 3-1. EM m/e 762,3 (M-1).

Ejemplo 3-43 (no de acuerdo con la presente invención):



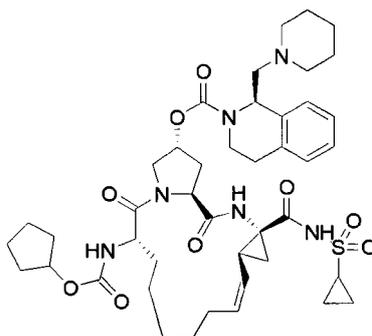
Compuesto AR00320548

20 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-(4-metoxi-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00320548) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que se usó 4-metoxi-bencenosulfonamida para reemplazar la ciclopropilsulfonamida en la etapa de acoplamiento del ejemplo 3-1. EM m/e 792,3 (M-1).

Ejemplo 3-44 (no de acuerdo con la presente invención):

Compuesto AR00320549

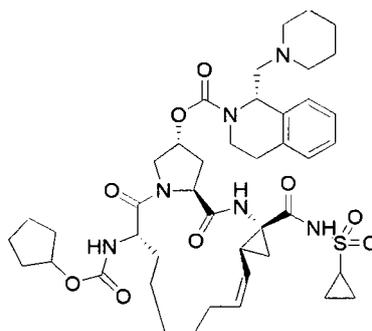
- 5 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-di-oxo-4-(tolueno-4-sulfonilaminocarbonil)-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00320549) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que se usó 4-metil-bencenosulfonamida para reemplazar la ciclopropilsulfonamida en la etapa de acoplamiento del ejemplo 3-1. EM m/e 776,3 (M<sup>+</sup>+1).

Ejemplo 3-45 (no de acuerdo con la presente invención):

Compuesto AR00320556

- 10 Se sintetizó el éster 14-ciclopentiloxycarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1-piperidin-1R-ilmetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00320556) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó 1-piperidin-1R-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar la 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8,99 (s.a., 1H), 7,34 -7,13 (m, 6H), 5,75 - 5,65 (m, 2H), 5,44 (s.a., 1H), 5,06 (t, 1H), 4,60 (t, 1H), 4,51 (d, 1H), 4,44 - 4,16 (m, 2H), 4,12 -3,97 (m, 2H), 3,86 (d, 1H), 3,75 - 3,38 (m, 2H), 3,07 (t, 2H), 2,96 - 2,86 (m, 1H), 2,78 (d, 1H), 2,66 (s.a., 1H), 2,56 - 2,26 (m, 3H), 2,06 (d, 1H), 1,99 - 1,66 (m, 10H), 1,65 - 1,21 (m, 18H), 1,15 - 0,95 (m, 3H); EM (POS ESI) m/z 837,4 (M<sup>+</sup>).

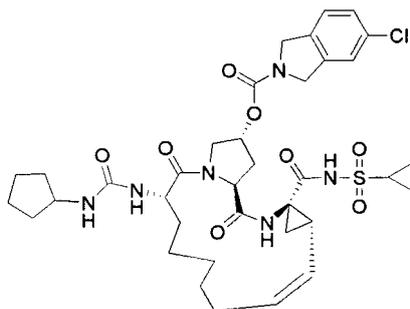
- 20 Ejemplo 3-46 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320557

- 5 Se sintetizó el éster 14-ciclopentiloxycarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1-piperidin-1S-ilmetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00320557) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó 1-piperidin-1S-ilmetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina para reemplazar la 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,32 - 7,14 (m, 6H), 6,87 (s.a., 1H), 5,72 - 5,60 (m, 2H), 5,47 - 5,39 (m, 1H), 5,11 (s.a., 1H), 4,58 (t, 1H), 4,53 - 3,86 (m, 8H), 3,67 - 3,40 (m, 2H), 3,08 - 2,85 (m, 1H), 2,78 (d, 1H), 2,65 - 2,24 (m, 4H), 2,10 - 1,22 (m, 27H), 1,19 (dt, 1H), 1,10 - 1,02 (m, 2H), 1,01 - 0,93 (m, 1H), 0,89 (q, 1H); EM (POS ESI) m/z 837,4 (M<sup>+</sup>).

Ejemplo 3-47 (no de acuerdo con la presente invención):

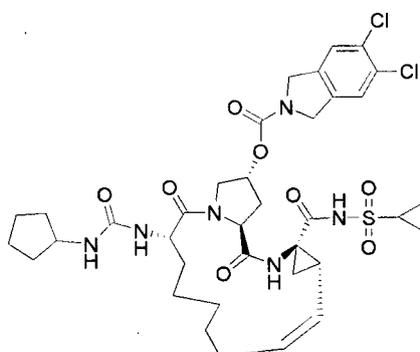


10

Compuesto AR00320574

- 15 Se sintetizó el éster 14-(3-ciclopentil-ureido)-4- ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-cloro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00320574) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que se usó 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. EM: m/e 759,1 (M<sup>+</sup>), 761,1 (M<sup>+</sup>+2)

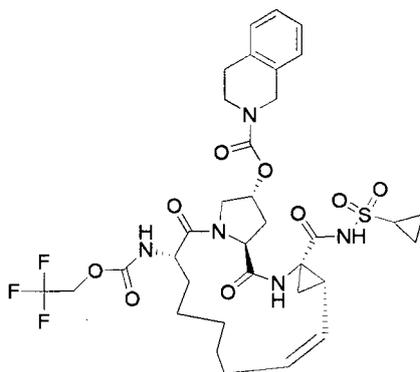
Ejemplo 3-48 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320575

- 20 Se sintetizó el éster 14-(3-ciclopentil-ureido)-4- ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5,6-dicloro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00320575) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-24 y 3-1, excepto que se usó 5,6-dicloro-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina en la etapa 4 del ejemplo 1-2. EM: m/e 793,1 (M<sup>+</sup>)

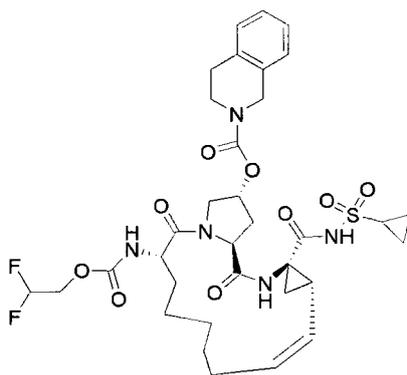
- 25 Ejemplo 3-49 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320578

5 Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonylamino-carbonil -2,15-dioxo-14-(2,2,2-trifluoroetoxycarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00320578) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó 2,2,2-trifluoro-etanol para reemplazar el ciclopentanol en la etapa 2 del ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformiato. EM m/e 754,0 (M<sup>+</sup>+1).

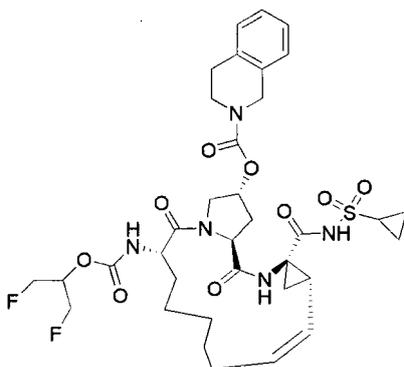
Ejemplo 3-50 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320579

10 Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonylamino-carbonil -14-(2,2-difluoro-etoxycarbonilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00320579) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó 2,2-difluoro-etanol para reemplazar el ciclopentanol en la etapa 2 del ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformiato. EM m/e 736,0 (M<sup>+</sup>+1).

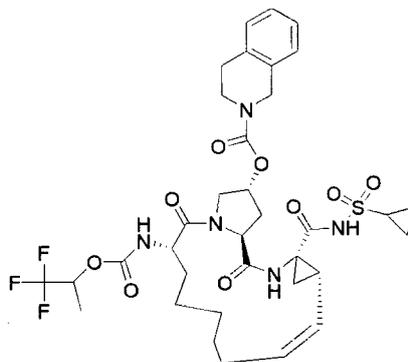
Ejemplo 3-51 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320580

Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil -14-(2-fluoro-1-fluorometiletoxicarbonilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00320580) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó 1,3-difluoro-propan-2-ol para reemplazar el ciclopropanol en la etapa 2 del ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformiato. EM m/e 750,1 (M<sup>+</sup>+1).

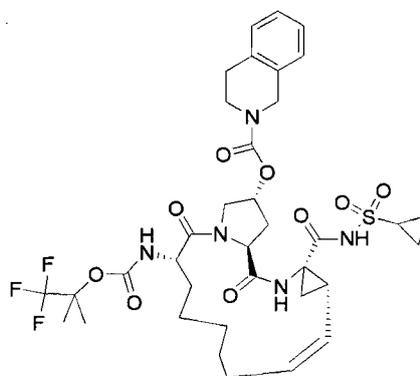
Ejemplo 3-52 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320581

10 Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil -2,15-dioxo-14-(2,2,2-trifluoro-1-metiletoxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00320581) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó 1,1,1-trifluoro-propan-2-ol para reemplazar el ciclopropanol en la etapa 2 del ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformiato. EM m/e 768,1 (M<sup>+</sup>+1).

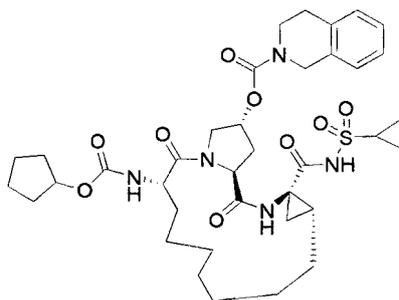
Ejemplo 3-53 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00320582

15  
20 Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil -2,15-dioxo-14-(2,2,2-trifluoro-1,1-dimetiletoxicarbonilamino)-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00320582) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2, 2-1 y 3-1, excepto que se usó 1,1,1-Trifluoro-2-metil-propan-2-ol para reemplazar el ciclopropanol en la etapa 2 del ejemplo 2-1 para formar el reactivo de cloroformiato. EM m/e 782,1 (M<sup>+</sup>+1).

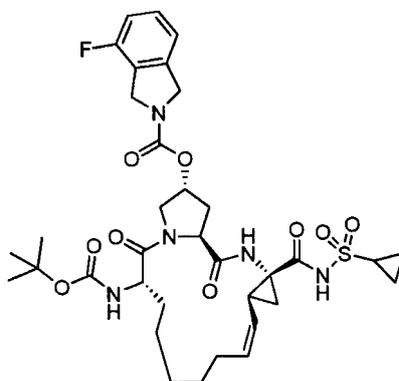
Ejemplo 3-54 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00324375

5 Se sintetizó el éster 14-ciclopentiloxicarbonilamino -4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo- 3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-3,4-dihidro-1H-isoquinolin- 2-carboxílico (compuesto AR00324375) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-22, 2-1 y 3-1. EM m/e 740,5 (M<sup>+</sup>+1).

### Ejemplo 3-55



Compuesto AR00334191

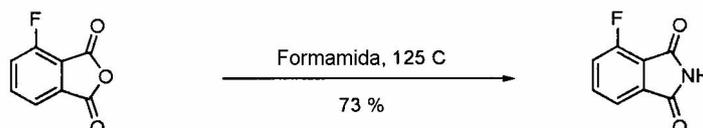
10 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino- 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo- 3,16-diaza-triciclo[14.3.0.04,6]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-fluoro-1,3-dihidro-isoindol- 2-carboxílico (compuesto AR00334191) de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que en la etapa 4 del ejemplo 1-2, se usó 4-fluoro-2,3-dihidro-1H-isoindol en sustitución de 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, d<sub>6</sub>-acetona) δ 10,70 (s.a., 1 H), 8,34 (d, 1 H), 7,39 - 7,33 (m, 1 H), 7,20 (d, 1 H), 7,10 - 7,02 (m, 2 H), 6,13 (d, 1 H), 5,70 (q, 1 H), 5,44 (s.a., 1 H), 4,99 (t, 1H), 4,78 - 4,59 (m, 5 H), 4,18 - 4,08 (m, 1 H), 3,88 - 3,81 (m, 1 H), 2,86 - 2,78 (m, 3 H), 2,71 - 2,60 (m, 1 H), 2,52 - 2,35 (m, 3 H), 1,92 - 1,81 (m, 2 H), 1,75 (t, 1 H), 1,61 - 1,14 (m, 17 H), 1,04 - 0,95 (m, 2 H); - APCI EM m/z 730,4 (M-1).

15

### Ejemplo 3-55a

Se preparó el 4-fluoro-2,3-dihidro-1H-isoindol usado en el ejemplo 3-55 en las siguientes dos etapas:

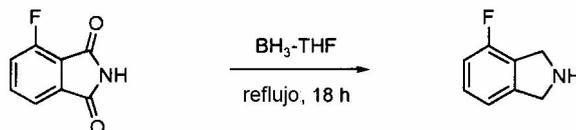
20 Etapa 1:



El mejor resultado se produjo cuando se lleva el material de partida en formamida 0,5 M y se calienta hasta 125 °C durante de 1 a 5 h dependiendo de la escala. El material de partida no es soluble en formamida hasta que la temperatura es > 60 °C. Tras la terminación de la reacción monitorizada por CL/EM (apcineg), se retira el calor y se añade 3 veces el volumen de la reacción. A continuación, se deja que la reacción se caliente hasta temperatura ambiente y se agita hasta que se forma un precipitado amarillo pálido. Se separa por filtración el producto sólido amarillo y se lava con agua antes de secarse durante toda la noche para dar rendimientos de un 70 - 77 %.

25

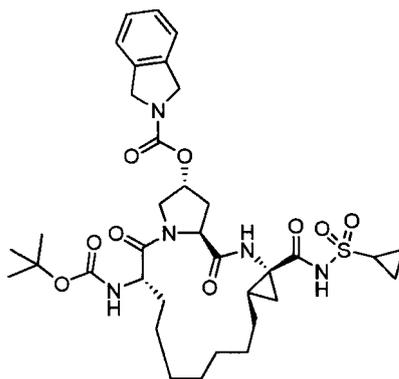
Etapa 2:



Al material de partida, en un matraz de fondo redondo, se le añade 4 equivalentes de BH<sub>3</sub>-THF 1 M gota a gota usando un embudo de adición para formar una solución dorada que, después de calentarla y agitarla, se vuelve de color cobre. Después, se calienta la reacción a reflujo durante 18 h.

Después, se enfría la reacción hasta temperatura ambiente (TA) y después hasta 0 °C en un baño de hielo. Se añaden gota a gota 4 equivalentes de MeOH y se retira el baño de hielo de modo que se pueda calentar la reacción desactivada hasta TA. El color de la reacción se vuelve oscuro durante este procedimiento de calentamiento. A continuación, se añade gota a gota HCl 6 N a TA hasta que el papel de pH muestra que la reacción es ácida y se somete a reflujo la reacción (63 °C) durante 1 h. Después se dejó enfriar la reacción hasta TA. En este punto, se concentró la reacción y se lavó con Et<sub>2</sub>O (2x) y DCM (2x). Después, se llevó la capa acuosa hasta pH = 11 con bolitas de NaOH pellets. Se añadió más agua y se extrajo la capa acuosa con éter (4x). Se secaron los extractos combinados sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para dar un producto oleoso de color canela claro, que se usó directamente. La recuperación de masa siempre es ligeramente mayor que en teoría, pero el material se usa en

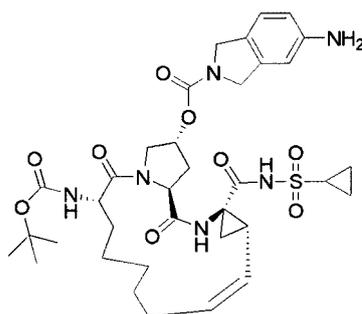
Ejemplo 3-56 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00333833

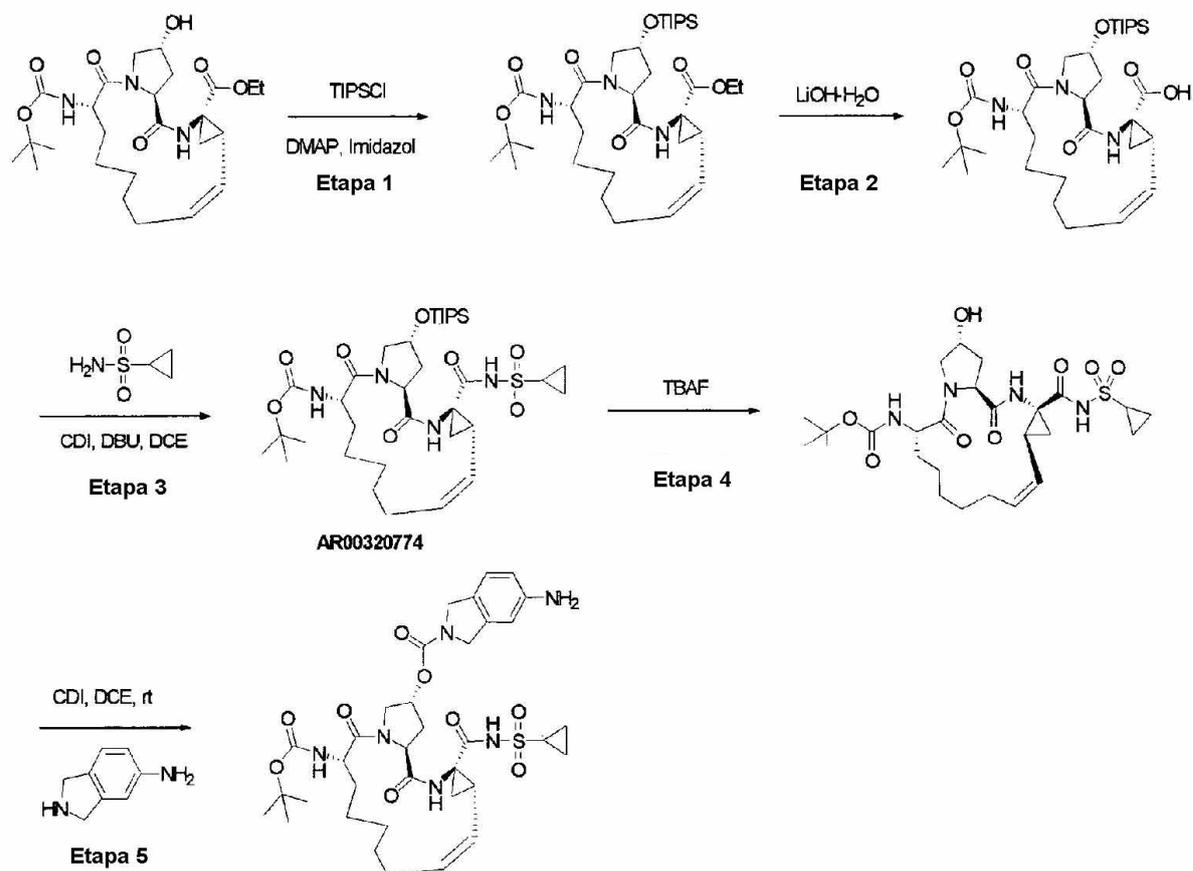
Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino- 4-ciclopro-panesulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.04,6]nonadec-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00333833) de acuerdo con los ejemplos 1-2 y 3-1, excepto que en las etapas del ejemplo 1-2 análogas, se usó 2,3-dihidro-1H-isoindol en la etapa 4, y se redujo adicionalmente el producto 10 de metátesis de cierre de anillo de la etapa 3 del ejemplo 1-2 con H<sub>2</sub> / Rh-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> antes de la siguiente etapa de acoplamiento de acuerdo con un procedimiento de la literatura (documento WO 0059929, p. 76-77). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>SOCD<sub>3</sub>) δ 11,11 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 7,16-7,29 (m, 4H), 6,95 (d, 1H), 5,25 (s.a., 1H), 4,50-4,60 (s.a., 4H), 4,40 (dd, 1H), 4,23 (d, 1H), 3,93 (m, 1H), 3,68 (d, 1H), 2,92 (m, 1H), 2,32 (dd, 1H), 2,11 (m, 1H), 1,40-1,68 (m, 2H), 0,92-1,40 (m, 19H). EM m/z 717,0 (M+1).

Ejemplo 3-57 (no de acuerdo con la presente invención)



## Compuesto AR00334286

Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-amino-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00334286) de acuerdo con los procedimientos mostrados en el siguiente esquema.



5

Etapa 1. Síntesis de éster etílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo- 18-triisopropilsilaniloxi-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-ene-4-carboxílico. A una solución del intermedio de hidroximacrocycle libre (compuesto 10 del ejemplo 1-2, 5,0 g, 10,1 mmol) en DriSolve DCM (30 ml) se le añadió imidazol (827 mg, 1,2 equiv) y TIPSCl (2,15 g, 1,1 equiv). Se agitó la mezcla de reacción a TA durante 18 h. La TLC (5 % MeOH-DCM) mostró que aún quedaba una cantidad considerable de SM. A esta mezcla de reacción se le añadió más imidazol (410 mg), TIPSCl (1 g) y DMAP (121 mg). Después de agitar durante toda la noche, la mezcla de reacción mostró que quedaba una pequeña cantidad de SM. Se lavó la mezcla de reacción con agua (2 x 25 ml). Se retrolavó la capa acuosa combinada con DCM (25 ml). Se secó la capa orgánica combinada y se concentró para dar un aceite de color amarillento claro. Se usó el material bruto en la siguiente etapa sin purificación adicional.

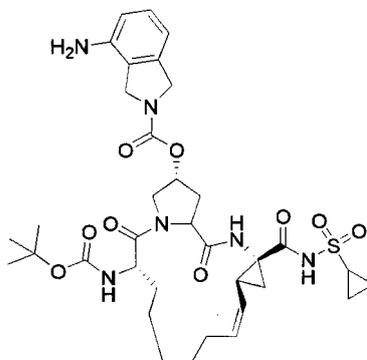
Etapa 2. Síntesis del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo- 18-triisopropilsilaniloxi-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-ene-4-carboxílico. En primer lugar, se disolvió el éster SM de la etapa 1 en una mezcla de THF (20 ml) y MeOH (20 ml). A esta mezcla, a continuación, se le añadió LiOH-H<sub>2</sub>O (2,1 g, 50 mmol) en agua (10 ml) y se agitó durante 12 h a TA. La LCEM mostró la terminación de la reacción. Se concentró la mezcla de reacción casi hasta sequedad. Después se disolvió el residuo sólido en 50 ml de agua, se acidificó con HCl 2 N, y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). Se secó la capa orgánica combinada sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró. Se usó el material bruto en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 3. Síntesis de éster terc-butílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-(4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil- 2,15-dioxo- 18-triisopropilsilaniloxi-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-14-il)-carbámico. En primer lugar se disolvió el ácido SM de la etapa 2 anterior en 25 ml de DriSolvel, 2-dicloroetano. A esta solución se le añadió CDI (2,2 g, 13,8 mmol) en una porción y se agitó la reacción a 50 °C durante 3h. Después, se añadió ciclopropil sulfonamida (3,3 g, 27,5 mmol) a la reacción, seguido de DBU (4,2 g, 27,5 mmol), y se agitó la reacción a 50 °C durante 4 h. La LCEM mostró la terminación de la reacción. Para su tratamiento, se lavó la mezcla de reacción con agua (2 x 50 ml), y se secó la capa orgánica (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro) y se concentró. Se usó el material bruto en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 4. Síntesis de éster terc-butílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-(4-Ciclopropanosulfonilaminocarbonil -18-hidroxi-2,15- dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-14-il)-carbámico. En primer lugar, se disolvió el producto bruto de la etapa 3 anterior en THF (40 ml). Después, a esta solución se le añadió TBAF (3,6 g, 13,7 mmol, 1,5 equiv) y se agitó durante 2h a TA. La TLC mostró la terminación de la reacción. Después, concentró la mezcla de reacción hasta sequedad, se redisolvió en EtOAc y se lavó con agua. Se secó la capa orgánica (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro) y se concentró. Para su purificación, se disolvió el producto bruto en DCM (50 ml) y se lavó con solución NaOH 3 N. Se neutralizó la capa ac. con HCl 2 N y se extrajo con DCM (2 x 25 ml). Se secó la capa orgánica combinada (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró para dar un sólido blanco puro (2,4 g, 46 %). EM m/z (APCI+) 469,1 (MH<sup>+</sup>-Boc).

Etapa 5. Síntesis de éster 14-terc-butoxi-carbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil -2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-amino-1,3- dihidro-isoindol-2- carboxílico (compuesto AR00334286). A una solución de DCE del producto de la etapa 4 anterior (19 mg, 33 mmol) se le añadió CDI (7 mg, 1,3 equiv), y se agitó la reacción a TA durante toda la noche. La LCME indicó la terminación de la reacción. Después, se añadió 2,3-dihidro-1H-isoindol-5-ilamina (18 mg, 4 equiv). Después de 4 h a TA, la LCME mostró la terminación de la reacción. Se cargó directamente la mezcla de reacción sobre gel de sílice y se eluyó con de metanol del 1 al 5 %/DCM. Se aisló el producto puro como un sólido blanco. EM m/z (APCI+): 629,2 (MH<sup>+</sup>-Boc).

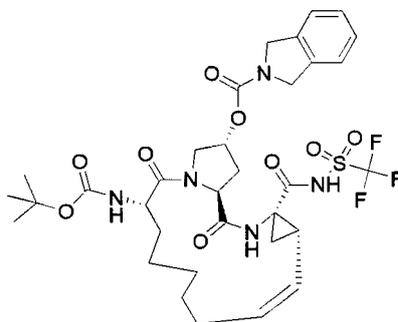
Ejemplo 3-58 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00334385

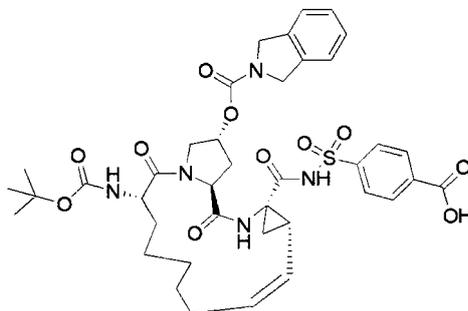
Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino- 4-ciclo-propanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-Amino-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00334385) por una forma similar que la descrita en el ejemplo 3-57, sustituyendo la 2,3-dihidro-1H-isoindol-5-ilamina en la etapa 5 con 2,3-dihidro-1H-isoindol-4-ilamina en su lugar. También, se llevó a cabo la purificación del producto final sobre cromatografía en columna de fase inversa (eluyente = del 5 al 100 % acetonitrilo en agua), proporcionando el producto final como un sólido espumoso de color beige. EM m/z (APCI-): 728,2 (M<sup>+</sup>).

Ejemplo 3-59 (no de acuerdo con la presente invención)



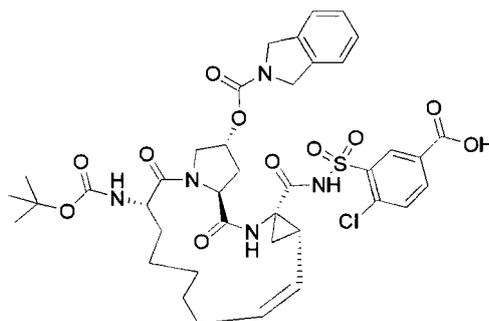
Compuesto AR00340479

Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo- 4-trifluorometanosulfonilaminocarbonil-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1 S, 4R, 6 S, 14 S, 18R)-1, 3- dihidro-isoindol- 2- carboxílico (compuesto AR00340479) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó trifluorometanosulfonamida para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, d<sup>6</sup>-Acetona): δ 7,98 (s.a., 1 H), 7,23-7,35 (m, 4 H), 6,13 (d.a., 1 H), 5,70 (q, 1 H), 5,44 (s.a. 1 H), 4,98-5,02 (m, 1 H), 4,61-4,72 (m, 5 H), 4,49 (d, 1 H), 4,16-4,18 (m, 1 H), 3,87-3,90 (m, 1 H), 2,57-2,59 (m, 2 H), 2,38-2,51 (m, 2 H), 1,82-1,92 (m, 2 H), 1,72-1,79 (m, 2 H), 1,21-1,59 (m, 8 H), 1,21 (s, 9 H). EM m/z (APCI-): 741,1 (M<sup>+</sup>).

Ejemplo 3-60 (no de acuerdo con la presente invención)

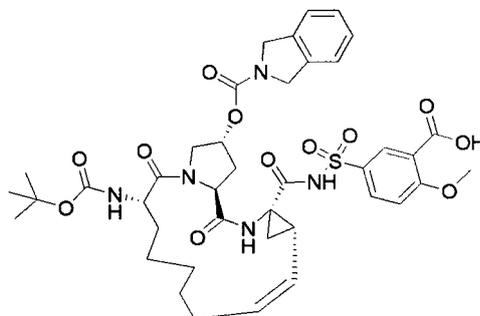
Compuesto AR00365387

- 5 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-(4-carboxi-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00365387) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó ácido 4-sulfamoil-benzoico para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. EM m/z (APCI-): 792,3 (M-1).

Ejemplo 3-61 (no de acuerdo con la presente invención)

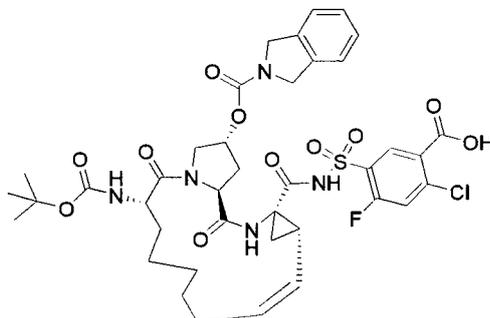
Compuesto AR00365388

- 10 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-(5-carboxi-2-cloro-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00365388) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó ácido 4-cloro-3-sulfamoil-benzoico para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. EM m/z (APCI-): 826,2 (M-2).
- 15 Ejemplo 3-62 (no de acuerdo con la presente invención)



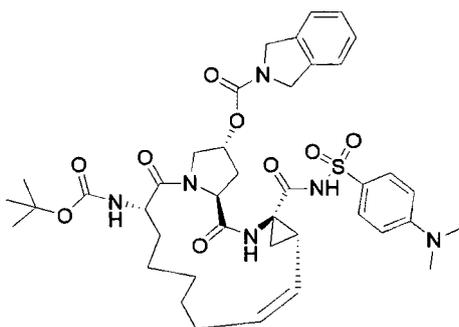
Compuesto AR00365425

- 20 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-(3-carboxi-4-metoxi-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00365425) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó ácido 2-metoxi-5-sulfamoil-benzoico para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. EM m/z (APCI-): 822,3 (M-1).

Ejemplo 3-63 (no de acuerdo con la presente invención)

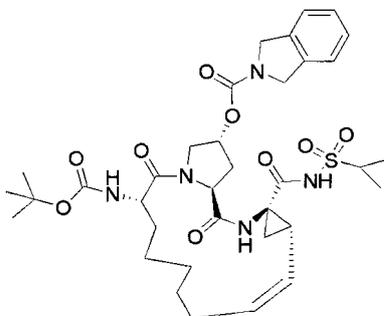
Compuesto AR00365426

5 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-(5-carboxi-4-cloro- 2-fluoro-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00365426) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó el ácido 2-cloro-4-fluoro-5-sulfamoil-benzoico para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. EM m/z (APCI-): 844,2 (M-2).

Ejemplo 3-64 (no de acuerdo con la presente invención)

Compuesto AR00365572

10 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-(4-dimetil-amino- bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo- 3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00365572) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 4-dimetil-amino-bencenosulfonamida para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. EM m/z (APCI-): 791,3 (M-1).

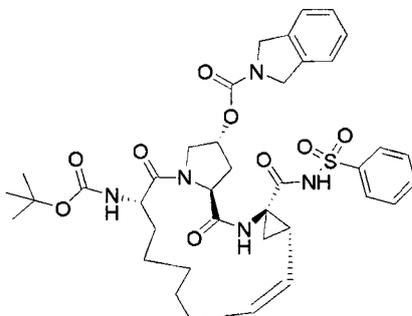
Ejemplo 3-65 (no de acuerdo con la presente invención)

Compuesto AR00333801

20 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-4- (propano-2-sulfonilaminocarbonil)-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00333801) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó la amida del ácido

propano-2-sulfónico para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. EM m/z (APCI-): 714,4 (M-1).

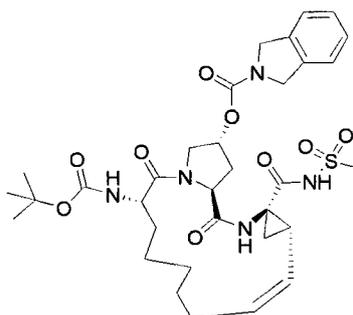
Ejemplo 3-66 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00333802

- 5 Se sintetizó el éster 4-bencenosulfonilaminocarbonil- 14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00333802) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó bencenosulfonamida para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. EM m/z (APCI-): 748,3 (M-1).

Ejemplo 3-67 (no de acuerdo con la presente invención)

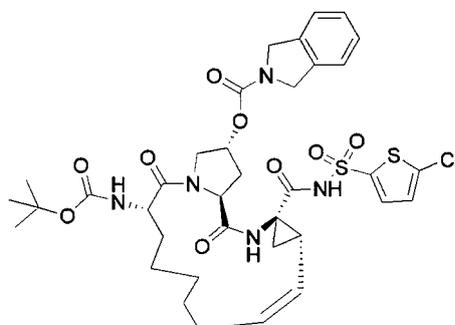


Compuesto AR00333803

10

- 15 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4- metanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00333803) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó metanosulfonamida para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. EM m/z (APCI-): 686,4 (M-1).

Ejemplo 3-68 (no de acuerdo con la presente invención)



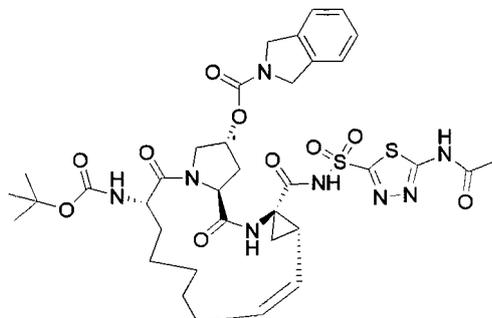
Compuesto AR00334188

20

- Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4- (5-cloro-tiéfeno-2-sulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00334188) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó la

amida del ácido 5-clorotiofeno-2-sulfónico para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. EM m/z (APCI-): 788,3 (M-2).

Ejemplo 3-69 (no de acuerdo con la presente invención)



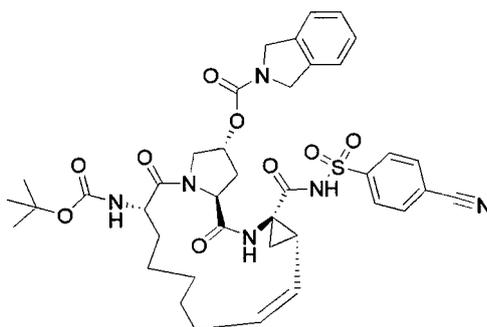
5

Compuesto AR00334247

Se sintetizó el éster 4-(5-acetilamino-[1,3,4]tiadiazol-2-sulfonilaminocarbonil)-14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00334247) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó N-(5-sulfamoi-[1,3,4]tiadiazol-2-il)-acetamida para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, d<sup>6</sup>-acetona): δ 7,24-7,31 (m, 4 H), 5,96 (d.a., 1 H), 5,42 (s.a. 1 H), 5,28 (m, 1 H), 5,15 (m, 1 H), 4,68 (m, 6 H), 4,49 (m, 1 H), 4,14 (m, 2 H), 2,60 (m, 1 H), 2,25-2,36 (m, 5 H), 1,70-2,19 (m, 8 H), 1,19-1,48 (m, 4 H), 1,30 (s, 9 H). EM m/z (APCI-): 813,3 (M-1).

10

Ejemplo 3-70 (no de acuerdo con la presente invención)



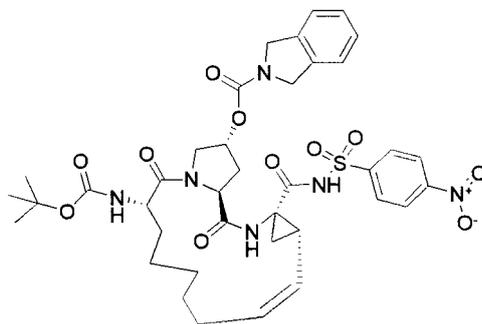
15

Compuesto AR00334248

Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-(4-ciano-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00334248) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 4-cianobencenosulfonamida para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, d<sup>6</sup>-Acetona): δ 11,32 (s.a., 1 H), 8,36 (s.a., 1 H), 8,04-8,15 (m, 4 H), 7,22-7,35 (m, 4 H), 6,12 (d.a., 1 H), 5,47 (s.a. 1 H), 5,28 (q, 1 H), 4,60-4,72 (m, 5 H), 4,48-4,54 (m, 2 H), 4,14-4,17 (m, 1 H), 3,86-3,90 (m, 1 H), 2,37-2,52 (m, 4 H), 1,72-1,85 (m, 2 H), 1,59-1,62 (m, 1 H), 1,20-1,55 (m, 8 H), 1,20 (s, 9 H). EM m/z (APCI-): 773,3 (M-1).

20

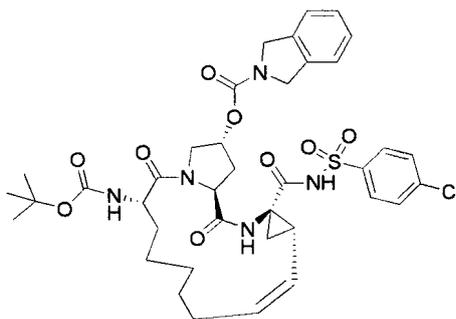
Ejemplo 3-71 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00334249

- 5 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-(4-nitro- bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo- 3,16-diaza-  
 triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico  
 (compuesto AR00334249) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 4-  
 nitrobencenosulfonamida para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, d<sup>6</sup>-Acetona): δ 11,39  
 (s.a., 1 H), 8,46 (d, 2 H), 8,35 (s.a., 1 H), 8,23 (d, 2 H), 7,23-7,36 (m, 4 H), 6,11 (d.a., 1 H), 5,47 (s.a. 1 H), 5,23 (q, 1  
 H), 4,59-4,72 (m, 5 H), 4,49-4,54 (m, 2 H), 4,15 (m, 1 H), 3,86-3,90 (m, 1 H), 2,40-2,53 (m, 4 H), 1,72-1,85 (m, 2 H),  
 1,59-1,62 (m, 1 H), 1,20-1,56 (m, 8 H), 1,20 (s, 9 H). EM m/z (APCI-): 793,3 (M-1).

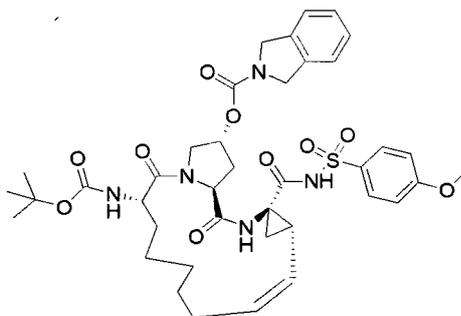
- 10 Ejemplo 3-72 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00334250

- 15 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino- 4-(4-cloro-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo- 3,16-diaza-  
 triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico  
 (compuesto AR00334250) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 4-  
 clorobencenosulfonamida para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, d<sup>6</sup>-Acetona): δ 11,16  
 (s.a., 1 H), 8,34 (s.a., 1 H), 7,96 (d, 2 H), 7,65 (d, 2 H), 7,22-7,36 (m, 4 H), 6,13 (d.a., 1 H), 5,46 (s.a. 1 H), 5,27 (q, 1  
 H), 4,59-4,71 (m, 5 H), 4,48-4,54 (m, 2 H), 4,14-4,18 (m, 1 H), 3,87-3,89 (m, 1 H), 2,35-2,52 (m, 4 H), 1,75-1,85 (m, 2  
 H), 1,58-1,61 (m, 1 H), 1,20-1,53 (m, 8 H), 1,20 (s, 9 H). EM m/z (APCI-): 782,3 (M-2).

- 20 Ejemplo 3-73 (no de acuerdo con la presente invención)

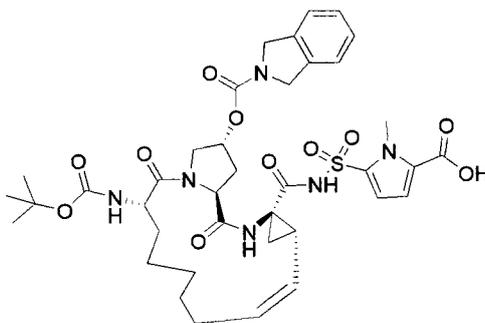


Compuesto AR00334341

Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-(4-metoxi- bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo- 3,16-diaza-

- 5 triclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00334341) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 4-metoxi-bencenosulfonamida para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, d<sup>6</sup>-acetona): δ 8,26 (s.a., 1 H), 7,84 (d, 2 H), 7,19-7,32 (m, 4 H), 7,05 (d, 2 H), 6,08 (d.a., 1 H), 5,43 (s.a. 1 H), 5,25 (q, 1 H), 4,55-4,67 (m, 5 H), 4,48 (q, 2 H), 4,10-4,14 (m, 1 H), 3,87 (s, 3 H), 3,82-3,87 (m, 1H), 2,29-2,47 (m, 4 H), 1,74-1,84 (m, 2 H), 1,51-1,55 (m, 1 H), 1,37-1,47 (m, 4 H), 1,20-1,32 (m, 5 H), 1,17 (s, 9 H). EM m/z (APCI-): 779,1 (M-1).

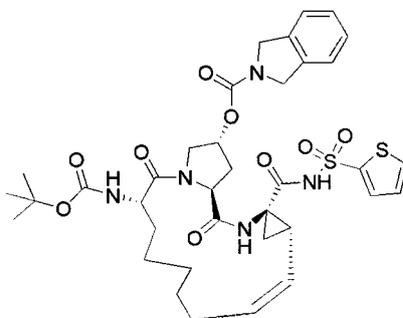
Ejemplo 3-74 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00364266

- 10 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-(5-carboxi- 1-metil-1H-pirrol-2-sulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00364266) sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó ácido 1-metil-5-sulfamoiil-1H-pirrol-2-carboxílico para reemplazar la ciclopropanosulfonamida.
- 15 RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, d<sup>6</sup>-Acetona): δ 10,84 (s.a., 1 H), 8,27 (s.a., 1 H), 7,59 (d, 1 H), 7,24-7,35 (m, 4 H), 7,18 (d, 1 H), 6,10 (d.a., 1 H), 5,50 (a., 1 H), 5,46 (m 1 H), 5,36 (q, 1 H), 4,59-4,71 (m, 6 H), 4,48 (d, 1 H), 4,13-4,17 (m, 1 H), 4,00 (s, 3 H), 3,85-3,89 (m, 1H), 2,35-2,59 (m, 4 H), 1,71-1,90 (m, 2 H), 1,62-1,65 (m, 1 H), 1,20-1,51 (m, 8 H), 1,20 (s, 9 H). EM m/z (APCI-): 795,4 (M-1).

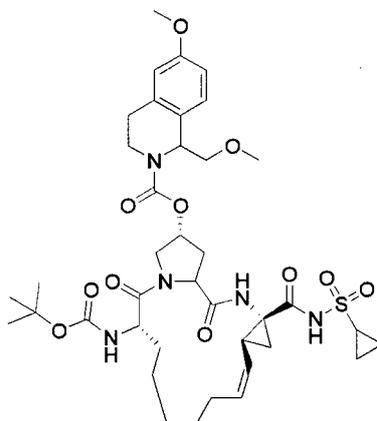
Ejemplo 3-75 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00365427

- 20 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino- 2,15-dioxo-4-(tiofeno-2-sulfonilaminocarbonil)- 3,16-diaza-triclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00365427) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó la amida del ácido tiofeno-2-sulfónico para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. EM m/z (APCI-): 754,4 (M-1).

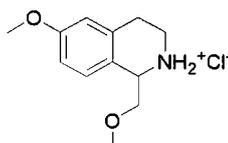
- 25 Ejemplo 3-76 (no de acuerdo con la presente invención)



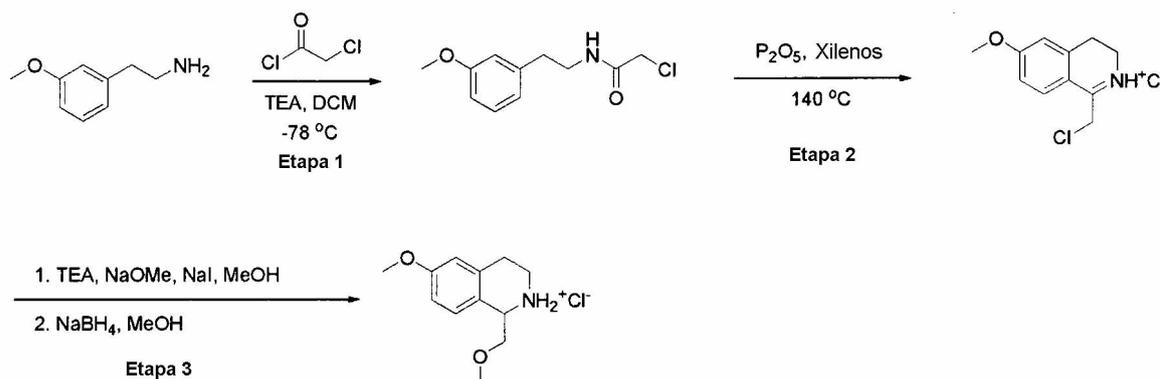
Compuesto AR00334339

- 5 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en- 18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-6-Metoxi-1-metoximetil-3,4-dihidro- 1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00334339) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 6-metoxi-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina (para la síntesis, véase el ejemplo 3-76a) para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. EM m/z (APCI): 800,5 (M-1).

Ejemplo 3-76a (no de acuerdo con la presente invención)



- 10 La síntesis de cloruro de 6-metoxi-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolino se representa en el siguiente esquema:

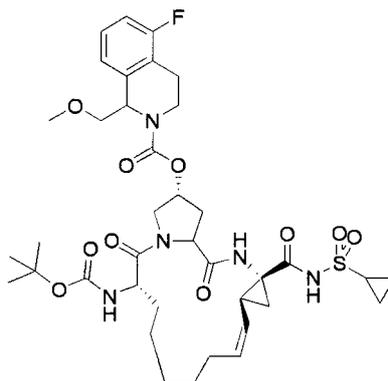


- 15 Etapa 1: Síntesis de 2-cloro-N-[2-(3-metoxi-fenil)-etil]-acetamida. Se tomó la amina, 2-(3-metoxi-fenil)-etilamina, como una solución 0,6 M en DCM, seguido de la adición de TEA (2 equiv.). Después, se enfrió mezcla en un baño de IPA/de hielo. Cuando la temperatura de reacción alcanzó - 60 °C, se añadió gota a gota una solución de cloruro de cloroacetilo en DCM (2,6 M) para mantener la temperatura por debajo de - 60 °C. Después de completar la adición, se agitó la reacción a -60 °C durante 1 h. Después, se calentó la reacción hasta - 20 °C y se filtró sobre papel de filtro GF para retirar parte de la sal de TEA - HCl. Se calentó el filtrado hasta alcanzar la TA y se transfirió a un embudo de separación donde se lavó con HCl 1 N (2x) y salmuera. Se secó la capa orgánica sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentró para dar un sólido de color morado oscuro. Este producto bruto se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.
- 20

Etapa 2: Síntesis de cloruro de 1-clorometil-6-metoxi-3,4-dihidro-isoquinolino. Se llevaron a ebullición dos equiv. de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (12,9 g) en xilenos (180 ml) como una solución 0,25 M. En primer lugar se llevó a ebullición el producto bruto de la etapa 1 anterior en xilenos (45 ml) para preparar una solución 0,5 M, y después se añadió gota a gota por

- medio de un embudo de adición a una solución de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Se agitó la mezcla y se calentó a reflujo durante 1 h. Después, se enfrió la reacción hasta TA y se separaron por decantación los xilenos en este punto. Después se colocó el matraz en un baño de hielo y se agitó mientras se añadían cuidadosamente hielo, agua, EtOAc y finalmente NaOH 4 M hasta el pH > 12. Se mantuvo la reacción a < 25 °C hasta que se alcanzó pH = 12. Después,
- 5 se extrajo la reacción con EtOAc (3x). Se secaron los extractos orgánicos combinados sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentró para dar una solución oscura. Esto se enfrió en un baño de hielo mientras que se añadieron 400 ml de Et<sub>2</sub>O frío seguido de 100 ml de HCl/ Et<sub>2</sub>O frío. Se formó un precipitado y se separó por filtración, lavando con Et<sub>2</sub>O. Se colocó inmediatamente el sólido en alto vacío durante 2 h para dar el producto objetivo como un sólido espumoso coloreado. Este producto bruto se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.
- 10 Etapa 3: Síntesis de cloruro de 6-metoxi-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolino. Se añadió el producto bruto de la etapa 2 anterior en una porción a TEA (5 equiv.) y NaI (0,1 equiv.) en MeOH a 0 °C. A continuación, se añadieron 2,2 equiv. de NaOMe y la reacción homogénea se volvió turbida. Después, se agitó la reacción a 0 °C durante 1 h. La CL/EM mostró la imina en forma completa de base libre.
- Después, se enfrió de nuevo la reacción hasta 0 °C en un baño de hielo y se añadió cuidadosamente NaBH<sub>4</sub> (1,5 equiv.). Después, se calentó la reacción de nuevo hasta TA y se agitó durante 2 h. Después de que la reacción alcanzara su terminación monitorizada por CL/EM, se concentró, se trató con NaOH 1 N y se extrajo con EtOAc. Se secó la capa orgánica sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentró. Se llevó el residuo resultante a MeOH y se enfrió en un baño de hielo. Se burbujeó gas HCl a través de ella durante 10 min. Se concentró la mezcla de reacción y se redisolvió en MeOH. Después de concentrarla una segunda vez, se llevó la reacción a alto vac. durante toda la noche. Después,
- 20 se trituró el material bruto con EtOAc (3x) para dar el producto como un sólido espumoso pardusco después de asentarse toda la noche a alto vac. Este producto bruto se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional. EM m/z (POSESI): 208,1 (MH<sup>+</sup>).

Ejemplo 3-77 (no de acuerdo con la presente invención)



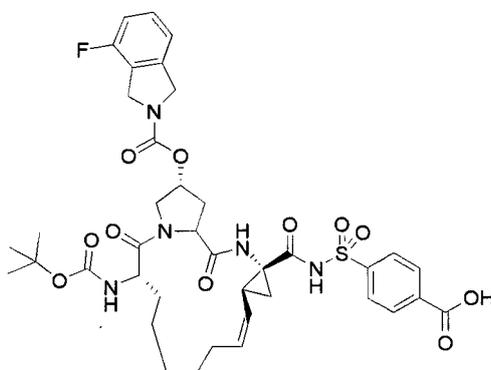
- 25 Compuesto AR00365193

- Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-Fluoro-1-metoximetil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00365193) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-76, excepto que se usó cloruro de 5-fluoro-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolino (para la síntesis, véase el
- 30 ejemplo 3-77a) para reemplazar el cloruro de 6-metoxi-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolino. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8,99 - 8,91 (m, 1H), 7,23 - 7,15 (m, 1H), 7,13 - 6,99 (m, 2H), 6,99 - 6,90 (m, 1H), 5,68 (q, 1H), 5,41 (s.a., 1H), 5,35 - 5,21 (m, 1H), 5,06 (t, 1H), 4,60 - 4,31 (m, 3H), 4,30 - 4,05 (m, 3H), 3,96 - 3,81 (m, 1H), 3,80 - 3,56 (m, 3H), 3,35 (d, 3H), 2,98 - 2,30 (m, 9H), 1,91 - 1,68 (m, 4H), 1,64 - 0,95 (m, 16H); EM (APCI-) m/z 788,3 (M-1).

Ejemplo 3-77a (no de acuerdo con la presente invención)

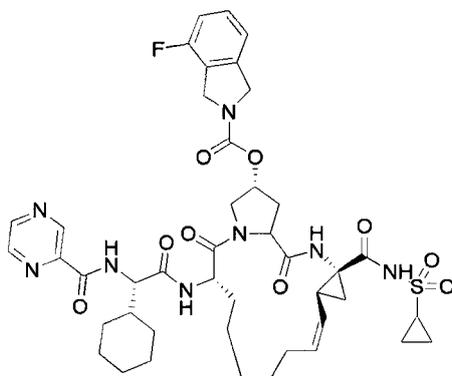


- 35 Se llevó a cabo la síntesis de cloruro de 5-fluoro-1-metoximetil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolino de forma similar a la representada en el ejemplo 3-76a, excepto que en la etapa 1, se usó 2-(2-Fluoro-fenil)-etilamina para reemplazar la 2-(3-metoxi-fenil)-etilamina.

Ejemplo 3-78 (no de acuerdo con la presente invención)

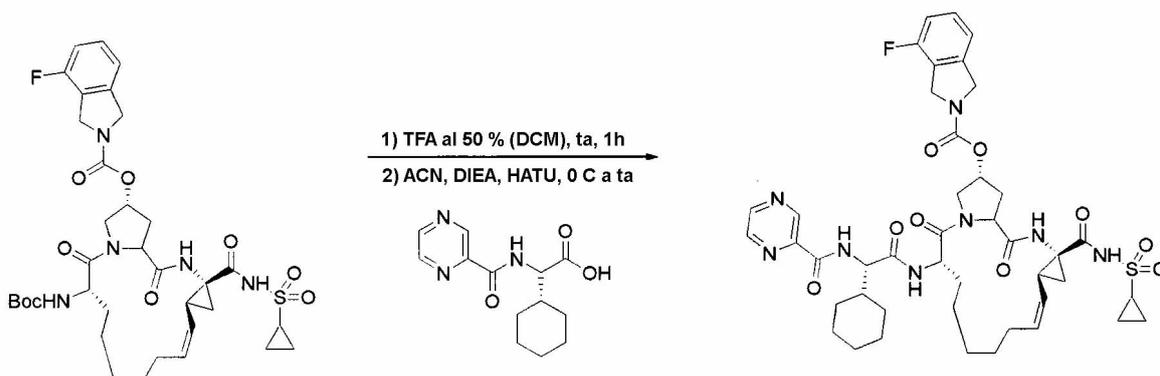
Compuesto AR00365438

Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino- 4-(4-carboxi-bencenosulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo- 3,16-diaza-  
 5 triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-fluoro-1,3-dihidro-isoindol- 2-carboxílico  
 (compuesto AR00365438) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-55, excepto que se usó  
 ácido 4-sulfamoyl-benzoico para reemplazar la ciclopropanosulfonamida. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8,92 (d,  
 1H), 8,25 - 8,19 (m, 1H), 8,15 (d, 2H), 8,04 (d, 2H), 7,36 - 7,27 (m, 1H), 7,14 (d, 1H), 7,05 - 6,95 (m, 2H), 5,42 (s.a.,  
 1H), 5,26 (q, 1H), 4,82 - 4,50 (m, 8H), 4,10 - 4,00 (m, 1H), 3,85 (d, 1H), 3,75 - 3,69 (m, 1H), 2,60 - 2,39 (m, 4H), 2,26  
 10 (p, 2H), 1,89 - 1,84 (m, 1H), 1,81 - 1,05 (m, 15H); EM (APCI-): m/z 810,2 (M-1).

Ejemplo 3-79 (no de acuerdo con la presente invención)

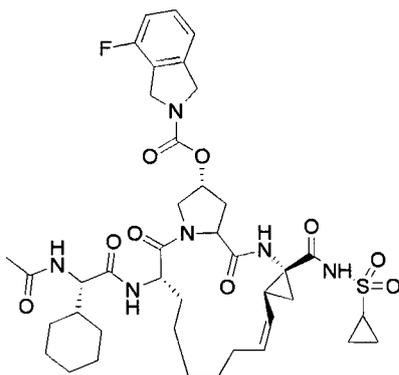
Compuesto AR00340303

Síntesis de éster 14-{2-ciclohexil-2-[(pirazin-2- carbonil)-amino]-acetilamino}-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-  
 15 2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-fluoro-1,3-dihidro-  
 isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00340303).



- Se disolvió el material de partida (AR00334191, ejemplo 3-55, 10 mg, 13,7 mmol) en 1 ml de TFA al 50 % (DCM) y se agitó a TA durante 1 h. Después, se concentró la mezcla de reacción hasta sequedad, se recogió en acetonitrilo y se concentró de nuevo. Se repitió el procedimiento anterior una vez más para retirar cualquier exceso de TFA. Después, se disolvió el residuo sólido resultante en DCE (137 ml), se enfrió hasta 0 °C en un baño de hielo, seguido de adición del aminoácido, ácido ciclohexil-[(pirazin-2-carbonil)-amino]-acético (1,05 equiv), HATU (10 mg) y DIEA (4 gotas). Se dejó que la mezcla se calentara hasta TA y se agitó durante toda la noche. Para el tratamiento, se cargó directamente la mezcla de reacción sobre una columna C-18 y se purificó con cromatografía en columna de fase inversa, dando el compuesto objetivo como un sólido blanco. EM (APCI-): m/z 876,1 (M-1).

Ejemplo 3-80 (no de acuerdo con la presente invención)



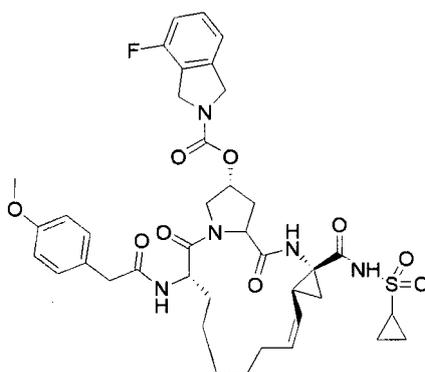
10

Compuesto AR00340122

- Se sintetizó el éster 14-(2-acetilamino-2-ciclohexil-acetilamino)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00340122) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-79, excepto que se usó ácido acetilamino-ciclohexil-acético para reemplazar el ácido ciclohexil-[(pirazin-2-carbonil)-amino]-acético. EM (AP-Cl-): m/z 811,3 (M-1).

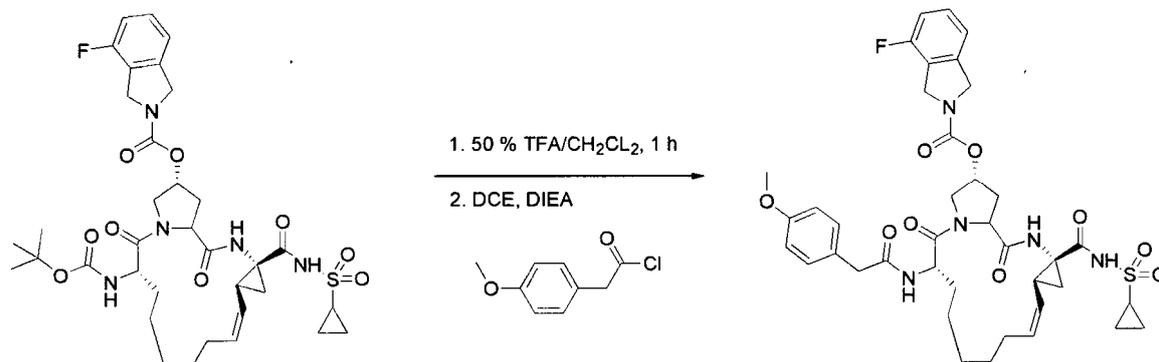
15

Ejemplo 3-81 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00340156

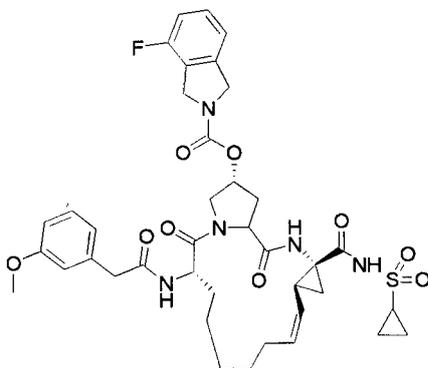
- 20 Síntesis de éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-14-[2-(4-metoxi-fenil)-acetilamino]-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00340156).



Se disolvió el material de partida (AR00334191, ejemplo 3-55, 10 mg, 13,7  $\mu$ mol) en 1 ml de TFA al 50 % (DCM) y se agitó a TA durante 1 h. Después, se concentró la mezcla de reacción hasta sequedad, se recogió en acetonitrilo y se concentró de nuevo. Se repitió el procedimiento anterior una vez más para retirar cualquier exceso de TFA.

- 5 Después, se disolvió el residuo sólido resultante en DCE (137  $\mu$ l), seguido de adición del cloruro de ácido, cloruro de (4-metoxi-fenil)-acetilo (2 gotas) y DIEA (4 gotas). Se agitó la mezcla a TA durante toda la noche. Después se la terminación, se cargó directamente la reacción sobre una columna C-18 y se purificó con cromatografía en columna en fase inversa. Se purificó adicionalmente el compuesto sobre cromatografía en gel de sílice de fase normal (eluyente = EtOAc al 40 %/hexanos con ácido fórmico al 1 %) para dar el compuesto objetivo como un sólido blanco.
- 10 RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7,33 (p, 1H), 7,15 (d, 1H), 7,05 - 6,92 (m, 3H), 6,65 (dd, 2H), 5,68 (q, 1H), 5,40 (s.a., 1H), 5,09 (t, 1H), 4,78 - 4,46 (m, 7H), 4,43 - 4,24 (m, 2H), 3,89 - 3,80 (m, 1H), 3,68 (d, 3H), 3,21 (d, 1H), 2,69 - 2,57 (m, 1H), 2,52 - 2,30 (m, 5H), 2,06 - 0,80 (m, 15H); EM (APCI-): m/z 778,3 (M-1).

Ejemplo 3-82 no de acuerdo con la presente invención)



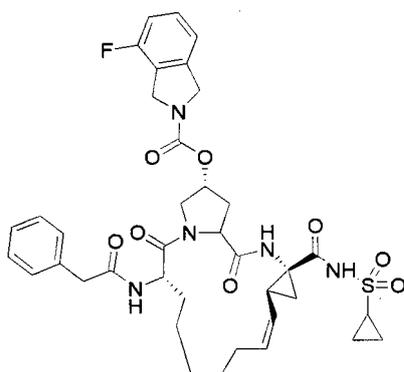
15

Compuesto AR00340178

Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil- 14-[2-(3-metoxi-fenil)-acetilamino]-2,15- dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-fluoro-1,3-dihidro- isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00340178) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-81, excepto que se usó cloruro de (3-metoxi-fenil)-acetilo para reemplazar el cloruro de (4-metoxifenil)-acetilo. RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7,32 (p, 1H), 7,14 (d, 1H), 7,05 - 6,92 (m, 3H), 6,76 - 6,58 (m, 2H), 5,68 (q, 1H), 5,41 (s.a., 1H), 5,09 (t, 1H), 4,76 - 4,46 (m, 7H), 4,43 - 4,26 (m, 2H), 3,91 - 3,82 (m, 1H), 3,69 (d, 3H), 2,94 - 2,85 (m, 1H), 2,70 - 2,57 (m, 1H), 2,52 - 2,30 (m, 5H), 2,06 - 0,80 (m, 15H); EM (APCI-) m/z 778,3 (M-1).

20

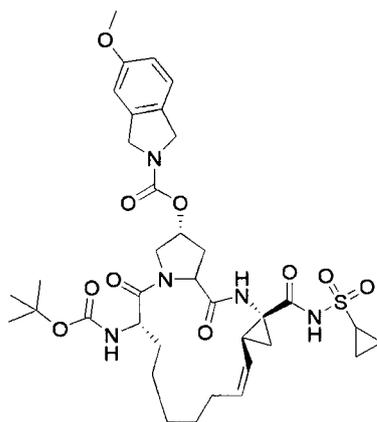
Ejemplo 3-83 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00340188

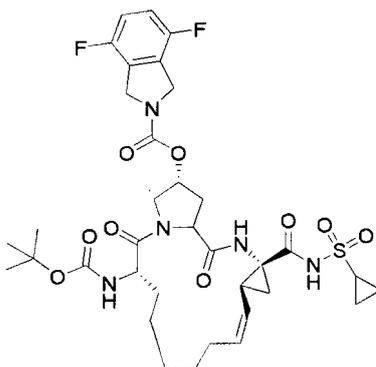
- 5 Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-14-fenilacetilamino-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00340188) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-81, excepto que se usó cloruro de fenilacetilo para reemplazar el cloruro de (4-metoxi-fenil)-acetilo. EM (APCI) m/z 748,4 (M-1).

Ejemplo 3-84 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00334314

- 10 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-metoxi-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00334314) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 5-metoxi-2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado de forma similar como se describe en: JOC, Vol. 53, N.º 22, 1988, p. 5381-5383) para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. EM m/z (APCI-): 742,3 (M-1).
- 15 Ejemplo 3-85 (no de acuerdo con la presente invención)

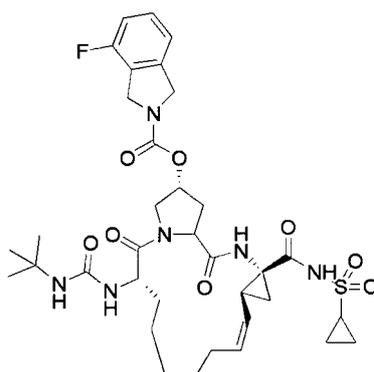


## Compuesto AR00334399

Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4,7-difluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00334399) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 4,7-

5 Difluoro-2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado de forma similar como se describe en: JOC, Vol. 53, N.º 22, 1988, p. 5381-5383) para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8,97 (s, 1H), 6,99 - 6,85 (m, 2H), 5,69 (q, 1H), 5,42 (s.a., 1H), 5,07 (t, 1H), 4,83 - 4,57 (m, 6H), 4,51 (d, 1H), 4,13 - 4,02 (m, 1H), 3,85 (t, 1H), 2,94 - 2,86 (m, 1H), 2,73 - 2,59 (m, 1H), 2,55 - 2,28 (m, 4H), 1,89 - 1,70 (m, 3H), 1,65 - 1,22 (m, 10H), 1,18 - 0,96 (m, 10H), EM m/z (APCI-): 746,1 (M-1).

10 Ejemplo 3-86 (no de acuerdo con la presente invención)

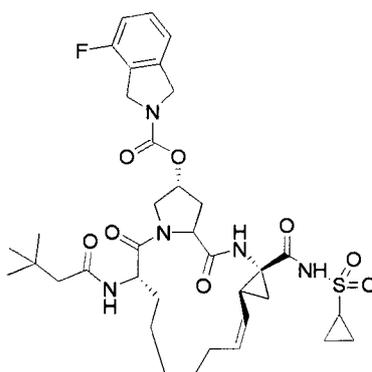


## Compuesto AR00338066

Se sintetizó el éster 14-(3-terc-butil-ureido)-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00338066) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-36, excepto que se usó 4-

15 fluoro-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,38 - 7,28 (m, 1H), 7,13 (d, 1H), 7,01 (p, 1H), 5,69 (q, 1H), 5,45 (s.a., 1H), 5,07 (t, 1H), 4,83 - 4,66 (m, 4H), 4,59 (q, 1H), 4,49 (d, 1H), 4,37 - 4,17 (m, 2H), 3,94 - 3,84 (m, 1H), 3,72 (t, 1H), 2,95 - 2,87 (m, 1H), 2,68 - 2,29 (m, 5H), 2,09 - 1,22 (m, 11H), 1,12 - 0,95 (m, 12H); EM (APCI-): m/z 729,3 (M-1).

20 Ejemplo 3-87 (no de acuerdo con la presente invención)

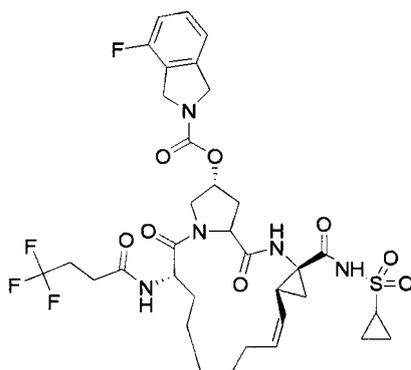


## Compuesto AR00338070

Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil- 14-(3,3-dimetil-butirilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00338070) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-81, excepto que se usó cloruro de 3,3-dimetil-butirilo para reemplazar el cloruro de (4-metoxi-fenil)-acetilo. EM (APCI-) m/z 728,3 (M-1).

25

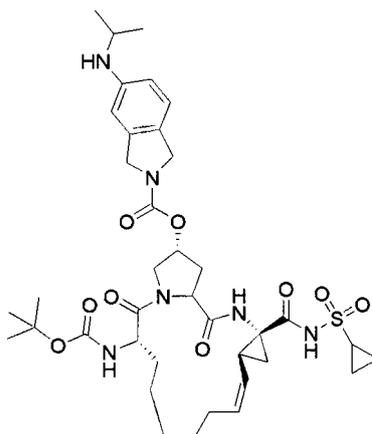
Ejemplo 3-88 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00338071

- 5 Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil- 2,15-dioxo-14-(4,4,4-trifluoro-butirilamino)-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4-fluoro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00338071) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-81, excepto que se usó cloruro de 4,4,4-trifluoro-butirilo para reemplazar el cloruro de (4-metoxi-fenil)-acetilo. EM (APCI-) m/z 754,3 (M-1).

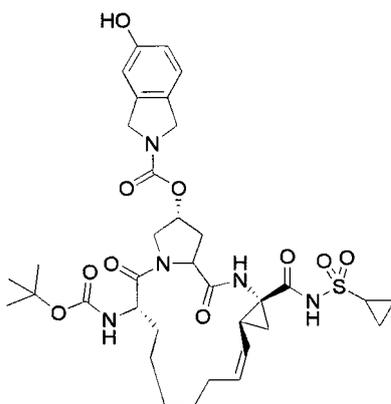
Ejemplo 3-89 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00341649

- 10 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4- ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-Isopropilamino-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00341649) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó (2,3-dihidro-1H-isoindol-5-il)-isopropil-amina (preparada de forma similar como se describe en: Org. Letters, 2003, Vol. 5, N.º 6, 793-796.) para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8,94 (d.a., 1H), 7,52 (s, 1H), 7,48 (d, 1H), 7,41 - 7,32 (m, 2H), 7,32 - 7,24 (m, 2H), 5,69 (q, 1H), 5,41 (s.a., 1H), 5,07 (t, 1H), 4,82 - 4,66 (m, 3H), 4,60 (t, 1H), 4,52 (t, 1H), 4,08 (d, 1H), 3,85 (d, 1H), 3,80 - 3,68 (m, 1H), 2,94 - 2,87 (m, 1H), 2,71 - 2,59 (m, 1H), 2,55 - 2,45 (m, 1H), 2,45 - 2,30 (m, 3H), 1,88 - 1,69 (m, 3H), 1,61 (t, 1H), 1,58 - 0,94 (m, 25H); EM (APCI-): m/z 770,1 (M-1).

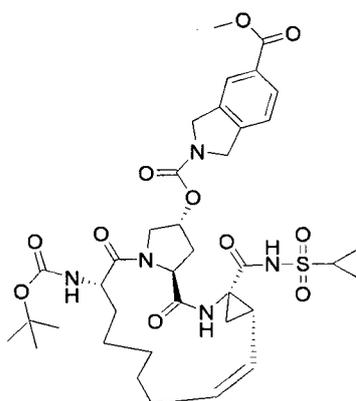
Ejemplo 3-90 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00364936

5 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino- 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ilico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-Hidroxi-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00364936) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 2,3-dihidro-1H-isoindol-5-ol (preparado de forma similar como se describe en: JOC, Vol. 53, N.º 22, 1988, p. 5381-5383) para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. EM m/z (APCI-): 728,2 (M-1).

Ejemplo 3-91 (no de acuerdo con la presente invención)

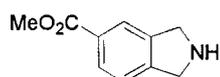


Compuesto AR00365083

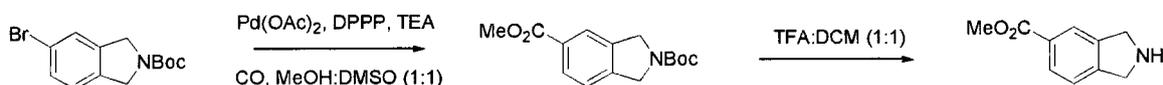
10 Se sintetizó el éster 5-metílico del éster 2-(14-terc-butoxicarbonilamino- 4-ciclo-propanosulfonilaminocarbonil -2,15-dioxo- 3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ilico) del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro- isoindol-2,5-dicarboxílico (compuesto AR00365083) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-57, excepto que se usó el éster metílico del ácido 2,3-dihidro-1H-isoindol-5-carboxílico (preparado como se muestra en el ejemplo 3-91a) para reemplazar la 2,3-dihidro-1H-isoindol-5-ilamina en la etapa 5. EM m/z (APCI+): 672,2 (MH<sup>+</sup>-Boc).

15

Ejemplo 3-91 a (no de acuerdo con la presente invención)



Se sintetizó el éster metílico del ácido 2,3-dihidro-1H-isoindol-5-carboxílico de acuerdo con el siguiente esquema:



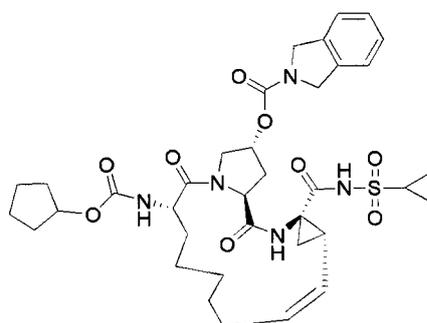
20

Se agitó una mezcla de éster terc-butilo del ácido 5-bromo-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (200 mg, 0,67 mmol), Pd(OAc)<sub>2</sub> (30 mg, 0,2 equiv), DPPP (55 mg, 0,2 equiv), TEA (0,93 ml, 10 equiv) y MeOH:DMSO (1:1, 4 ml) durante 16 h bajo CO (globo) a 80 °C. La CL-EM y TLC (20 % EtOAc-Hexano) mostró la terminación de la reacción. Se concentró la mezcla de reacción para retirar el MeOH y se diluyó con EtOAc (10 ml), y se lavó con agua (2 x 25 ml).

- 5 Se secó la capa orgánica (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se concentró y se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (eluyente = 20 % EtOAc-Hexano), dando éster 5-metilico del éster 2-terc-butílico del ácido 1,3-dihidro-isoindol-2,5-dicarboxílico puro (150 mg, 81 %). EM (APCI+): m/z 178,1 (MH<sup>+</sup>-Boc).

- 10 Se retiró el producto anterior del grupo protector tratando con TFA al 50 % -DCM durante 1 h a 0 °C - TA. Se concentró la mezcla de reacción hasta sequedad, se redisolvió en DCM, y se neutralizó con solución sat. de NaHCO<sub>3</sub>. Se separó la capa orgánica, se secó y se concentró para dar el compuesto objetivo como una base libre, que se usó directamente en la siguiente etapa de acoplamiento sin purificación adicional.

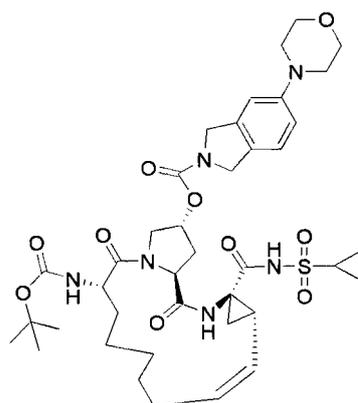
Ejemplo 3-92 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00333831

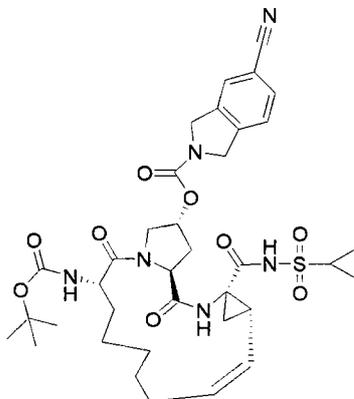
- 15 Se sintetizó el éster 14-ciclopentiloxycarbonylamino-4- ciclopropanosulfonylamino-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00333831) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-5, excepto que se usó 2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,36-7,22 (m, 3H), 7,21-7,16 (m, 1H), 5,74-5,60 (m, 1H), 5,40 (s, 1H), 5,20-5,03 (m, 1H), 4,80-4,54 (m, 6H), 4,38-4,28 (m, 1H), 4,18  
20 (m, 1H), 3,90-3,80 (m, 1H), 2,96-2,85 (m, 1H), 2,70-2,31 (m, 4H), 1,92-0,98 (m, 24 H). EM m/z (APCI-): 724,4 (M-1).

Ejemplo 3-93 (no de acuerdo con la presente invención)



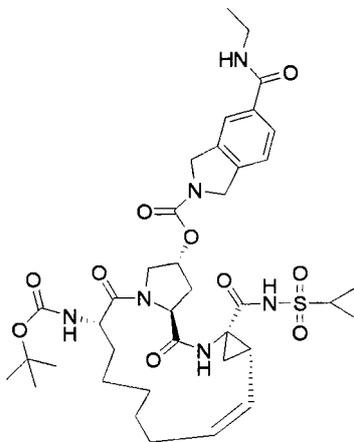
Compuesto AR00340494

- 25 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxycarbonylamino-4- ciclopropanosulfonylamino-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-morfolin-4-il-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00340494) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 5-morfolin-4-il-2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado de forma similar como se describe en: J. Org. Chem. 2000, 65, 1144-1157) para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,80-7,22 (m, 1H), 7,22-7,15 (m, 1H), 7,00-6,81 (m, 2H), 5,45-(m, 1H), 5,26 (m, 1H), 4,62-4,50 (m, 4H), 4,42 (m, 1H), 4,28-4,10 (m, 2H), 3,98 (m, 1H), 3,76 (m, 4H), 3,12 (m, 4H), 2,71-2,60 (m, 1H), 2,40-1,45 (m, 3H), 1,40-1,21 (m, 10H), 0,98-0,61 (m, 4H). EM m/z  
30 (APCI+): 699,2 (MH<sup>+</sup>-Boc).

Ejemplo 3-94 (no de acuerdo con la presente invención)

Compuesto AR00365082

5 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclo- propanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ilico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-ciano-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00365082) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 2,3-dihidro-1H-isoindol-5-carbonitrilo (preparado de forma similar como se describe en: J. Org. Chem. 1998, 63, 8224-8228) para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. EM m/z (APCI+): 639,1 (MH<sup>+</sup>-Boc).

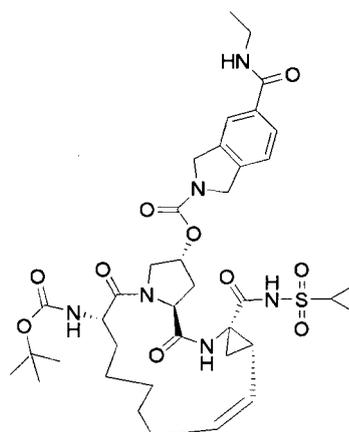
Ejemplo 3-95 (no de acuerdo con la presente invención)

Compuesto AR00365252

10 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4- ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ilico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-etilcarbamoil-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00365252) de acuerdo con los procedimientos descritos en el siguiente esquema:

Compuesto AR00365083

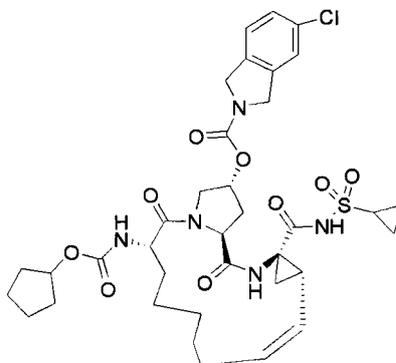
1) LiOH-H<sub>2</sub>O, THF-MeOH  
 2) EtNH<sub>2</sub>, HOAT, HATU, DIEA, DMF



Se disolvió el compuesto AR00365083 (70 mg, 91  $\mu$ mol), del que se describió la síntesis anteriormente en este documento, en una mezcla THF: MeOH (2:1, 3 ml), seguido de la adición de 1 ml de solución ac. de LiOH-H<sub>2</sub>O. Se agitó la reacción durante 1 h a TA. La CL-EM indicó la hidrólisis completa, se dejó que la reacción continuara durante otros 30 min antes de que se concentrara, se neutralizó con HCl 0,1N y se extrajo con 5 ml of EtOAc. Se secó la capa orgánica (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) se concentró y se purificó con cromatografía en columna en gel de sílice (eluyente = 5 - 7 % MeOH-DCM) para dar el producto de hidrólisis como un sólido blanco. EM (APCI+): m/z 658,1 (MH<sup>+</sup>-Boc).

En primer lugar, se disolvió el producto de la etapa anterior (23 mg, 30  $\mu$ mol) en DMF anhidro (2 ml), seguido de la adición de etilamina (3 equiv), HOAT (3 equiv), y HATU (3 equiv), y finalmente se añadió DIEA (6 equiv) gota a gota. Se agitó la mezcla de reacción a TA durante toda la noche. La CL-EM mostró la terminación de la reacción. Se diluyó la mezcla de reacción con EtOAc (5 ml) y se lavó con agua (2 x 10 ml). Se secó la capa orgánica, se concentró y se purificó el producto bruto por TLC preparativa. EM (APCI+): 685,2 (MH<sup>+</sup>-Boc).

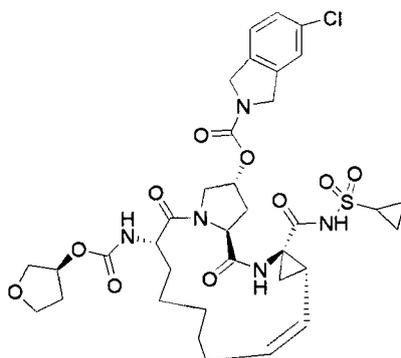
Ejemplo 3-96 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00334218

Se sintetizó el éster 14-ciclopentiloxicarbonilamino-4 -ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-cloro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00334218) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-5, excepto que se usó 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar el 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  7,55 (s.a., 1H), 7,19-7,33 (m, 3H), 5,63-5,73 (m, 2H), 5,27-5,34 (m, 1H), 4,98 (t, 1H), 4,52-4,72 (m, 5H), 4,48 (t, 1H), 4,34-4,44 (m, 1H), 4,06-4,15 (m, 1H), 2,77-2,90 (m, 2H), 2,54 (s.a., 1H), 2,24-2,44 (m, 3H), 1,64-1,75 (m, 2H), 1,13-1,57 (m, 18H), 0,91-1,09 (m, 4H). EM m/z 759,9 (M+1).

Ejemplo 3-97 (no de acuerdo con la presente invención)



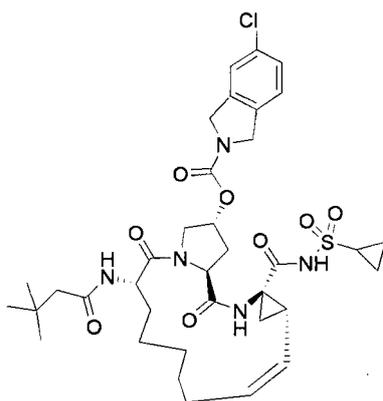
Compuesto AR00334220

Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonyl- 2,15-dioxo-14-(tetrahidro-furan-3-iloxicarbonilamino)- 3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-cloro-1,3-dihidro- isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00334220) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-16, excepto que se usó 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar la 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN) δ 7,57 (s.a., 1H), 7,20-7,34 (m, 3H), 5,87-5,93 (m, 1H), 5,65 (q, 1H), 5,31 (s.a., 1H), 5,23-5,29 (m, 1H), 4,98 (t, 1H), 4,44-4,71 (m, 5H), 4,29-4,39 (m, 1H), 4,07-4,18 (m, 1H), 3,70-3,87 (m, 4H), 3,61-3,70 (m, 1H), 3,44-3,5 (m, 2H), 3,30-3,42 (m, 1H), 2,76-2,89 (m, 2H), 2,54 (s.a., 1H), 2,36-2,46 (m, 1H), 2,24-2,36 (m, 2H), 1,69-1,76 (m, 1H), 1,59-1,69 (m, 1H), 1,13-1,56 (m, 8H), 0,90-1,10 (m, 4H). EM m/z 762,0 (M+1)

Ejemplo 3-98 (no de acuerdo con la presente invención)

Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonyl- 14-(2-fluoro-etoxicarbonilamino)-2,15-dioxo- 3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-cloro-1,3-dihidro- isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00334222) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-28, excepto que se usó 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN) δ 7,53 (s.a., 1H), 7,20-7,33 (m, 3H), 5,93 (d, 1H), 5,67 (q, 1H), 5,32 (s.a., 1H), 4,93-5,05 (m, 1H), 4,52-4,72 (m, 5H), 4,47 (t, 1H), 4,39 (t, 1H), 4,25-4,36 (m, 2H), 4,12-4,25 (m, 2H), 3,65-3,96 (m, 2H), 2,76-2,89 (m, 2H), 2,54 (s.a., 1H), 2,22-2,44 (m, 3H), 1,67-1,76 (m, 1H), 1,13-1,60 (m, 10H), 0,91-1,13 (m, 4H). EM m/z 737,9 (M+1)

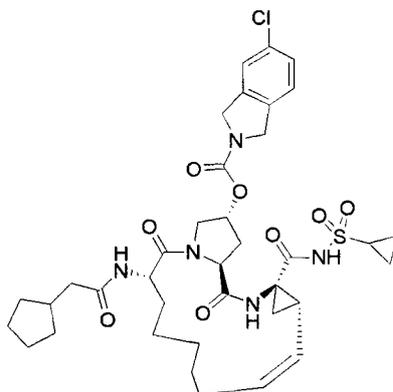
Ejemplo 3-99 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00334225

Se sintetizó el éster 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonyl-14- (3,3-dimetil-butirilamino)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-cloro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00334225) se sintetizó de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-81, excepto que se usó cloruro de 3,3-dimetil-butirilo para reemplazar el cloruro de (4-metoxi-fenil)-acetilo , y que se usó 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar el 4-fluoro-2,3-dihidro-1H-isoindol. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN) δ 7,60 (s.a., 1H), 7,15-7,33 (m, 3H), 6,54-6,65 (m, 1H), 5,63-5,73 (m, 1H), 5,33 (s.a., 1H), 4,93-5,02 (m, 1H), 4,53-4,65 (m, 3H), 4,39-4,48 (m, 2H), 4,28-4,38 (m, 1H), 3,74-3,83 (m, 2H), 2,77-2,89 (m, 1H), 2,54 (s.a., 1H), 2,23-2,44 (m, 3H), 1,68-1,91 (m, 4H), 1,12-1,54 (m, 11H), 0,91-1,11 (m, 4H), 0,76-0,90 (m, 9H). EM m/z 746,2 (M+1)

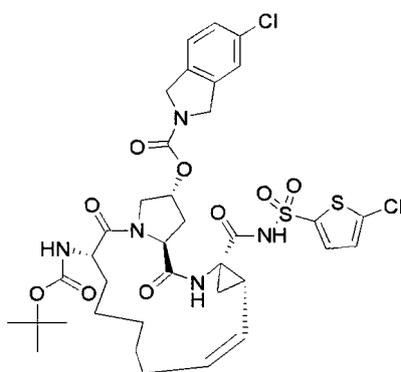
Ejemplo 3-100 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00334226

Se sintetizó el éster 14-(2-ciclopentil-acetilamino)- 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-cloro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00334226) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-81, excepto que se usó cloruro de ciclopentil-acetilo para reemplazar el cloruro de (4-metoxi-fenil)-acetilo, y que se usó 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar 4-fluoro-2,3-dihidro-1H-isoindol. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10,85 (s.a., 1H), 6,95-7,30 (m, 3H), 5,87-6,02 (m, 1H), 5,63-5,79 (m, 1H), 5,43-5,52 (m, 1H), 4,93-5,08 (m, 1H), 4,52-4,85 (m, 5H), 4,31-4,52 (m, 1H), 3,79-3,95 (m, 1H), 3,60-3,75 (m, 2H), 3,14 (q, 1H), 2,90 (s.a., 1H), 2,37-2,63 (m, 3H), 2,14-2,29 (m, 1H), 1,73-2,12 (m, 6H), 1,16-1,74 (m, 13H), 0,96-1,16 (m, 4H), 0,68-0,96 (m, 9H). EM m/z 758,2 (M+1).

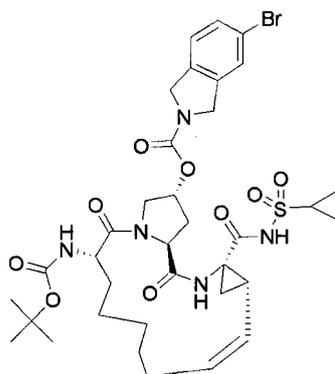
Ejemplo 3-101 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00340173

Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4- (5-cloro-tiofeno-2-sulfonilaminocarbonil)-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-cloro-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00340173) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó la amida del ácido 5-clorotiofeno-2-sulfónico para reemplazar la ciclopropanosulfonamida, y que se usó 5-cloro-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN) δ 8,07 (d, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,16-7,32 (m, 3H), 6,98 (d, 1H), 5,86 (s.a., 1H), 5,27-5,39 (m, 2H), 4,81-4,92 (m, 1H), 4,58-4,64 (m, 2H), 4,51-4,58 (m, 2H), 4,44 (t, 1H), 4,33 (d, 1H), 4,10-4,20 (m, 1H), 3,73-3,81 (m, 1H), 2,47 (s.a., 1H), 2,16-2,41 (m, 3H), 1,63-1,77 (m, 2H), 1,47-1,57 (m, 2H), 1,07-1,47 (m, 17H). EM m/z 724,1 (M+1-Boc)

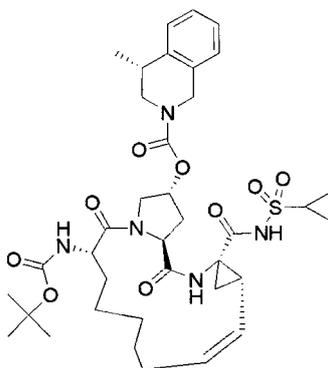
Ejemplo 3-102 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00340526

Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4- ciclo-propanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-bromo-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00340526) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 5-bromo-2,3-dihidro-1H-isoindol para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10,31 (s.a., 1H), 7,36-7,44 (m, 1H), 6,99-7,32 (m, 3H), 5,70 (q, 1H), 5,42-5,49 (m, 1H), 5,06-5,13 (m, 1H), 4,99 (t, 1H), 4,52-4,78 (m, 5H), 4,32-4,44 (m, 1H), 4,16-4,27 (m, 1H), 3,78-3,89 (m, 1H), 3,33-3,42 (m, 1H), 2,85-2,94 (m, 1H), 2,40-2,64 (m, 3H), 2,20-2,32 (m, 1H), 1,68-1,97 (m, 4H), 1,17-1,67 (m, 16H), 1,01-1,17 (m, 3H), 0,80-0,98 (m, 2H). EM m/z 694,0 (M+1-Boc).

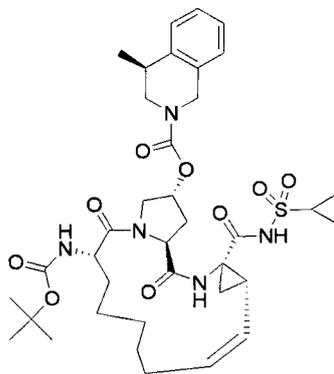
Ejemplo 3-103 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00333462

Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4- ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4R-Metil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00333462) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-1, excepto que se usó 4R-metil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina (preparada de acuerdo con procedimientos similares a los del ejemplo 1-17a, excepto que se usó material de partida enantioméricamente puro en lugar de uno racémico) para reemplazar la 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina. EM m/z 642,2 (M+1-Boc).

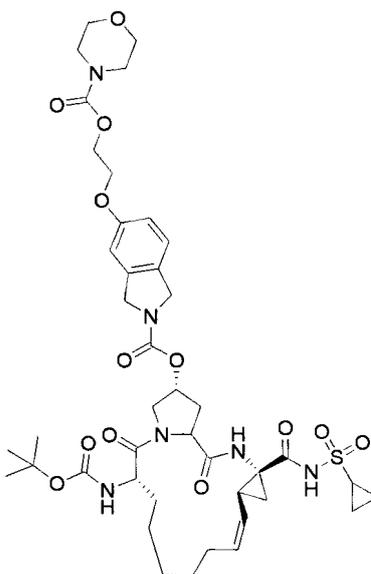
Ejemplo 3-104 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00333463

5 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-4S-Metil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carboxílico (compuesto AR00333463) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-1, excepto que se usó 4S-metil-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina (preparada de acuerdo con procedimientos similares a los del ejemplo 1-17a, excepto que se usó material de partida enantioméricamente puro en lugar de uno racémico) para reemplazar la 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina. EM m/z 642,2 (M+1-Boc).

Ejemplo 3-105 (no de acuerdo con la presente invención)

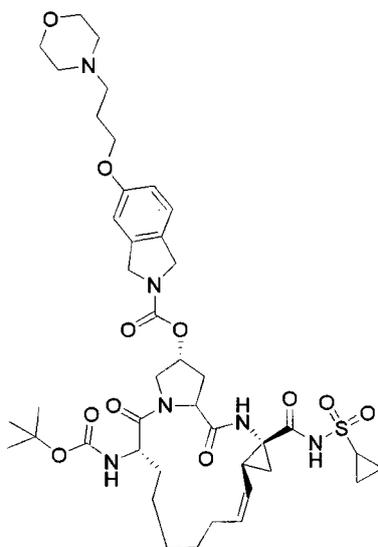


Compuesto AR00345032

10 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-[2-(Morpholine-4-carboniloxi)-etoxi]-1, 3-dihidroisoindol-2-carboxílico (compuesto AR00345032) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó éster 2-(2,3-dihidro-1H-isoindol-5-iloxi)-etilico del ácido morfolin-4-carboxílico (preparado de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, N.º 26, 5771, procedimiento de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 685-688) para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. EM (APCI-): m/z 885,4 (M-1).

15

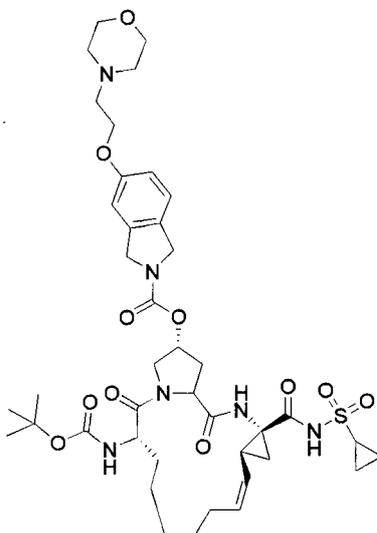
Ejemplo 3-106 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00345075

5 Se sintetizó el éster ácido 14-terc-butoxi- carbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-(3-morfolin-4-il-propoxi)-1,3-dihidroisoindol-2-carboxílico (compuesto AR00345075) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 5-(3-morfolin-4-il-propoxi)-2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, No. 26, 5771, procedimiento de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 685-688) para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. EM (APCI): m/z 855,6 (M-1).

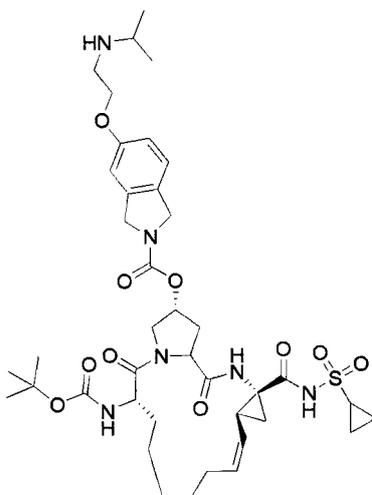
Ejemplo 3-107 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00345090

10  
15 Se sintetizó el éster ácido 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)- 5-(2-morfolin-4-il-etoxi)-1,3-dihidroisoindol- 2-carboxílico (compuesto AR00345090) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 5-(2-morfolin-4-il-etoxi)-2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, N.º 26, 5771, procedimiento de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 685-688) para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. EM (APCI): m/z 841,5 (M-1).

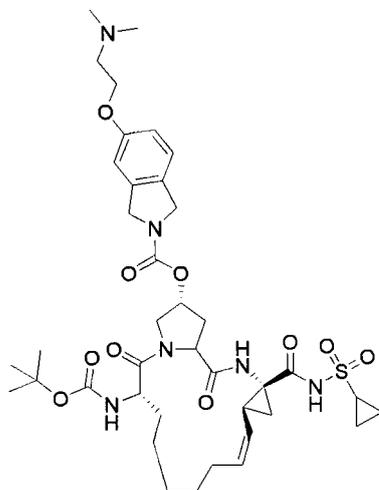
Ejemplo 3-108 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00345094

5 Se sintetizó el éster ácido 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-(2-Isopropilamino-etoxi)-1,3-dihidroisoindol-2-carboxílico (compuesto AR00345094) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó [2-(2,3-dihidro-1H-isoindol-5-iloxi)-etil]-isopropil-amina (preparada de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, N.º 26, 5771, procedimiento de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 685-688) para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. EM (APCI-): m/z 813,5 (M-1).

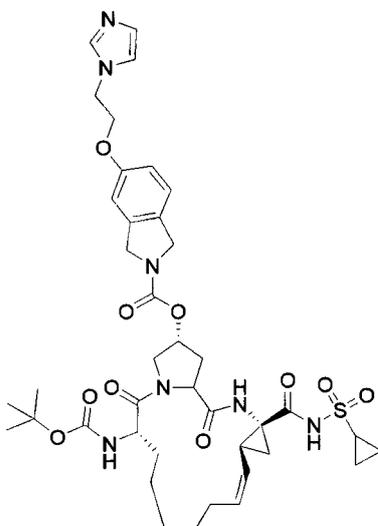
10 Ejemplo 3-109 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00345095

15 Se sintetizó el éster ácido 14-terc-butoxicar-bonylamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-(2-dimetilamino-etoxi)-1,3-dihidroisoindol-2-carboxílico (compuesto AR00345095) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó [2-(2,3-dihidro-1H-isoindol-5-iloxi)-etil]-dimetil-amina (preparada de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, No. 26, 5771, procedimiento de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 685-688) para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. EM (APCI-): m/z 799,5 (M-1).

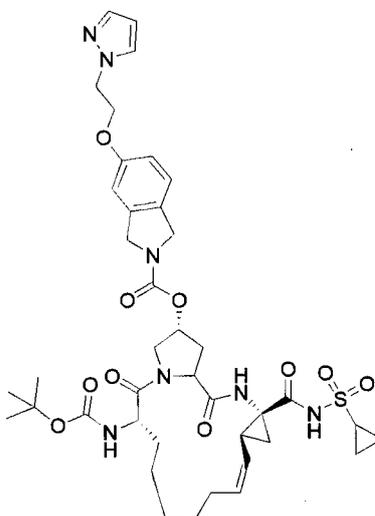
20 Ejemplo 3-110 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00345096

5 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonylamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ilico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-(2-Imidazol-1-il-etoxi)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00345096) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 5-(2-Imidazol-1-il-etoxi)-2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, No. 26, 5771, procedimiento de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 685-688) para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. EM (APCI-): m/z 822,5 (M-1).

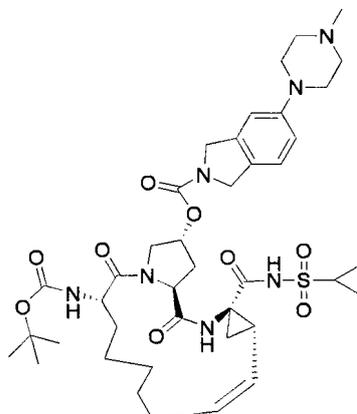
Ejemplo 3-111 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00364924

10  
15 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ilico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-(2-Pirazol-1-il-etoxi)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00364924) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 3-6, excepto que se usó 5-(2-pirazol-1-il-etoxi)-2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado de acuerdo con los procedimientos descritos en J. Med. Chem. 2002, Vol. 45, No. 26, 5771, procedimiento de preparación D, y en Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 685-688) para reemplazar el 2,3-dihidro-1H-isoindol. EM (APCI-): m/z 742,1 [(M-100)+18].

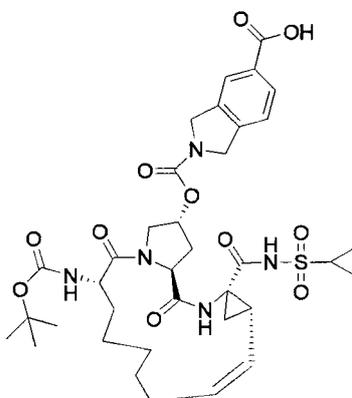
Ejemplo 3-112 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00340495

Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-(4-Metil-piperazin-1-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00340495) de forma similar a la que se describe en el ejemplo 3-57, sustituyendo la 2,3-dihidro-1H-isoindol-5-ilamina en la etapa 5 con 5-(4-Metil-piperazin-1-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol (preparado de forma similar como se describe en: J. Org. Chem. 2000, 65, 1144-1157). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>): 7,72-7,40 (m, 1H), 7,22-7,05 (m, 1H), 6,95-6,70 (m, 2H), 5,55-5,45 (m, 1H), 5,35-5,22 (m, 2H), 4,62-4,50 (m, 4H), 4,40 (m, 1H), 4,30-4,08 (m, 2H), 4,0-3,89 (m, 1H), 3,10 (m, 3H), 2,65 (m, 1H), 2,42 (m, 3H), 2,33-2,20 (m, 6H), 1,85-1,50 (m, 5H), 1,42-1,0 (m, 14H), 0,82-0,55 (m, 4H). EM (APCI+): 712,3 (MH<sup>+</sup> - Boc)

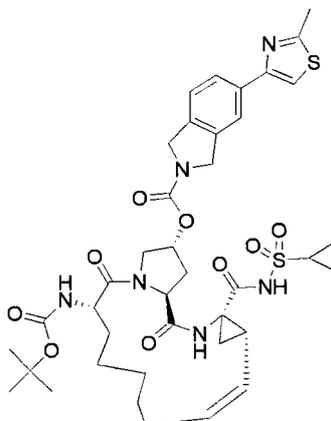
Ejemplo 3-113 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00365084

Se sintetizó el éster 2-(14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclo-propanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico) del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol-2,5-dicarboxílico (compuesto AR00365084) de acuerdo con procedimientos similares descritos en el ejemplo 3-91, excepto que se hidrolizó adicionalmente el producto AR00365083 de ese ejemplo con LiOH en una mezcla de THF-MeOH-H<sub>2</sub>O para dar AR00365084. EM: 658 (M - Boc).

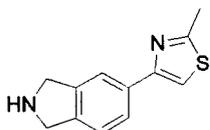
Ejemplo 3-114 (no de acuerdo con la presente invención)



Compuesto AR00364989

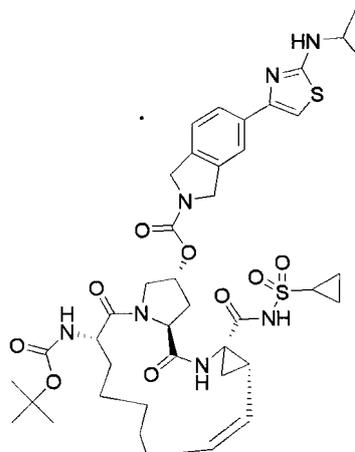
5 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-(2-metil-tiazol-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00364989) de forma similar a la que se describe en el ejemplo 3-57, sustituyendo 2,3-dihidro-1H-isoindol-5-ilamina en la etapa 5 con 5-(2-metil-tiazol-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>) δ 10,69 (s.a., 1H) 8,32 (s.a., 1H), 7,94 (d, 1H) 7,88 (d, 1H) 7,70 (d, 1H) 7,34 (dd, 1H) 6,08-6,16 (m, 1H), 5,69 (q, 1H) 5,45 (s.a., 1H) 5,00 (t, 1H) 4,58-4,81 (m, 5H), 4,44-4,53 (m, 1H), 4,12-4,21 (m, 1H), 3,83-3,91 (m, 1H), 2,86-2,97 (m, 1H), 2,57-2,71 (m, 1H), 2,33-2,54 (m, 3H), 1,81-1,96 (m, 2H), 1,75 (dd, 1H) 1,17-1,63 (m, 20H), 1,06-1,17 (m, 1H), 0,94-1,06 (m, 2H). EM m/z 711,2 (M+1-100).

Ejemplo 3-114a (no de acuerdo con la presente invención)



Se preparó la síntesis de 5-(2-metil-tiazol-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol siguiendo la experimentación de las etapas de A a F en el ejemplo 3-115a, utilizando tioacetamida en la etapa E.

15 Ejemplo 3-115 (no de acuerdo con la presente invención)

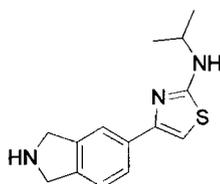


Compuesto AR00365019

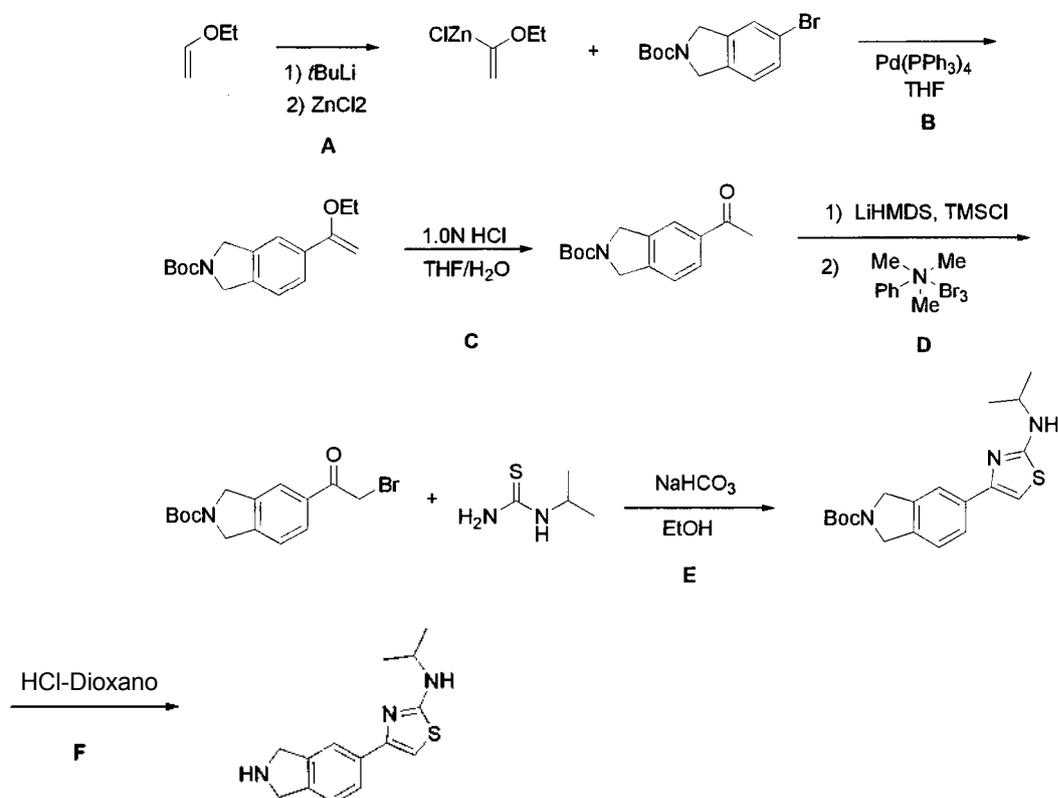
20 Se sintetizó el éster 14-terc-butoxicarbonilamino-4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-ílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-5-(2-isopropilamino-tiazol-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (compuesto AR00365019) de forma similar a la que se describe en el ejemplo 3-57, sustituyendo 2,3-dihidro-1H-isoindol-5-ilamina en la etapa 5 con [4-(2,3-dihidro-1H-isoindol-5-il)-tiazol-2-il]-isopropil-

amina. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ )  $\delta$  10,69 (s.a., 1H), 8,27-8,36 (m, 1H), 7,28-7,50 (m, 2H) 7,01-7,20 (m, 1H), 6,08-6,15 (m, 1H), 5,70 (q, 1H) 4,45 (s.a., 1H) 4,94-5,05 (m, 1H), 4,68-4,76 (m, 4H), 4,59-4,64 (m, 1H) 4,45-4,53 (m, 1H), 4,10-4,20 (m, 1H), 3,81-3,90 (m, 1H) 3,65-3,76 (m, 1H), 2,86-2,98 (m, 1H), 2,63 (s.a., 1H), 2,32-2,54 (m, 3H), 1,80-1,94 (m, 2H), 1,70-1,79 (m, 1H) 1,05-1,65 (m, 19H) 0,95-1,05 (m, 2H). EM m/z 754,2 (M+1-100).

5 Ejemplo 3-115a (no de acuerdo con la presente invención)



La síntesis de [4-(2,3-dihidro-1H-isoindol-5-il)-tiazol-2-il]-isopropilamina se representa en el siguiente esquema:



- 10 A. A una solución de 4 ml de THF y 1ml de etil vinil éter a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , se le añadió t-BuLi (0,79 ml, 1,34 mmol) gota a gota. Se calentó la solución hasta TA y se agitó durante 30 minutos. Se añadió una solución 0,5 M de  $\text{ZnCl}_2$  en THF (3,02 ml, 1,51 mmol) gota a gota y se agitó la reacción a TA durante 30 minutos. Se usó esta mezcla sin purificación adicional. B. A una solución del bromuro de arilo (0,200 g, 0,67 mmol) y  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (39 mg, 0,33 mmol) disuelta en THF bajo  $\text{N}_2$  se le añadió por cánula la especie de vinil cinc bruto de la etapa A. Se calentó la reacción a  $50\text{ }^\circ\text{C}$
- 15 durante 36 horas, y después se filtró a través de un tapón de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  con ayuda de EtOAc y se concentró para dar un aceite que se usó sin purificación adicional.

- C. Se disolvió el aceite bruto de la etapa B en THF (2 ml) y HCl 1,0 N (2ml) y se agitó durante una hora. Se recogió la reacción en EtOAc y se separó, y se lavó la capa orgánica con  $\text{NaHCO}_3$  saturado y salmuera, y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentró hasta un aceite naranja. Se cromatografió este aceite con 5:1 hex:EtOAc para dar un sólido blanco (95 mg, 54 %)
- 20

D. A una solución de LiHMDS 1,0 M (4,0 ml, 4,0 mmol) bajo  $\text{N}_2$  a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , se le añadió TMSCl (3,38 ml, 26,6 mmol) gota a gota. A esta solución se le añadió la cetona de la etapa C en 3ml de THF. Se agitó la reacción a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  durante 30 minutos y se calentó hasta  $0\text{ }^\circ\text{C}$ . Se añadió PTTB (1,10 g, 2,93 mmol) y se agitó la reacción durante 30

minutos a 0 °C, se concentró hasta un sólido, y se recogió en EtOAc y agua. Se lavó la capa orgánica con agua y salmuera, y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró, y se purificó el aceite con 5:1 Hex:EtOAc para dar un sólido amarillo (0,64g, 71 %).

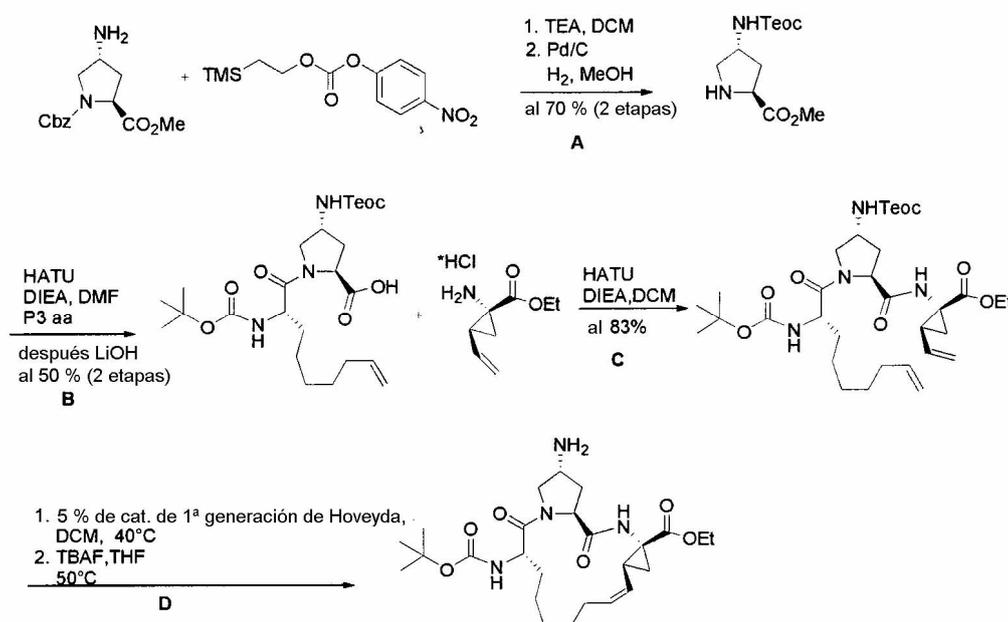
5 E. Se calentó una suspensión de bromocetona (75 mg, 0,22 mmol), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (37 mg, 0,44 mmol) y 1-isopropil tiourea (26 mg, 22 mmol) en EtOH a reflujo durante 30 minutos. Se recogió la reacción en EtOAc y se separó, y se lavó la capa orgánica con NaHCO<sub>3</sub> saturado y salmuera, y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró en un aceite amarillo. Se purificó el aceite con 3:1 Hex:MTBE para dar un aceite transparente (77 mg, 97 %).

10 F. Se agitó la amina-Boc de la etapa E en 4N HCl/dioxano (2,0 ml) durante una hora y se concentró hasta un sólido blanco. Se recogió este sólido en HCl 0,1 N y se lavó con DCM. Se basificó la capa acuosa con NaOH 1,0 N y se extrajo con DCM, se secó, y se concentró y se usó sin purificación adicional.

4. Preparación del intermedio de aminoprolina macrocíclico:

Ejemplo 4-1 (no de acuerdo con la presente invención):

**Síntesis de éster etílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-amino-14-terc-butoxicarbonilamino- 2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-ene-4-carboxílico.**



15 A. A una solución de clorhidrato de (2S, 4R)-4-amino-1-[benziloxicarbonil]pirrolidin-2-metilcarboxilato (2,00 g, 2,34 mmol) en cloruro de metileno (25 ml) se le añadió carbonato de 2-(trimetil silil)etil-p-nitrofenilo (1,98 g, 6,99 mmol) y trietilamina (1,81 ml, 13,34 mmol). Se agitó la reacción durante 3 días, se colocó sobre gel de sílice y se eluyó el producto con EtOAc 40 %/hexanos para dar un aceite incoloro. Se disolvió el aceite metanol (20 ml) y se agitó con paladio al 10 % sobre carbono bajo un globo de gas hidrógeno. Después de agitar durante 4 h, se filtró la reacción y se concentró. Se disolvió el sólido resultante en HCl acuoso 1 N (75 ml) y se extrajo con cloruro de metileno (75 ml). La capa acuosa se volvió básica por la adición de hidróxido de sodio y de nuevo se extrajo con cloruro de metileno (100ml). Se combinaron ambas extracciones orgánicas, se concentró, y se purificó el residuo resultante por cromatografía en gel de sílice eluyendo con metanol 10 %/cloruro de metileno para dar un sólido pardusco (1,29 g, 70 %). CLEM=289(H<sup>+</sup>).

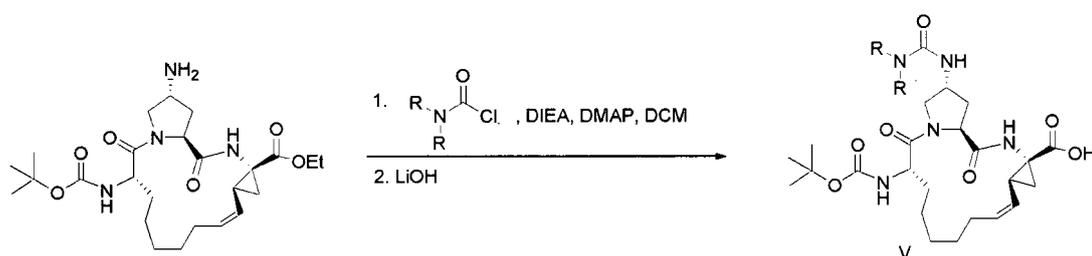
20 B Se agitó una solución de éster metílico del ácido 4(R)-(2-trimetilsililetilcarbonilamino)-pirrolidin-2(S)-carboxílico (1,29 g, 4,50 mmol), ácido 2(S)-terc-butoxicarbonilamino-non-8-enoico (1,22 g, 4,51 mmol), HATU (2,06 g, 5,41 mmol) y diisopropiletilamina (1,18 ml, 6,76 mmol) en dimetilformamida (10 ml) toda la noche. Se diluyó la reacción con acetato de etilo (150 ml), se lavó con HCl acuoso 1 N (2 x 100 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró. La cromatografía en gel de sílice dio un aceite que se agitó con hidróxido de litio (0,28 g, 6,76 mmol) en metanol (5 ml) durante 2 h. Se diluyó la reacción con cloruro de metileno y se lavó con HCl acuoso 1 N, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para dar 1,2 g (49 %) del producto.

35 C Al éster etílico del ácido 1(R)-terc-butoxicarbonilamino-2(S)-vinil-ciclopropanocarboxílico (0,70 g, 2,75 mmol) se le añadió solución de HCl 4 N/dioano (2,87 ml, 11,46 mmol). Después de agitar durante 2 h, se concentró la reacción para dar un sólido. A este sólido se le añadió ácido 1-(2(S)-terc-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4(R)-(2-trimetilsililetil carbonilamino)-pirrolidin-2(S)-carboxílico (1,21 g, 2,29 mmol), HATU (1,05 g, 2,75 mmol) y

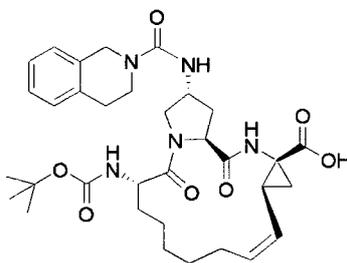
diisopropiletilamina (1,60 ml, 9,17 mmol) y cloruro de metileno (10 ml) y se agitó la durante 18 h a temperatura ambiente. Se colocó la reacción sobre gel de sílice y se eluyó con una solución de acetato de etilo 50 %/hexanos para dar el producto como un aceite incoloro (1,27 g, 83 %). 665(H+)

- 5 D Se desgasificó una solución de éster etílico del ácido 1-[[1-(2(S)-terc-butoxicarbonilamino-non-8-enoil)-4(R)- (2-trimetilsililetil carbonilamino)-pirrolidin-2(S)-carbonil]-amino]-2(S)-vinilciclopropano-1-(R)-carboxílico (1,27 g, 1,91 mmol) en cloruro de metileno (195 ml) durante 1 h burbujeando N<sub>2</sub> a través de la solución. Se añadió dicloro(o-isopropoxifenil-metileno)(triciclohexilfosfina)rutenio (II) (0,057 g, 0.096 mmol) y se agitó la reacción a 40 °C durante 16h. Se concentró la reacción, se colocó sobre gel de sílice y se eluyó con acetato de etilo 50 %/hexanos. Se trató el aceite resultante con TBAF (1,0 M en THF, 2,87 ml) y se calentó hasta 50 °C durante 4 h. Se colocó sobre gel de sílice y se eluyó con metanol 20 %/cloruro de metileno para dar un sólido de color canela (0,65 g, 69 %). RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 1,06-1,66 (m, 17 H), 1,85-1,95 (m, 2H), 2,0-2,1 (m, 1H), 2,1-2,2 (m, 1H), 2,2-2,3 (m, 1H), 2,65-2,75 (M, 1H), 3,40 (m, 1H), 3,73-3,83 (m, 2H), 4,08-4,19 (m, 2H), 4,56 (m, 1H), 4,78 (d, J=5,5 Hz, 1H), 5,20 (t, J=8,1 Hz, 1H), 5,34 (d, J=8,1 Hz, 1H), 5,47 (dt, J=4,5, 10,8 Hz, 1H), 7,08 (s, 1H). 493(H+).

### 5. Preparación de compuestos con la estructura general V

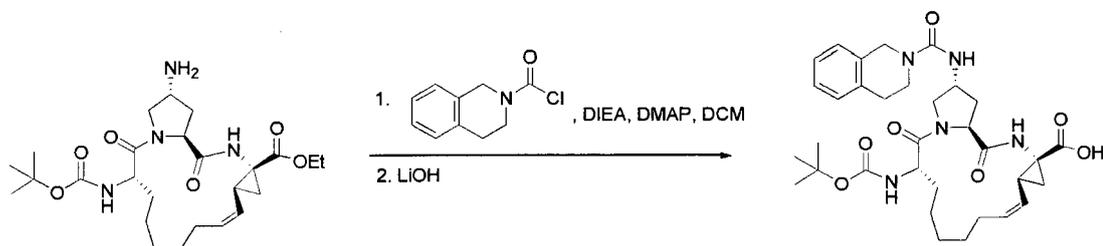


Ejemplo 5-1 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00287262

- 20 Síntesis del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-[(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carbonil)-amino]-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-ene-4-carboxílico (Compuesto AR00287262)

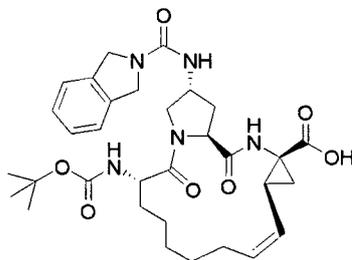


- 25 Se agitaron conjuntamente una solución de cloruro de 3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carbonilo (0,030 g, 0,152 mmol), éster etílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-18-amino-14-terc-butoxicarbonilamino-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo [14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-ene-4-carboxílico (0,025 g, 0,050 mmol), DIEA (0,027 ml, 0,153 mmol) y una cantidad catalítica de DMAP en cloruro de metileno (0,3 ml) durante 18 h. Se colocó la reacción sobre gel de sílice y se eluyó el producto con acetona 40 %/ hexanos y se aisló como un sólido blanco. Se disolvió el sólido en metanol y se trató con hidróxido de litio (0,011 g, 0,254 mmol) y 1 gota de agua. Después de agitar durante 5 h, se diluyó la reacción con cloruro de metileno (30 ml), se lavó con HCl acuoso 1 N (30 ml), salmuera (30 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para dar el compuesto del título como un sólido blanco. CLEM =624 (MH+).

- 30 También se preparó el siguiente compuesto usando el procedimiento descrito en el ejemplo 5-1, sustituyendo cloruro

de 1,3-dihidro-isoindol-2-carbonilo por cloruro de 3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carbonilo. CLEM=610(H+)

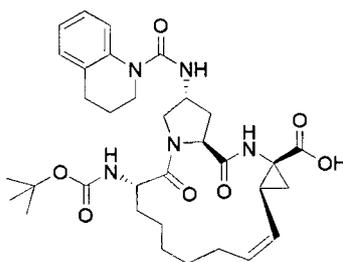
Ejemplo 5-2 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR0029890

- 5 Se preparó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-[(1,3-dihidroisoindol-2-carbonil)- amino]-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-ene-4-carboxílico (compuesto AR0029890) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 5-1, sustituyendo cloruro de 3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carbonil por cloruro de 1,3-dihidro-isoindol-2-carbonilo. EM m/e 608,2 (M-1).

Ejemplo 5-3 (no de acuerdo con la presente invención):



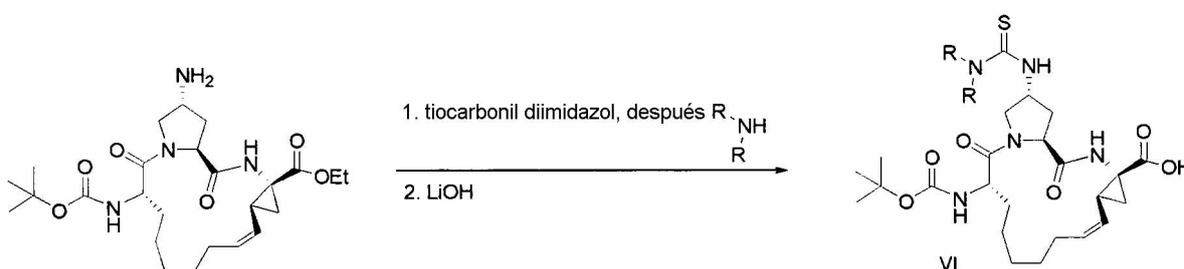
Compuesto AR00304160

10

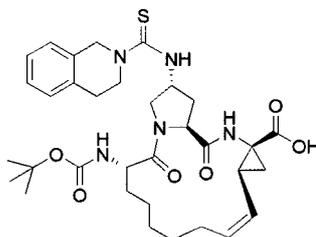
- Se preparó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-[(3,4-dihidro-2H-quinoline-1-carbonil)- amino]-2,15-dioxo-3,16-diaza-triciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-ene-4-carboxílico (compuesto AR00304160) de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 5-1, sustituyendo cloruro de 3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carbonil por cloruro de 3,4-dihidro-2H-quinoline-1-carbonilo. EM m/e 524,3 (M<sup>+</sup>+1-100).

15

6. Preparación de compuestos con estructura general VI



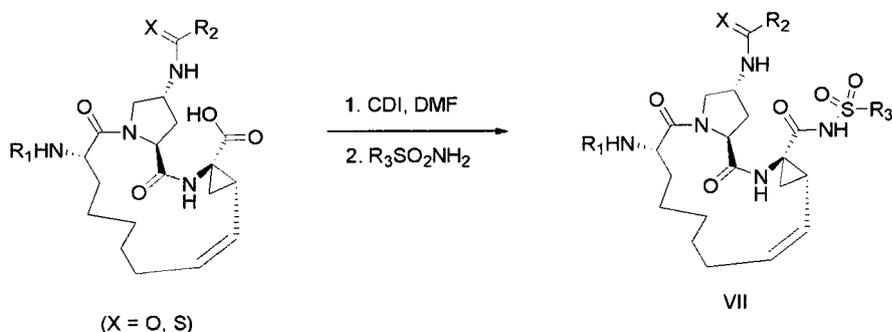
Ejemplo 6-1 (no de acuerdo con la presente invención):



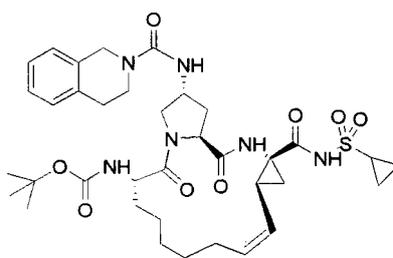
Compuesto AR00304010

5 Se preparó el ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-14-terc-butoxicarbonilamino-18-[(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carbotoil)-amino]-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-ene-4-carboxílico (compuesto AR00304010) usando el mismo procedimiento descrito en la etapa 4 del ejemplo 1-2, excepto que se sustituyó carbonil diimidazol con tiocarbonil diimidazol. CLEM=640(H<sup>+</sup>). EM m/e 640,1 (M<sup>+</sup>+1).

7. Preparación de compuestos con estructura general VII



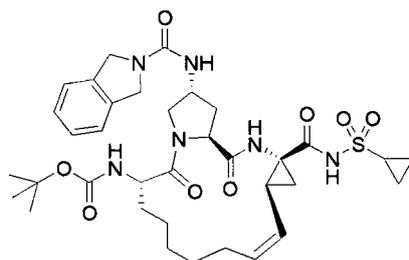
Ejemplo 7-1 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00287266

10 Síntesis de éster terc-butílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)- {4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil -18- [(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carbonil)-amino]-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-14-il}-carbámico (compuesto AR00287266) de acuerdo con los mismos procedimientos que se describen en el ejemplo 3-1, comenzando con el ácido preparado a partir de los procedimientos descritos en el ejemplo 5-1. EM m/e 727,0 (M<sup>+</sup>+1).

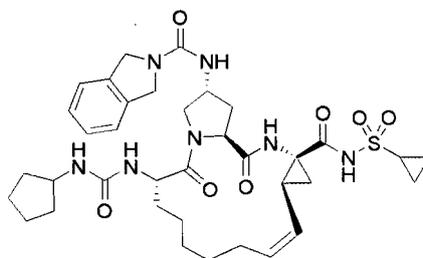
Ejemplo 7-2 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304008

5 Se preparó el éster terc-butílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-{4-Ciclopropanosulfonilaminocarbonil- 18-[(1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil) -amino]-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-14-il}-carbámico (compuesto AR00304008) de acuerdo con los mismos procedimientos que se describen en el ejemplo 3-1, comenzando con el ácido preparado a partir de los procedimientos descritos en el ejemplo 5-2. EM m/e 613,2 (M<sup>+</sup>+100).

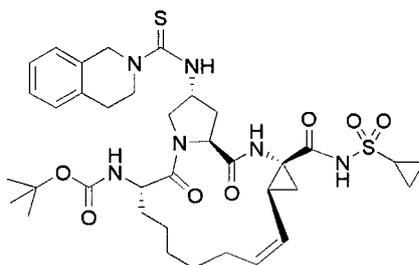
Ejemplo 7-3 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304014

10 Se preparó la [ 14-(3-ciclopentil-ureido)- 4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil-2,15-dioxo- 3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-18-il]-amida del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-1,3-dihidro-isoindol- 2-carboxílico (compuesto AR00304014) de acuerdo con los mismos procedimientos que se describen en el ejemplo 2-24, comenzando con la acil-sulfonamida preparada a partir de los procedimientos descritos en el ejemplo 7-4. EM m/e 724,2 (M<sup>+</sup>+1).

Ejemplo 7-4 (no de acuerdo con la presente invención):



Compuesto AR00304012

20 Se preparó el éster terc-butílico del ácido (1S, 4R, 6S, 14S, 18R)-{4-ciclopropanosulfonilaminocarbonil- 18-[(3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-carbotoil)-amino]-2,15-dioxo-3,16-diazatriciclo[14.3.0.0<sup>4,6</sup>]nonadec-7-en-14-il}-carbámico (compuesto AR00304012) de acuerdo con los mismos procedimientos que se describen en el ejemplo 3-1, comenzando con el ácido preparado a partir de los procedimientos descritos en el ejemplo 6-1. EM m/e 743,0 (M<sup>+</sup>+1).

Ejemplo 8

25 **Ensayo de NS3-NS4A proteasa**

Formación del complejo NS3 con NS4A-2

5 Se diluyó NS3 de longitud completa de E. coli o Baculovirus recombinante hasta 3,33  $\mu\text{M}$  con tampón de ensayo y se transfirió el material a un tubo eppendorf y se colocó en un baño de agua en un refrigerador a 4 °C. Se añadió la cantidad apropiada de NS4A-2 hasta 8,3mM en tampón de ensayo para igualar el volumen de NS3 en la etapa 2.1.1 (factor de conversión - 3,8mg/272  $\mu\text{l}$  de tampón de ensayo). Se transfirió el material a un tubo eppendorf y se colocó en un baño de agua en un refrigerador de 4 °C.

Después de equilibrarse a 4 °C, se combinaron volúmenes iguales de soluciones NS3 y NS4A-2 en un tubo eppendorf, se mezclaron cuidadosamente con un pipeteador manual, y se incubó la mezcla durante 15 minutos en el baño de agua a 4 °C. Las concentraciones finales en la mezcla fueron NS3 1,67  $\mu\text{M}$ , NS4A-2 4,15 mM (exceso molar de 2485 veces de NS4A-2).

10 Después de 15 minutos a 4 °C, se retiró el tubo de eppendorf de NS3/NS4A-2 y se colocó en un baño de agua a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se alícuotó NS3/NS4A-2 a volúmenes apropiados y se almacenó a -80 °C (NS3 de E. coli realizado a 2 nM en ensayo, alícuota a 25  $\mu\text{l}$ . NS3 de BV realizado a 3 nM en ensayo, alícuota a 30  $\mu\text{l}$ ).

#### Ensayo de inhibición de NS3

15 Etapa 2.2.5. Se disolvieron los compuestos de muestra hasta 10 mM en DMSO, después se diluyó hasta 2,5 mM (1:4) en DMSO. Normalmente, se añadieron los compuestos a una placa de ensayo a una concentración de 2,5 mM, proporcionando después de la dilución una concentración de partida de 50 microM en la curva de inhibición de ensayo. Se diluyeron en serie los compuestos en tampón de ensayo para proporcionar soluciones de prueba a concentraciones menores.

20 Etapa 2.2.6. Se diluyó el NS3/NS4A-2 de E. coli hasta NS3 4 nM (1:417,5 de reserva 1,67  $\mu\text{M}$  - 18  $\mu\text{l}$  de reserva 1,67  $\mu\text{M}$  + 7497  $\mu\text{l}$  de tampón de ensayo).

Se diluyó el NS3/NS4A-2 de BV hasta NS3 6 nM (1:278,3 de reserva 1,67  $\mu\text{M}$  - 24  $\mu\text{l}$  de reserva 1,67  $\mu\text{M}$  + 6655  $\mu\text{l}$  de tampón de ensayo).

25 Etapa 2.2.7. Usando el pipeteador multicanal manual y teniendo cuidado de no introducir burbujas en la placa, se añadieron 50  $\mu\text{l}$  de tampón de ensayo a pocillos A01-H01 de una placa de almacenamiento de polipropileno de 96 pocillos negra Costar.

Etapa 2.2.8. Usando el pipeteador multicanal manual, y teniendo cuidado de no introducir burbujas en la placa, se añadieron 50  $\mu\text{l}$  de NS3/NS4A-2 diluido de la etapa 2.2.6 a pocillos de A02-H12 de placa en la etapa 2.2.7.

30 Etapa 2.2.9. Usando el pipeteador multicanal manual, y teniendo cuidado de no introducir burbujas en la placa, se transfectaron 25  $\mu\text{l}$  de los pocillos en la placa de dilución de fármaco en la etapa 2.2.5 a los pocillos correspondientes en la placa de ensayo en la etapa 2.2.8.

Se cargaron las puntas en el pipeteador multicanal para cada serie de compuestos transferidos.

35 Etapa 2.2.10. Usando el pipeteador multicanal manual, y teniendo cuidado de no introducir burbujas en la placa, se mezclaron los pocillos de la placa de ensayo en la etapa 2.2.9 aspirando y dispensando 35  $\mu\text{l}$  de los 75  $\mu\text{l}$  en cada pocillo cinco veces. Se cargaron las puntas en el pipeteador multicanal para cada serie de pocillos mezclados.

Etapa 2.2.11. Se cubrió la plaza con una tapa de placa de poliestireno, y se preincubó la placa de la etapa 2.2.10, que contenía NS3 proteasa y compuesto de muestra, 10 minutos a temperatura ambiente.

40 Mientras se preincubaba la placa de la etapa 2.2.11, se diluyó el sustrato RETS1 en un tubo de centrifuga de polipropileno de 15 ml. Se diluyó el sustrato de RETS1 hasta 8  $\mu\text{M}$  (1:80,75 de reserva 646  $\mu\text{M}$  - 65  $\mu\text{l}$  de reserva 646  $\mu\text{M}$  + 5184  $\mu\text{l}$  de tampón de ensayo).

Después de que la placa en la etapa 2.2.11 realizara la preincubación, y usando el multicanal manual, se añadieron 25  $\mu\text{l}$  de sustrato a todos los pocillos en la placa. Se mezclaron rápidamente los contenidos de los pocillos, como en la etapa 2.2.10, pero mezclando 65  $\mu\text{l}$  de los 100  $\mu\text{l}$  en los pocillos.

45 Se leyó la placa en modo cinético en el lector de placa SpectraMax Gemini XS de Molecular Devices. Ajustes de la lectura: Tiempo de lectura: 30 minutos, intervalo: 36 segundos, lecturas: 51, Excitación  $\lambda$ : 335 nm, Emisión  $\lambda$ : 495 nm, corte: 475 nm, Automezcla: desactivado, Calibrado: una vez, PMT: alto, lecturas/pocillo: 6, Vmáx pts: 21 o 28/51 dependiendo de la longitud de linealidad de la reacción.

Se determinaron las  $Cl_{50}$  usando una ecuación de ajuste de curva de cuatro parámetros, y se convirtió a las  $Ki$  usando las siguientes  $Km$ :

50 NS3 de E. coli de longitud completa - 2,03  $\mu\text{M}$

NS3 de BV de longitud completa - 1,74  $\mu\text{M}$

donde  $K_i = CI_{50}/(1+[S]/K_m)$

Quantificación por ELISA de la proteína marcadora seleccionable, neomicina fosfotransferasa II (NPTII) en el replicón subgenómico de VHC, GS4.3

5 Se creó el replicón subgenómico de VHC (I377/NS3-3', número de acceso AJ242652), mantenido de forma estable en células de hepatoma HuH-7, por Lohmann et al. Science 285: 110-113 (1999). Se obtuvo el cultivo celular que contenía el replicón, designado GS4,3, del Dr. Christoph Seeger del Institute for Cancer Research, Fox Chase Cancer Center, Filadelfia, Pensilvania.

10 Se mantuvieron las células GS4.3 a 37 °C, CO<sub>2</sub> 5 %, en DMEM (Gibco 11965-092) complementado con L-glutamina 200mM (100X) (Gibco25030-081), aminoácidos no esenciales (NEAA)(Biowhittaker 13-114E), suero bovino fetal (FBS) inactivado por calor (HI) (Hyclone SH3007,03) y 750 µg/ml de geneticina (G418)(Gibco 10131-035). Se subdividieron las células 1:3 o 4 cada 2-3 días.

15 24 horas antes del ensayo, se recogieron las células GS4.3, se contaron y se plaquearon en placas de 96 pocillos (Costar 3585) a 7500 células/pocillo en 100 µl de medio de mantenimiento estándar (anterior) y se incubaron en las condiciones anteriores. Para iniciar el ensayo, se retiró el medio de cultivo, se lavaron las células una vez con PBS (Gibco 10010-023) y se añadieron 90 µl de medio de ensayo (DMEM, L-glutamina, NEAA, HI FBS 10 %, no G418). Se realizaron los inhibidores como una reserva 10X stock en medio de ensayo, (dilución de 3 veces de concentración final de 10 µM a 56 pM, concentración de DMSO final al 1 %), se añadieron 10 µl para duplicar los pocillos, se mezclaron rápidamente las placas, y se incubó como antes durante 72 h.

20 Se obtuvo un kit de ELISA NPTII de AGDIA, Inc. (sistema de prueba de ELISA directa de compuesto para neomicina fosfotransferasa II, PSP 73000/4800). Se siguieron las instrucciones del fabricante, con algunas modificaciones. Se preparó el tampón de lisis 10X PEB-1 para que incluyera PMSF 500 µM (Sigma P7626, reserva de 50 mM en isopropanol). Después de 72 h de incubación, se lavaron una vez las células con PBS y se añadieron 150 µl de PEB-1 con PMSF por pocillo. Se agitaron enérgicamente las placas durante 15 minutos, temperatura ambiente, después se congelaron a -70 °C. Se descongelaron las placas, se mezclaron bien los lisados, y se aplicaron 100 µl a una placa ELISA NPTII. Se realizó una curva estándar. Se agrupó el lisado de células de control tratadas con DMSO, se diluyó en serie con PEB-1 con PMSF, y se aplicó a pocillos duplicados de la placa ELISA, en un intervalo de cantidad de lisado inicial de 150ul-2,5ul. Además, se aplicaron 100 µl de tampón solo en duplicado como blanco. Se sellaron las placas y se agitaron cuidadosamente a temperatura ambiente durante 2 h. Después de conseguir la incubación, se lavaron las placas 5X 300 µl con PBS-T (Tween-20 0,5 %, PBS-T se suministró en el kit ELISA). Para la detección, se realizó una dilución 1X de diluyente conjugado de enzima MRS-2 (5X) en PBS-T, en el que se añadieron diluciones 1:100 de conjugados de enzimas A y B, según las instrucciones. Se resellaron las placas, y se incubaron con agitación, se cubrieron, temperatura ambiente, durante 2 h. Después, se repitió el lavado y se añadieron 100 µl de sustrato de TMB a temperatura ambiente. Después de aproximadamente 30 minutos de incubación (temperatura ambiente, agitación, cubierto), se detuvo la reacción con 50 µl de ácido sulfúrico 3 M. Se leyeron las placas a 450 nm sobre un lector de placas Versamax de Molecular Devices.

35 Se expresó el efecto inhibitorio como un porcentaje de señal de control tratado con DMSO y se calcularon las curvas de inhibición usando una ecuación de 4-parámetros:  $y=A+((B-A)/(1+((C/x)^D)))$ , donde C es la mitad de la actividad máxima o CE<sub>50</sub>

**EJEMPLOS DE ACTIVIDAD:**

40 En los que:

A indica una CI<sub>50</sub> o CE<sub>50</sub>, como se indica, de menos de 50 µM

B indica una CI<sub>50</sub> o CE<sub>50</sub>, como se indica, de menos de 10 µM

C indica una CI<sub>50</sub> o CE<sub>50</sub>, como se indica, de menos de 1 µM y

D indica una CI<sub>50</sub> o CE<sub>50</sub>, como se indica, de menos de 0,1 µM

45

Tabla 2

Compuesto	CI <sub>50</sub> de NS3-NS4A	EC <sub>50</sub> de replicón	Compuesto	CI <sub>50</sub> de NS3-NS4A	EC <sub>50</sub> de replicón
AR00220042	C	B	AR00301383	B	N/A
AR00220122	A	N/A	AR00301745	C	B
AR00226824	B	N/A	AR00301746	D	D
AR00226825	B	N/A	AR00301747	D	D
AR00247310	C	N/A	AR00301749	C	B
AR00248687	C	N/A	AR00301751	D	D
AR00248688	B	N/A	AR00304000	C	B
AR00248689	C	N/A	AR00304008	D	D
AR00254906	D	C	AR00304010	C	B
AR00261407	D	C	AR00304012	D	C
AR00261408	D	D	AR00304014	D	D
AR00261409	D	B	AR00304062	B	N/A
AR00282131	D	D	AR00304063	C	B
AR00287262	B	N/A	AR00304065	C	B
AR00287266	D	C	AR00304066	C	B
AR00291871	D	C	AR00304067	C	B
AR00291875	C	B	AR00304072	C	B
AR00294376	B	N/A	AR00304073	C	B
AR00294377	C	B	AR00304074	C	B
AR00294378	C	B	AR00304075	C	B
AR00294381	D	D	AR00304076	D	c
AR00294382	C	N/A	AR00304077	D	B
AR00294383	B	N/A	AR00304078	D	C
AR00294384	C	B	AR00304079	D	c
AR00294980	B	N/A	AR00304080	D	D
AR00298989	B	N/A	AR00304081	D	C
AR00298990	B	N/A	AR00304082	D	D
AR00298996	D	D	AR00304103	B	B
AR00298997	D	D	AR00304125	C	B
AR00301338	D	B	AR00304126	C	B
AR00304183	A	N/A	AR00304127	C	B
AR00311814	D	B	AR00304154	B	N/A
AR00311815	D	C	AR00304158	A	N/A
AR00312023	C	N/A	AR00304160	A	N/A
AR00312024	D	D	AR00304161	D	D
AR00312025	D	D	AR00304162	D	D

ES 2 398 912 T3

(continuación)

Compuesto	CI <sub>50</sub> de NS3-NS4A	EC <sub>50</sub> de replicón	Compuesto	CI <sub>50</sub> de NS3-NS4A	EC <sub>50</sub> de replicón
AR00312026	D	D	AR00304163	D	D
AR00314578	C	N/A	AR00320123	C	B
AR00314635	D	D	AR00320220	D	D
AR00314654	D	D	AR00320221	C	N/A
AR00314656	D	D	AR00320222	D	B
AR00314685	A	N/A	AR00320403	D	C
AR00314719	D	D	AR00320445	B	N/A
AR00315997	C	B	AR00320446	D	D
AR00315998	C	B	AR00320447	D	C
AR00315999	C	B	AR00320448	C	B
AR00320001	D	D	AR00320449	D	B
AR00320002	C	B	AR00320450	C	B
AR00320073	D	D	AR00320506	D	D
AR00320074	D	B	AR00320547	D	D
AR00320075	C	B	AR00320548	D	D
AR00320076	C	B	AR00320549	D	D
AR00320077	C	B	AR00320556	D	D
AR00320078	D	B	AR00320557	D	D
AR00320079	D	D	AR00320574	D	D
AR00320080	D	C	AR00320575	D	C
AR00320081	D	D	AR00320576	B	N/A
AR00320082	D	D	AR00320577	C	B
AR00320119	D	D	AR00320578	D	D
AR00320120	D	D	AR00320579	D	D
AR00320121	D	D	AR00320580	D	D
AR00320122	C	B	AR00320581	D	D
AR00324375	C	C	AR00320582	D	D
AR00334286	D	D	AR00320774	D	C
AR00334385	D	D	AR00333833	D	D
AR00365387	D	D	AR00334191	D	D
AR00365425	D	N/A	AR00340479	D	D
AR00365572	D	D	AR00365388	D	N/A
AR00333802	D	D	AR00365426	D	B
AR00334188	D	C	AR00333801	D	D
AR00334248	D	C	AR00333803	D	C

(continuación)

Compuesto	CI <sub>50</sub> de NS3-NS4A	EC <sub>50</sub> de replicón	Compuesto	CI <sub>50</sub> de NS3-NS4A	EC <sub>50</sub> de replicón
AR00334250	D	D	AR00334247	D	C
AR00364266	D	C	AR00334249	D	C
AR00334339	D	D	AR00334341	D	D
AR00365438	D	D	AR00365427	D	D
AR00365349	C	C	AR00365193	D	D
AR00340303	D	C	AR00333842	C	B
AR00340156	D	C	AR00365381	C	C
AR00340188	D	C	AR00340122	D	C
AR00334399	D	D	AR00340178	D	D
AR00338070	D	D	AR00334314	D	D
AR00341649	D	D	AR00338066	D	D
AR00333224	B	N/A	AR00338071	D	D
AR00333248	B	N/A	AR00364936	D	C
AR00333277	B	N/A	AR00333225	B	N/A
AR00365083	D	D	AR00333276	B	N/A
AR00340494	D	D	AR00365369	D	C
AR00365252	D	C	AR00333831	D	D
AR00334220	D	C	AR00365082	D	C
AR00334225	D	C	AR00334218	D	D
AR00340173	D	B	AR00334222	D	D
AR00333462	D	D	AR00334226	D	D
AR00333463	D	D	AR00340526	D	D
AR00345032	D	D	AR00345075	D	C
AR00345090	D	D	AR00345094	D	D
AR00345095	D	D	AR00345096	D	D
AR00364924	D	D	AR00371946	D	N/A
AR00371947	C	N/A	AR00371948	D	N/A
AR00340495	D	D	AR00365084	D	B
AR00364989	D	D	AR00365019	D	D

### Ensayos específicos

- 5 Cuando se evaluaron los compuestos en ensayos específicos, se encontró que los compuestos de fórmula I eran selectivos porque no mostraban una inhibición significativa en catepsina B, quimotripsina, trombina o leucocito elastasa.

Ejemplo 9: Análisis farmacocinético de compuestos

### Procedimientos

- 10 Inicialmente, los compuestos se sintetizaron y se probaron para determinar su potencia (CI<sub>50</sub>) en un ensayo de proteasa NS3/4 fluorogénico y sistema de replicón de VHC basado en células como se describe en el ejemplo 8 anterior. Después, se usó un análisis farmacocinético de plasma en *Rattus sp.* después de la administración IV junto

con microsoma de hígado humano in vitro (HLM) y estudios de estabilidad de hepatocitos para dirigir el diseño de compuestos metabólicamente estables a partir de compuestos con una potencia <math><20\text{ nM}</math>. Estos compuestos iniciales se optimizaron adicionalmente para determinar sus propiedades físicas de tipo fármaco y se administraron en dosis orales en *Rattus sp.* para evaluar las concentraciones en el hígado, corazón y plasma.

- 5 Se probaron los compuestos para determinar su eliminación en el hígado con el tiempo después de una única dosis oral de 3 mg/kg en ratas. Para cualquier compuesto que mostró que presentaba una concentración en el hígado 8 horas después de administración que era al menos 100 veces más que la concentración del compuesto eficaz para inhibir un 50 % de la inhibición máxima en el ensayo de replicón ( $CE_{50}$  de replicón), se realizaron evaluaciones toxicológicas adicionales en ratas usando dosificaciones de hasta 30 mg/kg por vía oral BID durante siete días.

## 10 Resultados

Los compuestos **AR294381**, **AR261408**, **AR333833** y **AR334191** proporcionaron valores de  $CE_{50}$  de replicón de aproximadamente 2 nM y presentaron estabilidad in vitro en ensayos de incubación de hepatocitos de rata, perro y humano, datos que podrían predecir tasas de bajas a moderadas de eliminación en el hígado. Además, estos compuestos presentaron un alto grado de selectividad contra un panel de otras serina proteasas, y no presentaron inhibición significativa de formas de P450 de citocromo o actividad de canal de hERG incluso en las mayores concentraciones probadas (10  $\mu\text{M}$ ).

- 15 Para los compuestos AR294381, AR261408, AR333833 y AR334191, una única dosis oral de 30 mg/kg en *Rattus sp.* proporcionó concentraciones en el hígado 24 horas después de la dosis que fueron al menos 200 veces más que sus respectivos valores de  $CE_{50}$  de replicón.

Para los compuestos AR294381, AR261408, AR333833 y AR334191, una única dosis oral de 30 mg/kg en *Rattus sp.* proporcionó concentraciones en el hígado 24 horas después de la dosis que fueron al menos 200 veces más que sus respectivos valores de  $CE_{50}$  de replicón.

- 20 El compuesto AR334191 proporcionó niveles en corazón y plasma de hasta dos órdenes de magnitud menores que, y correlacionados cinéticamente con, concentraciones en el hígado en los mismos animales. A una dosis oral clínicamente más razonable (3 mg/kg), el compuesto AR334191 proporcionó una concentración en el hígado 8 horas después de la dosis fue sobre 100 veces más que el valor de  $CE_{50}$  de replicón del compuesto. Después de la exposición del compuesto AR334191 a una dosificación de 30 mg/kg por vía oral BID durante 7 días, no se observaron mortalidad, cambio en el peso ni anomalías en las químicas clínicas en animales tratados.
- 25

## Conclusión

Se han desarrollado inhibidores de moléculas pequeñas disponibles por vía oral, metabólicamente estables, potentes, de la proteasa NS3 del VHC. A concentraciones de dosificación oral moderadas (3 mg/kg), estos compuestos presentan niveles en el hígado altos (100 veces mayores que sus respectivos valores de  $CE_{50}$  de replicón) 8 horas después de la dosis. La exposición al plasma y corazón es de hasta dos órdenes de magnitud por debajo de lo observado en el hígado, y dichas concentraciones bajas minimizan cualquier problema toxicológico sistémico potencial.

- 30

El compuesto AR334191 no presentó toxicidad en *Rattus sp.* cuando se dosifica durante siete días a 30 mg/kg BID, proporcionando al menos un margen de seguridad de 10 veces sobre la dosis eficaz presunta (3 mg/kg) que proporciona concentraciones en el hígado con un exceso de 100 veces del valor de  $CE_{50}$  de replicón del compuesto.

- 35

## LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Intermune, Inc. Array Biopharma, Inc.

<120> Ácidos carboxílicos macrocíclicos y acilsulfonamidas como inhibidores de replicación de VHC

<130> IMI-001-EP

- 40 <140> EP 04795169.4

<141> 2004-10-13

<150> US 60/511.541

<151> 2003-10-14

<150> US 60/612.460

- 45 <151> 2004-09-22

<160> 1

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 28

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Timosina alfa 1 sintetizada químicamente

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (1)..(1)

<223> Serina acetilada

10 <400> 1

Ser Asp Ala Ala Val Asp Thr Ser Ser Glu Ile Thr Thr Lys Asp Leu  
 1 5 10 15

Lys Glu Lys Lys Glu Val Val Glu Glu Ala Glu Asn  
 20 25

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Intermune, Inc. Array Biopharma, Inc.

<120> Ácidos carboxílicos macrocíclicos y acilsulfonamidas como inhibidores de replicación de VHC

15 <130> IMI-001-EP

<140> EP 04795169.4

<141> 2004-10-13

<150> US 60/511.541

<151> 2003-10-14

20 <150> US 60/612.460

<151> 2004-09-22

<160> 1

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

25 <211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Timosina alfa 1 sintetizada químicamente

30 <220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X = grupo acetilo

ES 2 398 912 T3

<400> 1

Xaa Ser Asp Ala Ala Val Asp Thr Ser Ser Glu Ile Thr Thr Lys Asp  
1 5 10 15

Leu Lys Glu Lys Lys Glu Val Val Glu Glu Ala Glu Asn  
20 25

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Intermune, Inc. Array Biopharma, Inc.

5 <120> Ácidos carboxílicos macrocíclicos y acilsulfonamidas como inhibidores de replicación de VHC

<130> IMI-001-EP

<140> EP 04795169.4

<141> 2004-10-13

<150> US 60/511.541

10 <151> 2003-10-14

<150> US 60/612.460

<151> 2004-09-22

<160> 1

<170> PatentIn versión 3.3

15 <210> 1

<211> 28

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Timosina alfa 1 sintetizada químicamente

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (1)..(1)

<223> Serina acetilada

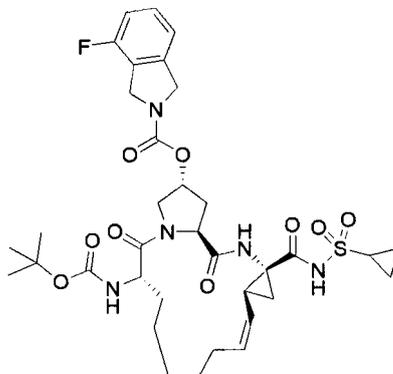
25 <400> 1

Ser Asp Ala Ala Val Asp Thr Ser Ser Glu Ile Thr Thr Lys Asp Leu  
1 5 10 15

Lys Glu Lys Lys Glu Val Val Glu Glu Ala Glu Asn  
20 25

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 2. Una composición farmacéutica que comprende:
  - a) un compuesto de la reivindicación 1; y
  - b) un vehículo farmacéuticamente aceptable.
3. Un compuesto de la reivindicación 1 o una composición de la reivindicación 2, para su uso como un medicamento.
- 10 4. Uso de un compuesto de la reivindicación 1 o una composición de la reivindicación 2, para la fabricación de un medicamento para tratar una infección por virus de hepatitis C en un individuo.
5. El uso de la reivindicación 4, en el que se logra una respuesta vírica sostenida.
6. Uso de un compuesto de la reivindicación 1 o una composición de la reivindicación 2, para la fabricación de un medicamento para tratar la fibrosis hepática en un individuo.
- 15 7. Uso de un compuesto de la reivindicación 1 o una composición de la reivindicación 2, para la fabricación de un medicamento para aumentar la función hepática en un individuo que tiene una infección por virus de hepatitis C.
8. El uso de la reivindicación 4, 6 o 7, en el que se administra al individuo una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 o una composición de la reivindicación 2 y se administra al individuo adicionalmente una cantidad eficaz de un análogo de nucleósido.
- 20 9. El uso de la reivindicación 4, 6 o 7, en el que el medicamento se fabrica para su uso en combinación con una cantidad eficaz de un análogo de nucleósido.
10. El uso de la reivindicación 8 o 9, en el que el análogo de nucleósido se selecciona de ribavirina, levovirina, viramidina, un L-nucleósido e isatoribina.
- 25 11. El uso de la reivindicación 8 o 9, en el que el análogo de nucleósido es ribavirina.
12. El uso de la reivindicación 4, 6 o 7, en el que se administra al individuo una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 o una composición de la reivindicación 2 y se administra al individuo adicionalmente pifrenidona o un análogo de pifrenidona por vía oral al día en una cantidad de desde 400 mg hasta 3600 mg.
- 30 13. El uso de la reivindicación 4, 6 o 7, en el que el medicamento se fabrica para su uso en combinación con pifrenidona o un análogo de pifrenidona administrado por vía oral al día en una cantidad de 400 mg a 3600 mg.
14. El uso de la reivindicación 4, 6 o 7, en el que se administra al individuo una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 o una composición de la reivindicación 2 y se administra al individuo adicionalmente una cantidad eficaz de un inhibidor de ARN polimerasa dependiente de ARN de NS5B.
- 35 15. El uso de la reivindicación 4, 6 o 7, en el que el medicamento se fabrica para su uso en combinación con una cantidad eficaz de un inhibidor de ARN polimerasa dependiente de ARN de NS5B.
16. El uso de la reivindicación 4, 6 o 7, en el que se administra al individuo una cantidad eficaz de un compuesto de

la reivindicación 1 o una composición de la reivindicación 2 y se administra al individuo adicionalmente una cantidad eficaz de un antagonista del factor de necrosis tumoral seleccionado del grupo que consiste en etanercept, infliximab y adalimumab.

- 5 17. El uso de la reivindicación 4, 6 o 7, en el que el medicamento se fabrica para su uso en combinación con una cantidad eficaz de un antagonista del factor de necrosis tumoral seleccionado del grupo que consiste en etanercept, infliximab y adalimumab.
18. El uso de la reivindicación 4, 6 o 7, en el que se administra al individuo una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 o una composición de la reivindicación 2 y se administra al individuo adicionalmente una cantidad eficaz de timosina- $\alpha$ .
- 10 19. El uso de la reivindicación 4, 6 o 7, en el que el medicamento se fabrica para su uso en combinación con una cantidad eficaz de timosina- $\alpha$ .
20. El uso de la reivindicación 18 o 19, en el que la timosina- $\alpha$  se administra por vía subcutánea dos veces a la semana en una cantidad de 1,0 mg a 1,6 mg.
- 15 21. El uso de la reivindicación 4, 6 o 7, en el que se administra al individuo una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 o una composición de la reivindicación 2 y se administra al individuo adicionalmente una cantidad eficaz de interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ).
22. El uso de la reivindicación 4, 6 o 7, en el que el medicamento se fabrica para su uso en combinación con una cantidad eficaz de interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ).
- 20 23. El uso de la reivindicación 21 o 22, en el que el IFN- $\gamma$  se administra por vía subcutánea en una cantidad de 10  $\mu$ g a 300  $\mu$ g.
24. El uso de la reivindicación 4, 6 o 7, en el que se administra al individuo una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 o una composición de la reivindicación 2 y se administra al individuo adicionalmente una cantidad eficaz de interferón-alfa (IFN- $\alpha$ ).
- 25 25. El uso de la reivindicación 4, 6 o 7, en el que el medicamento se fabrica para su uso en combinación con una cantidad eficaz de interferón-alfa (IFN- $\alpha$ ).
26. El uso de la reivindicación 24 o 25, en el que el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$ 2a PEGilado.
27. El uso de la reivindicación 24, en el que el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$ 2a PEGilado y en el que se administra adicionalmente al individuo una cantidad eficaz de ribavirina.
- 30 28. El uso de la reivindicación 25, en el que el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$ 2a PEGilado y en el que el medicamento se fabrica adicionalmente para su uso en combinación con una cantidad eficaz de ribavirina.
29. El uso de la reivindicación 24 o 25, en el que el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) administrado a un intervalo de dosificación de cada 8 días a cada 14 días.
30. El uso de la reivindicación 24 o 25, en el que el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) administrado a un intervalo de dosificación de una vez cada 7 días.
- 35 31. El uso de la reivindicación 24 o 25, en el que el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$  de consenso INFERGEN.
32. El uso de la reivindicación 4, 6 o 7, en el que se administra al individuo una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 o una composición de la reivindicación 2 y se administra al individuo adicionalmente una cantidad eficaz de un agente seleccionado de 3'-azidotimidina, 2',3'-didesoxiinosina, 2',3'-didesoxicitidina, 2-,3'-dideshidro-2',3'-didesoxitimidina, combivir, abacavir, adefovir dipoxil, cidofovir y un inhibidor de inosina monofosfato deshidrogenasa.
- 40 33. El uso de la reivindicación 4, 6, o 7, en el que el medicamento se fabrica para su uso en combinación con una cantidad eficaz de un agente seleccionado de 3'-azidotimidina, 2',3'-didesoxiinosina, 2',3'-didesoxicitidina, 2',3'-dideshidro-2',3'-didesoxitimidina, combivir, abacavir, adefovir dipoxil, cidofovir y un inhibidor de inosina monofosfato deshidrogenasa.
- 45 34. Un compuesto de la reivindicación 1 o una composición de la reivindicación 2 para tratar una infección por virus de hepatitis C en un individuo.
35. El compuesto de la reivindicación 34, en el que se logra una respuesta vírica sostenida en el individuo.
36. A compuesto of reivindicación 1 o una composición de la reivindicación 2 para tratar fibrosis hepática en un individuo.

37. Un compuesto de la reivindicación 1 o una composición de la reivindicación 2 para aumentar la función hepática en un individuo que tiene una infección por virus de hepatitis C.
38. El compuesto de la reivindicación 34, 36 o 37, para su uso en combinación con una cantidad eficaz de un análogo de nucleósido.
- 5 39. El compuesto de la reivindicación 38, en el que el análogo de nucleósido se selecciona de ribavirina, levovirina, viramidina, un L-nucleósido e isatoribina.
40. El compuesto de la reivindicación 38, en el que el análogo de nucleósido es ribavirina.
41. El compuesto de la reivindicación 34, 36 o 37, para su uso en combinación con pirfenidona o un análogo de pirfenidona administrado por vía oral al día en una cantidad de 400 mg a 3600 mg.
- 10 42. El compuesto de la reivindicación 34, 36 o 37, para su uso en combinación con una cantidad eficaz de un inhibidor de ARN polimerasa dependiente de ARN de NS5B.
43. El compuesto de la reivindicación 34, 36 o 37, para su uso en combinación con una cantidad eficaz de un antagonista del factor de necrosis tumoral seleccionado del grupo que consiste en etanercept, infliximab y adalimumab.
- 15 44. El compuesto de la reivindicación 34, 36 o 37, para su uso en combinación con una cantidad eficaz de timosina- $\alpha$ .
45. El compuesto de la reivindicación 44, en el que la timosina- $\alpha$  se administra por vía subcutánea dos veces a la semana en una cantidad de 1,0 mg a 1,6 mg.
- 20 46. El compuesto de la reivindicación 34, 36 o 37, para su uso en combinación con una cantidad eficaz de interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ).
47. El compuesto de la reivindicación 46, en el que el IFN- $\gamma$  se administra por vía subcutánea en una cantidad de 10  $\mu$ g a 300  $\mu$ g.
48. El compuesto de la reivindicación 34, 36 o 37, para su uso en combinación con una cantidad eficaz de interferón-alfa (IFN- $\alpha$ ).
- 25 49. El compuesto de la reivindicación 48, en el que el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$ 2a PEGilado.
50. El compuesto de la reivindicación 49, para su uso en una combinación adicional de una cantidad eficaz de ribavirina.
51. El compuesto de la reivindicación 48, en el que el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) administrado a un intervalo de dosificación de cada 8 días a cada 14 días.
- 30 52. El compuesto de la reivindicación 48, en el que el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$  de consenso monoPEGilado (30 kD, lineal) administrada a un intervalo de dosificación de una vez cada 7 días.
53. El compuesto de la reivindicación 48, en el que el IFN- $\alpha$  es IFN- $\alpha$  de consenso INFERGEN.
- 35 54. El compuesto de la reivindicación 34, 36 o 37, para su uso en combinación con una cantidad eficaz de un agente seleccionado de 3'-azidotimidina, 2',3'-didesoxiinosina, 2',3'-didesoxicitidina, 2,3-dideshidro-2',3'-didesoxitimidina, combivir, abacavir, adefovir dipoxil, cidofovir y un inhibidor de inosina monofosfato deshidrogenasa.