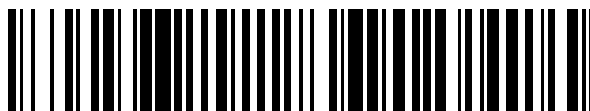


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 401 661**

51 Int. Cl.:

C07D 403/12 (2006.01)

C07K 5/06 (2006.01)

C07K 5/10 (2006.01)

A61K 31/501 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.08.2006 E 06800633 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.01.2013 EP 1910341**

54 Título: **Inhibidores de serina proteasas**

30 Prioridad:

02.08.2005 US 704772 P

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

23.04.2013

73 Titular/es:

**VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED
(100.0%)**

**130 WAVERLY STREET
CAMBRIDGE, MA 02139-4242, US**

72 Inventor/es:

**LYONS, STEVE y
PERNI, ROBERT, B.**

74 Agente/Representante:

VEIGA SERRANO, Mikel

ES 2 401 661 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

Inhibidores de serina proteasas

5 **Sector de la técnica**

La presente invención se refiere a compuestos que inhiben la actividad serina proteasa, particularmente la actividad de la proteasa NS3-NS4A del virus de la hepatitis C. Como tales, actúan interfiriendo con el ciclo de vida del virus de la hepatitis C y son útiles como agentes antivirales. La invención se refiere además a composiciones que comprenden estos compuestos o bien para su uso *ex vivo* o bien para la administración a un paciente que padece infección por VHC. La invención también se refiere al uso de una composición que comprende un compuesto de esta invención en métodos de tratamiento de una infección por VHC en un paciente.

15 **Estado de la técnica**

La infección por el virus de la hepatitis C ("VHC") es un apremiante problema médico humano. El VHC se reconoce como el agente causal de la mayoría de los casos de hepatitis no A no B, con una prevalencia estimada en seres humanos del 3% globalmente [A. Alberti *et al.*, "Natural History of Hepatitis C," J. Hepatology, 31., (Supl. 1), págs. 17-24 (1999)]. Casi cuatro millones de individuos pueden resultar afectados sólo en los Estados Unidos [M.J. Alter *et al.*, "The Epidemiology of Viral Hepatitis in the United States, Gastroenterol. Clin. North Am., 23, págs. 437-455 (1994); M. J. Alter "Hepatitis C Virus Infection in the United States," J. Hepatology, 31., (Supl. 1), págs. 88-91 (1999)].

Con la primera exposición al VHC sólo aproximadamente el 20% de los individuos infectados desarrollan hepatitis clínica aguda, mientras que otros parecen resolver la infección espontáneamente. En casi el 70% de los casos, sin embargo, el virus establece una infección crónica que persiste durante décadas [S. Iwarson, "The Natural Course of Chronic Hepatitis," FEMS Microbiology Reviews, 14, págs. 201-204 (1994); D. Lavanchy, "Global Surveillance and Control of Hepatitis C," J. Viral Hepatitis, 6, págs. 35-47 (1999)]. Esto da como resultado habitualmente inflamación hepática recurrente y que empeora progresivamente, que a menudo conduce a estados patológicos más graves tales como cirrosis y carcinoma hepatocelular [M.C. Kew, "Hepatitis C and Hepatocellular Carcinoma", FEMS Microbiology Reviews, 14, págs. 211-220 (1994); I. Saito *et al.*, "Hepatitis C Virus Infection is Associated with the Development of Hepatocellular Carcinoma," Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, págs. 6547-6549 (1990)]. Desgraciadamente, no hay tratamientos ampliamente eficaces para la progresión debilitante del VHC crónico.

El genoma del VHC codifica para una poliproteína de 3010-3033 aminoácidos [Q.L. Choo, *et al.*, "Genetic Organization and Diversity of the Hepatitis C Virus." Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, págs. 2451-2455 (1991); N. Kato *et al.*, "Molecular Cloning of the Human Hepatitis C Virus Genome From Japanese Patients with Non-A, Non-B Hepatitis," Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, págs. 9524-9528 (1990); A. Takamizawa *et al.*, "Structure and Organization of the Hepatitis C Virus Genome Isolated From Human Carriers," J. Virol., 65, págs. 1105-1113 (1991)]. Se supone que las proteínas no estructurales (NS) del VHC proporcionan la maquinaria catalítica esencial para la replicación viral. Las proteínas NS se derivan mediante escisión proteolítica de la poliproteína [R. Bartenschlager *et al.*, "Nonstructural Protein 3 of the Hepatitis C Virus Encodes a Serine-Type Proteinase Required for Cleavage at the NS3/4 y NS4/5 Junctions," J. Virol., 67, págs. 3835-3844 (1993); A. Grakoui *et al.*, "Characterization of the Hepatitis C Virus-Encoded Serine Proteinase: Determination of Proteinase-Dependent Polyprotein Cleavage Sites," J. Virol., 67, págs. 2832-2843 (1993); A. Grakoui *et al.*, "Expression and Identification of Hepatitis C Virus Polyprotein Cleavage Products," J. Virol., 67, págs. 1385-1395 (1993); L. Tomei *et al.*, "NS3 is a serine protease required for processing of hepatitis C virus polyprotein", J. Virol., 67, págs. 4017-4026 (1993)].

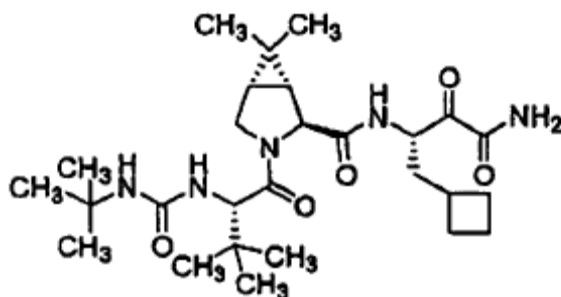
La proteína NS 3 (NS3) del VHC es esencial para la replicación y la infectividad virales [Kolykhalov, Journal of Virology, volumen 74, págs. 2046 -2051 2000 "Mutations at the VHC NS3 Serine Protease Catalytic Triad abolish infectivity of VHC RNA in Chimpanzees]. Se sabe que mutaciones en la proteasa NS3 del virus de la fiebre amarilla disminuyen la infectividad viral [Chambers, T.J. *et al.*, "Evidence that the N-terminal Domain of Nonstructural Protein NS3 From Yellow Fever Virus is a Serine Protease Responsible for Site-Specific Cleavages in the Viral Polyprotein", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, págs. 8898-8902 (1990)]. Se ha demostrado que los primeros 181 aminoácidos de NS3 (residuos 1027-1207 de la poliproteína viral) contienen el dominio de serina proteasa de NS3 que procesa los cuatro sitios en el sentido de 3' de la poliproteína del VHC [C. Lin *et al.*, "Hepatitis C Virus NS3 Serine Proteinase: Trans-Cleavage Requirements and Processing Kinetics", J. Virol., 68, págs. 8147-8157 (1994)].

La serina proteasa NS3 del VHC y su cofactor asociado, NS4A, ayuda a procesar todas las enzimas virales y por tanto se considera esencial para la replicación viral. Este procesamiento parece ser análogo al llevado a cabo por la aspartil proteasa del virus de la inmunodeficiencia humana, que también está implicada en el procesamiento de enzimas virales. Los inhibidores de proteasa del VIH, que inhiben el procesamiento de proteínas virales, son potentes agentes antivirales en el hombre, lo que indica que interrumpir esta fase del ciclo de vida viral da como resultado agentes terapéuticamente activos. En consecuencia, la serina proteasa NS3 del VHC es también una diana atractiva para el descubrimiento de fármacos.

65

Hasta hace poco, la única terapia establecida para la enfermedad por VHC era el tratamiento con interferón. Sin embargo, los interferones tienen efectos secundarios significativos [M. A. Walker *et al.*, "Hepatitis C Virus C: An Overview of Current Approaches and Progress," DDT, 4, págs. 518-29 (1999); D. Moradpour *et al.*, "Current and Evolving Therapies for Hepatitis C," Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., 11, págs. 1199-1202 (1999); H. L. A. Janssen *et al.* "Suicide Associated with Alfa-Interferon Therapy for Chronic Viral Hepatitis," J. Hepatol., 21, págs. 241-243 (1994); P.F. Renault *et al.*, "Side Effects of Alpha Interferon," Seminars in Liver Disease, 9, págs. 273-277. (1989)] e inducen la remisión a largo plazo en sólo una parte ($\approx 25\%$) de los casos [O. Weiland, "Interferon Therapy in Chronic Hepatitis C virus Infección", FEMS Microbiol. Rev., 14, págs. 279-288 (1994)]. Introducciones recientes de las formas pegiladas de interferón (PEG-INTRON® y PEGASUS®) y la terapia de combinación de ribavirina e interferón (REBETROL®) han dado como resultado sólo mejoras moderadas en las tasas de remisión y sólo reducciones parciales en los efectos secundarios. Además, las perspectivas de vacunas anti-VHC eficaces siguen siendo inciertas.

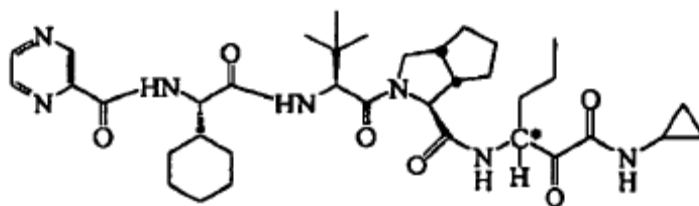
Por tanto, se necesitan terapias anti-VHC más eficaces. Tales inhibidores tendrían un potencial terapéutico como inhibidores de proteasa, particularmente como inhibidores de serina proteasa, y más particularmente como inhibidores de proteasa NS3 del VHC. Específicamente, tales compuestos pueden ser útiles como agentes antivirales, particularmente como agentes anti-VHC. El documento WO 96/11697 A describe derivados de ciclohexilamina 4-sustituídos que son inhibidores del sitio catalítico de trombina y que son útiles como anticoagulantes. Estos compuestos muestran selectividad por trombina sobre otras enzimas de tipo tripsina y tienen biodisponibilidad oral. El documento WO 02/18369 A2 describe compuestos peptidomiméticos útiles como inhibidores de proteasa, particularmente como inhibidores de serina proteasa y más particularmente como inhibidores de la proteasa NS3 de la hepatitis C. El documento WO 02/08244 A2 describe péptidos como inhibidores de la serina proteasa NS3 del virus de la hepatitis C. Los documentos WO 03/087092 A2, WO 2005/035525 y WO 2005/007681 A2 describen compuestos que inhiben la actividad serina proteasa, particularmente la actividad de la proteasa NS3-NS4A del virus de la hepatitis C. HAN W *ET AL*, BIOORGANIC & MEDICAL CHEMISTRY LETTERS, OXFORD, GB, vol. 10, n.º 8 de abril de 2000, páginas 711-713, describe alfa-cetoamidas, alfa-cetoésteres y alfa-dicetonas como inhibidores de la proteasa NS3 del VHC. PERNI R B *ET AL*, BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, OXFORD, GB, vol. 14, n.º 6. 2004, páginas 1441-1446, describe inhibidores de la proteasa NS3 4A del virus de la hepatitis C. YIP Y *ET AL*, BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, OXFORD, GB, vol. 14, n.º 19, 4 de octubre de 2004, páginas 5007-5011, describe la optimización por P4 y P1 de tetrapeptidil alfa-cetoamidas que portan bicicloprolina P2 como inhibidores de proteasa del VHC. El documento WO 2005/042570 A1 identifica mutantes de la proteasa NS3/4A del VHC que son resistentes al tratamiento farmacológico. El documento WO 2005/107745 A describe el compuesto de la siguiente fórmula:



como inhibidor de la proteasa del VHC. FARMER *ET AL*, LETTERS IN DRUG DESIGN AND DISCOVERY, BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS, US, vol. 2, n.º. 7 de septiembre de 2005, páginas 497-502, describe inhibidores de la proteasa NS3. BUL. 4A del virus de la hepatitis C.

Objeto de la invención

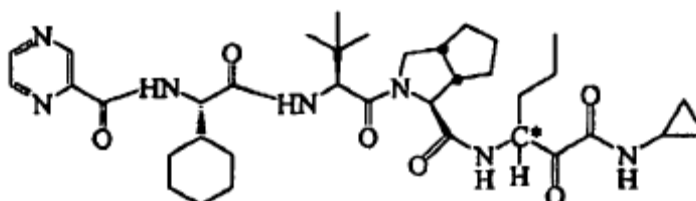
Esta invención se refiere a una mezcla de compuestos diastereoméricos, que comprende:



o una sal farmacéuticamente aceptable o mezclas de los mismos, en la que C* representa una mezcla de los isómeros R y S; y el isómero R es más del 50% de la mezcla en relación con el isómero S en la posición C*.

En otro aspecto, la invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que incluyen los compuestos anteriores y usos de los mismos. Tales composiciones pueden usarse para pretratar dispositivos que van a insertarse en un paciente, para tratar muestras biológicas y para la administración directa a un paciente. En cada caso, la composición se usará para disminuir el riesgo o la gravedad de la infección por VHC.

Ventajosamente, las mezclas de compuestos diastereoméricos que comprenden una mezcla de compuestos diastereoméricos:



en la que el isómero *R* en la posición C* está presente en una cantidad de más del 50%, de manera inesperada tienen sustancialmente más biodisponibilidad que mezclas en las que el isómero *S* en la posición C* está presente en una cantidad del 50% o mayor. De manera inesperada, el isómero *R* en la posición C* es aproximadamente 2 veces más biodisponible que el isómero *S* en la posición C*. Adicionalmente, el isómero *R* en la posición C* se convierte, *in vivo*, en el isómero *S* en la posición C* en un porcentaje superior que el isómero *S* se convierte, *in vivo*, en el isómero *R* en la posición C*. Estas propiedades potencian la eficacia terapéutica de los compuestos de fórmula I con más del 50% de isómero *R* en la posición C* como inhibidores de la actividad serina proteasa, tal como inhibiendo la actividad de la proteasa NS3-NS4A del virus de la hepatitis C.

La alta biodisponibilidad y las propiedades de conversión favorables del isómero en la posición C* ofrecen eficacia terapéutica potenciada en compuestos de la presente invención, tales como (1*S*,3*aR*,6*aS*)-2-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-ciclohexil-1-oxo-2-[(pirazinilcarbonil)amino]etil]amino]-3,3-dimetil-1-oxobutil]-N-[(1*R*)-1-[2-(ciclopropilamino)-1,2-dioxoetil] butil]octahidro-ciclopenta[*c*]pirrol-1-carboxamida, en comparación con compuestos con el 50% o más de isómero *S* en la posición C*.

Descripción detallada de las figuras

Las figuras 1A-B son representaciones gráficas de las concentraciones plasmáticas medias (\pm DE) de un compuesto de fórmula (I) con más del 50% de isómero *R* en la posición C* y un compuesto con el 50% o menos de isómero *R* en la posición C* frente al tiempo tras la administración oral del compuesto.

Las figuras 2A-B son representaciones gráficas de las concentraciones plasmáticas medias (\pm DE) de un compuesto de fórmula (I) con más del 50% de isómero *R* en la posición C* y un compuesto con el 50% o menos de isómero *R* en la posición C* frente al tiempo tras la administración oral del compuesto.

Las figuras 3A-B son representaciones gráficas de las concentraciones plasmáticas medias (\pm DE) de un compuesto de fórmula (1) con más del 50% de isómero *R* en la posición C* y un compuesto con el 50% o menos de isómero *R* en la posición C* frente al tiempo tras la administración oral del compuesto.

Descripción detallada de la invención

I. DEFINICIONES

Para los fines de esta invención, los elementos químicos se identifican según la Tabla Periódica de los elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75^a Ed. Adicionalmente, los principios generales de química orgánica se describen en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, y "March's Advanced Organic Chemistry", 5^a Ed., Ed.: Smith, M.B. y March, J., John Wiley & Sons, Nueva York: 2001.

Tal como se describe en el presente documento, los compuestos pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes, tal como se ilustró en general anteriormente, o tal como se ejemplifica mediante clases, subclases y especies particulares de la invención.

Tal como se usa en el presente documento el término "radical alifático" engloba los términos alquilo, alquenilo, alquinilo, estando cada uno de ellos opcionalmente sustituido tal como se expone a continuación.

Tal como se usa en el presente documento, un grupo "alquilo" se refiere a un grupo a un grupo hidrocarbonado alifático saturado que contiene 1-8 (por ejemplo, 1-6 ó 1-4) átomos de carbono. Un grupo alquilo puede ser lineal o

ramificado. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, n-pentilo, n-heptilo o 2-etilhexilo. Un grupo alquilo puede estar sustituido (es decir, opcionalmente sustituido) con uno o más sustituyentes tales como halo, radical cicloalifático [por ejemplo, cicloalquilo o cicloalquenilo], radical heterocicloalifático [por ejemplo, heterocicloalquilo o heterocicloalquenilo], arilo, heteroarilo, alcoxilo, aroilo, heteroaróilo, acilo [por ejemplo, (radical alifático)carbonilo, (radical cicloalifático)carbonilo o (radical heterocicloalifático)carbonilo], nitro, ciano, amido [por ejemplo, (cicloalquilalquil)carbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, (heterocicloalquil)carbonilamino, (heterocicloalquilalquil)carbonilamino, heteroarilcarbonilamino, heteroaralquilcarbonilamino, alquilaminocarbonilo, cicloalquilaminocarbonilo, heterocicloalquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo o heteroarilaminocarbonilo], amino [por ejemplo, radical alifático-amino, radical cicloalifático-amino o radical heterocicloalifático-amino], sulfonilo [por ejemplo, radical alifático-SO₂-], sulfinilo, sulfanilo, sulfoxilo, urea, tiourea, sulfamoilo, sulfamida, oxo, carboxilo, carbamoilo, radical cicloalifático-oxilo, radical heterocicloalifático-oxilo, ariloxilo, heteroariloxilo, aralquioxilo, heteroarilalcoxilo, alcoxicarbonilo, alquilcarboniloxilo o hidroxilo. Sin limitación, algunos ejemplos de alquilos sustituidos incluyen carboxialquilo (tal como HOOC-alquilo, alcoxicarbonilalquilo y alquilcarboniloxialquilo), cianoalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, acilalquilo, aralquilo, (alcoxiaril)alquilo, (sulfonilamino)alquilo (tal como (alquil-SO₂-amino) alquilo), aminoalquilo, amidoalquilo, (radical cicloalifático)alquilo o haloalquilo.

Tal como se usa en el presente documento, un grupo "alquenilo" se refiere a un grupo carbonado alifático que contiene 2-8 (por ejemplo, 2-6 ó 2-4) átomos de carbono y al menos un doble enlace. Al igual que un grupo alquilo, un grupo alquenilo puede ser lineal o ramificado. Los ejemplos de un grupo alquenilo incluyen, pero no se limitan a, alilo, isoprenilo, 2-butenilo y 2-hexenilo. Un grupo alquenilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes tales como halo, radical cicloalifático [por ejemplo, cicloalquilo o cicloalquenilo], radical heterocicloalifático [por ejemplo, heterocicloalquilo o heterocicloalquenilo], arilo, heteroarilo, alcoxilo, aroilo, heteroaróilo, acilo [por ejemplo, (radical alifático)carbonilo, (radical cicloalifático)carbonilo o (radical heterocicloalifático)carbonilo], nitro, ciano, amido [por ejemplo, (cicloalquilalquil)carbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, (heterocicloalquil)carbonilamino, (heterocicloalquilalquil)carbonilamino, heteroarilcarbonilamino, heteroaralquilcarbonilamino, alquilaminocarbonilo, cicloalquilaminocarbonilo, heterocicloalquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo o heteroarilaminocarbonilo], amino [por ejemplo, radical alifático-amino, radical cicloalifático-amino, radical heterocicloalifático-amino o radical alifático-sulfonilamino], sulfonilo [por ejemplo, alquil-SO₂-, radical cicloalifático-SO₂- o aril-SO₂-], sulfinilo, sulfanilo, sulfoxilo, urea, tiourea, sulfamoilo, sulfamida, oxo, carboxilo, carbamoilo, radical cicloalifático-oxilo, radical heterocicloalifático-oxilo, ariloxilo, heteroariloxilo, aralquioxilo, heteroaralcoxilo, alcoxicarbonilo, alquilcarboniloxilo o hidroxilo. Sin limitación, algunos ejemplos de alquenos sustituidos incluyen cianoalquenilo, alcoxialquenilo, acilalquenilo, hidroxialquenilo, aralquenilo, (alcoxiaril)alquenilo, (sulfonilamino)alquenilo (tal como (alquil-SO₂-amino)alquenilo), aminoalquenilo, amidoalquenilo, (radical cicloalifático) alquenilo o haloalquenilo.

Tal como se usa en el presente documento, un grupo "alquinilo" se refiere a un grupo carbonado alifático que contiene 2-8 (por ejemplo, 2-6 ó 2-4) átomos de carbono y tiene al menos un triple enlace. Un grupo alquinilo puede ser lineal o ramificado. Los ejemplos de un grupo alquinilo incluyen, pero no se limitan a, propargilo y butinilo. Un grupo alquinilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes tales como aroilo, heteroaróilo, alcoxilo, cicloalquiloxilo, heterocicloalquiloxilo, ariloxilo, heteroariloxilo, aralquioxilo, nitro, carboxilo, ciano, halo, hidroxilo, sulfo, mercapto, sulfanilo [por ejemplo, radical alifático-sulfanilo o radical cicloalifático-sulfanilo], sulfinilo [por ejemplo, radical alifático-sulfinilo o radical cicloalifático-sulfinilo], sulfonilo [por ejemplo, radical alifático-SO₂-, radical alifático-amino-SO₂- o radical cicloalifático-SO₂-], amido [por ejemplo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, alquilcarbonilamino, cicloalquilaminocarbonilo, heterocicloalquilaminocarbonilo, cicloalquilcarbonilamino, arilaminocarbonilo, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, (heterocicloalquil)carbonilamino, (cicloalquilalquil)carbonilamino, heteroaralquilcarbonilamino, heteroarilcarbonilamino o heteroarilaminocarbonilo], urea, tiourea, sulfamoilo, sulfamida, alcoxicarbonilo, alquilcarboniloxilo, radical cicloalifático, radical heterocicloalifático, arilo, heteroarilo, acilo [por ejemplo, (radical cicloalifático)carbonilo o (radical heterocicloalifático)carbonilo], amino [por ejemplo, radical alifático-amino], sulfoxilo, oxo, carboxilo, carbamoilo, (radical cicloalifático)oxilo, (radical heterocicloalifático)oxilo o (heteroaril)alcoxilo.

Tal como se usa en el presente documento, un "amido" engloba tanto "aminocarbonilo" como "carbonilamino". Estos términos cuando se usan solos o conjuntamente con otro grupo, se refieren a un grupo amido tal como -N(R^X)-C(O)-R^Y o -C(O)-N(R^X)₂, cuando se usa de manera terminal y -C(O)-N(R^X)- o -N(R^X)-C(O)- cuando se usa de manera interna, en las que R^X y R^Y se definen a continuación. Los ejemplos de grupos amido incluyen alquilamido (tal como alquilcarbonilamino o alquilaminocarbonilo), (radical heterocicloalifático)amido, (heteroaralquil)amido, (heteroaril)amido, (heterocicloalquil)alquilamido, arilamido, aralquilamido, (cicloalquil)alquilamido o cicloalquilamido.

Tal como se usa en el presente documento, un grupo "amino" se refiere a -NR^XR^Y en la que cada uno de R^X y R^Y es independientemente hidrógeno, radical alifático, radical cicloalifático, (radical cicloalifático)radical alifático, arilo, radical aralifático, radical heterocicloalifático, (radical heterocicloalifático)radical alifático, heteroarilo, carboxilo, sulfanilo, sulfinilo, sulfonilo, (radical alifático)carbonilo, (radical cicloalifático)carbonilo, ((radical cicloalifático)radical alifático)carbonilo, arilcarbonilo, (radical aralifático)carbonilo, (radical heterocicloalifático)carbonilo, ((radical heterocicloalifático)radical alifático)carbonilo, (heteroaril)carbonilo o (radical heteroaralifático)carbonilo, definiéndose cada uno de ellos en el presente documento y estando opcionalmente sustituido. Los ejemplos de grupos amino

incluyen alquilamino, dialquilamino o arilamino. Cuando el término “amino” no es el grupo terminal (por ejemplo, alquilcarbonilamino), se representa por $-NR^X-R^X$ tiene el mismo significado que se definió anteriormente.

5 Tal como se usa en el presente documento, un grupo “arilo” usado solo o como parte de un resto más grande como en “aralquilo”, “aralcoxilo”, o “ariloxialquilo” se refiere a sistemas de anillos monocíclico (por ejemplo, fenilo); bicíclico (por ejemplo, indenilo, naftalenilo, tetrahidronaftilo, tetrahidroindenilo); y tricíclico (por ejemplo, fluorenilo, tetrahydrofluorenilo o tetrahydroantracenilo, antracenilo) en los que el sistema de anillos monocíclico es aromático o al menos uno de los anillos en un sistema de anillos bicíclico o tricíclico es aromático. Los grupos bicíclico y tricíclico incluyen anillos carbocíclicos benzocondensados de 2-3 miembros. Por ejemplo, un grupo benzocondensado incluye fenilo condensado con dos o más restos carbocíclicos C_{4-8} . Un arilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes incluyendo radical alifático [por ejemplo, alquilo, alquenilo o alquinilo]; radical cicloalifático; (radical cicloalifático)radical alifático; radical heterocicloalifático; (radical heterocicloalifático)radical alifático; arilo; heteroarilo; alcoxilo; (radical cicloalifático)oxilo; (radical heterocicloalifático)oxilo; ariloxilo; heteroariloxilo; (radical aralifático)oxilo; (radical heteroaralifático)oxilo; aroílo; heteroaróilo; amino; oxo (en un anillo carbocíclico no aromático de un arilo bicíclico o tricíclico benzocondensado); nitro; carboxilo; amido; acilo [por ejemplo, radical alifático-carbonilo; (radical cicloalifático)carbonilo; ((radical cicloalifático)radical alifático)carbonilo; (radical aralifático)carbonilo; (radical heterocicloalifático)carbonilo; ((radical heterocicloalifático)radical alifático)carbonilo; o (radical heteroaralifático)carbonilo]; sulfonilo [por ejemplo, radical alifático-SO₂- o amino-SO₂-]; sulfínilo [por ejemplo, radical alifático-S(O)- o radical cicloalifático-S(O)-]; sulfanilo [por ejemplo, radical alifático-S-]; ciano; halo; hidroxilo; mercapto; sulfoxilo; urea; tiourea; sulfamoílo; sulfamida; o carbamoílo. Alternativamente, un arilo puede estar no sustituido.

25 Los ejemplos no limitativos de arilos sustituidos incluyen haloarilo [por ejemplo, mono-, di (tal como p,m-dihaloarilo) y (trihalo)arilo]; (carboxi)arilo [por ejemplo, (alcoxycarbonil)arilo, ((aralquil)carboniloxi)arilo y (alcoxycarbonil)arilo]; (amido)arilo [por ejemplo, (aminocarbonil)arilo, (((alquilamino)alquil)aminocarbonil)arilo, (alquilcarbonil)aminoarilo, (arilaminocarbonil)arilo y ((heteroaril)amino)carbonil)arilo]; aminoarilo [por ejemplo, ((alquilsulfonil)amino)arilo o ((dialquil)amino)arilo]; (cianoalquil)arilo; (alcoxi)arilo; (sulfamoílo)arilo [por ejemplo, (aminosulfonil)arilo]; (alquilsulfonil)arilo; (ciano)arilo; (hidroxialquil)arilo; ((alcoxi)alquil)arilo; (hidroxi)arilo, ((carboxi)alquil)arilo; (((dialquil)amino)alquil)arilo; (nitroalquil)arilo; (((alquilsulfonil)amino)alquil)arilo; ((radical heterocicloalifático)carbonil)arilo; ((alquilsulfonil)alquil)arilo; (cianoalquil)arilo; (hidroxialquil)arilo; (alquilcarbonil)arilo; alquilarilo; (trihaloalquil)arilo; p-amino-m-alcoxycarbonilarilo; p-amino-m-cianoarilo; p-halo-m-aminoarilo; o (m-(radical heterocicloalifático)-o-(alquil))arilo.

35 Tal como se usa en el presente documento, un “radical aralifático” tal como un grupo “aralquilo” se refiere a un grupo alifático (por ejemplo, un grupo alquilo C1-4) que está sustituido con un grupo arilo. “Radical alifático,” “alquilo” y “arilo” se definen en el presente documento. Un ejemplo de un radical aralifático tal como un grupo aralquilo es bencilo.

40 Tal como se usa en el presente documento, un grupo “aralquilo” se refiere a un grupo alquilo (por ejemplo, un grupo alquilo C1-4) que está sustituido con un grupo arilo. Tanto “alquilo” como “arilo” se han definido anteriormente. Un ejemplo de un grupo aralquilo es bencilo. Un aralquilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes tales como radical alifático [por ejemplo, alquilo, alquenilo o alquinilo, incluyendo carboxialquilo, hidroxialquilo o haloalquilo tal como trifluorometilo], radical cicloalifático [por ejemplo, cicloalquilo o cicloalquenilo], (cicloalquil)alquilo, heterocicloalquilo, (heterocicloalquil)alquilo, arilo, heteroarilo, alcoxilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, ariloxilo, heteroariloxilo, aralquilo, heteroaralquilo, aroílo, heteroaróilo, nitro, carboxilo, alcoxycarbonilo, alquilcarboniloxilo, amido [por ejemplo, aminocarbonilo, alquilcarbonilamino, cicloalquilcarbonilamino, (cicloalquilalquil)carbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, (heterocicloalquil)carbonilamino, (heterocicloalquilalquil)carbonilamino, heteroarilcarbonilamino o heteroaralquilcarbonilamino], ciano, halo, hidroxilo, acilo, mercapto, alquilsulfanilo, sulfoxilo, urea, tiourea, sulfamoílo, sulfamida, oxo o carbamoílo.

50 Tal como se usa en el presente documento, un “sistema de anillos bicíclico” incluye estructuras de 8-12 (por ejemplo, 9, 10 u 11) miembros que forman dos anillos, en las que los dos anillos tienen al menos un átomo en común (por ejemplo, 2 átomos en común). Los sistemas de anillos bicíclicos incluyen radicales bicicloalifáticos (por ejemplo, bicicloalquilo o bicicloalquenilo), radicales bicicloheteroalifáticos, arilos bicíclicos y heteroarilos bicíclicos.

55 Tal como se usa en el presente documento, un grupo cicloalifático” engloba un grupo “cicloalquilo” y un grupo “cicloalquenilo”, estando cada uno de ellos opcionalmente sustituido tal como se expone a continuación. Tal como se usa en el presente documento, un grupo “cicloalquilo” se refiere a un anillo saturado carbocíclico mono o bicíclico (condensado o en puente) de 3-10 (por ejemplo, 5-10) átomos de carbono. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, adamantilo, norbornilo, cubilo, octahidroindenilo, decahidro-naftilo, biciclo[3.2.1]octilo, biciclo[2.2.2]octilo, biciclo[3.3.1]nonilo, biciclo[3.3.2]decilo, biciclo[2.2.2]octilo, adamantilo, azacicloalquilo o ((aminocarbonil)cicloalquil)cicloalquilo. Un grupo “cicloalquenilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un anillo carbocíclico no aromático de 3-10 (por ejemplo, 4-8) átomos de carbono que tiene uno o más dobles enlaces. Los ejemplos de grupos cicloalquenilo incluyen ciclohexenilo, 1,4-ciclohexa-di-enilo, cicloheptenilo, ciclooctenilo, hexahidro-indenilo, octahidro-naftilo, ciclohexenilo, ciclohexenilo, biciclo[2.2.2]octenilo o biciclo[3.3.1]nonenilo. Un grupo cicloalquilo o cicloalquenilo puede estar

opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes tales como radical alifático [por ejemplo, alquilo, alquenilo o alquinilo], radical cicloalifático, (radical cicloalifático) radical alifático, radical heterocicloalifático, (radical heterocicloalifático) radical alifático, arilo, heteroarilo, alcoxilo, (radical cicloalifático) oxilo, (radical heterocicloalifático) oxilo, ariloxilo, heteroariloxilo, (radical aralifático) oxilo, (radical heteroaralifático) oxilo, aroilo, heteroaróilo, amino, amido [por ejemplo, (radical alifático) carbonilamino, (radical cicloalifático) carbonilamino, ((radical cicloalifático) radical alifático) carbonilamino, (aril) carbonilamino, (radical aralifático) carbonilamino, (radical heterocicloalifático) carbonilamino, ((radical heterocicloalifático) radical alifático) carbonilamino, (heteroaril) carbonilamino o (radical heteroaralifático) carbonilamino], nitro; carboxilo [por ejemplo, HOOC-, alcóxicarbonilo o alquilcarboniloxilo], acilo [por ejemplo, (radical cicloalifático) carbonilo, ((radical cicloalifático) radical alifático) carbonilo, (radical aralifático) carbonilo, (radical heterocicloalifático) carbonilo, ((radical heterocicloalifático) radical alifático) carbonilo o (radical heteroaralifático) carbonilo], ciano, halo, hidroxilo, mercapto, sulfonilo [por ejemplo, alquil-SO₂- y aril-SO₂-], sulfínilo [por ejemplo, alquil-S(O)-], sulfanilo [por ejemplo, alquil-S-], sulfoxilo, urea, tiourea, sulfamoilo, sulfamida, oxo o carbamoilo.

Tal como se usa en el presente documento, "resto cíclico" incluye radical cicloalifático, radical heterocicloalifático, arilo o heteroarilo, habiéndose definido cada uno de ellos anteriormente.

Tal como se usa en el presente documento, el término "radical heterocicloalifático" engloba un grupo heterocicloalquilo y un grupo heterocicloalquenilo, estando cada uno de ellos opcionalmente sustituido tal como se expone a continuación.

Tal como se usa en el presente documento, un grupo "heterocicloalquilo" se refiere a una estructura de anillo saturado, de 3-10 miembros, mono o bicíclico (condensado o en puente) (por ejemplo, de 5 a 10 miembros, mono o bicíclico), en el que uno o más de los átomos del anillo es un heteroátomo (por ejemplo, N, O, S, o combinaciones de los mismos). Los ejemplos de un grupo heterocicloalquilo incluyen piperidilo, piperazilo, tetrahidropirano, tetrahidrofurilo, 1,4-dioxolanilo, 1,4-ditianilo, 1,3-dioxolanilo, oxazolidilo, isoxazolidilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, octahidrobenzofurilo, octahidrocromenilo, octahidrotiocromenilo, octahidroindolilo, octahidropiridinilo, decahidroquinolinilo, octahidrobenzo[b]tiofenilo, 2-oxa-biciclo[2.2.2]octilo, 1-aza-biciclo[2.2.2]octilo, 3-aza-biciclo[3.2.1]octilo, y 2,6-dioxa-triciclo[3.3.1.0^{3,7}]nonilo. Un grupo heterocicloalquilo monocíclico puede estar condensado con un resto de fenilo tal como tetrahidroisoquinolina. Un grupo "heterocicloalquenilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una estructura de anillo no aromático, mono o bicíclico (por ejemplo, de 5 a 10-miembros, mono o bicíclico) que tiene uno o más dobles enlaces, y en la que uno o más de los átomos del anillo es un heteroátomo (por ejemplo, N, O o S). Los radicales heteroalifáticos monocíclicos y bicíclicos se numeran según la nomenclatura química estándar.

Un grupo heterocicloalquilo o heterocicloalquenilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes tales como radical alifático [por ejemplo, alquilo, alquenilo o alquinilo], radical cicloalifático, (radical cicloalifático) radical alifático, radical heterocicloalifático, (radical heterocicloalifático) radical alifático, arilo, heteroarilo, alcoxilo, (radical cicloalifático) oxilo, (radical heterocicloalifático) oxilo, ariloxilo, heteroariloxilo, (radical aralifático) oxilo, (radical heteroaralifático) oxilo, aroilo, heteroaróilo, amino, amido [por ejemplo, (radical alifático) carbonilamino, (radical cicloalifático) carbonilamino, ((radical cicloalifático) radical alifático) carbonilamino, (aril) carbonilamino, (radical aralifático) carbonilamino, (radical heterocicloalifático) carbonilamino, ((radical heterocicloalifático) radical alifático) carbonilamino, (heteroaril) carbonilamino o (radical heteroaralifático) carbonilamino], nitro, carboxilo [por ejemplo, HOOC-, alcóxicarbonilo o alquilcarboniloxilo], acilo [por ejemplo, (radical cicloalifático) carbonilo, ((radical cicloalifático) radical alifático) carbonilo, (radical aralifático) carbonilo, (radical heterocicloalifático) carbonilo, ((radical heterocicloalifático) radical alifático) carbonilo o (radical heteroaralifático) carbonilo], nitro, ciano, halo, hidroxilo, mercapto, sulfonilo [por ejemplo, alquilsulfonilo o arilsulfonilo], sulfínilo [por ejemplo, alquilsulfínilo], sulfanilo [por ejemplo, alquilsulfanilo], sulfoxilo, urea, tiourea, sulfamoilo, sulfamida, oxo o carbamoilo.

Un grupo "heteroarilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un sistema de anillos monocíclico, bicíclico o tricíclico que tiene de 4 a 15 átomos en el anillo en el que uno o más de los átomos del anillo es un heteroátomo (por ejemplo, N, O, S, o combinaciones de los mismos) y en el que el sistema de anillos monocíclico es aromático o al menos uno de los anillos en los sistemas de anillos bicíclico o tricíclico es aromático. Un grupo heteroarilo incluye un sistema de anillos benzocondensado que tiene de 2 a 3 anillos. Por ejemplo, un grupo benzocondensado incluye benzocondensado con uno o dos restos heterocicloalifáticos de 4 a 8 miembros (por ejemplo, indolizilo, indolilo, isoindolilo, 3H-indolilo, indolinilo, benzo[b]furilo, benzo[b]tiofenilo, quinolinilo o isoquinolinilo). Algunos ejemplos de heteroarilo son azetidínilo, piridilo, 1H-indazolilo, furilo, pirrolilo, tienilo, tiazolilo, oxazolilo, imidazolilo, tetrazolilo, benzofurilo, isoquinolinilo, benzotiazolilo, xanteno, tioxanteno, fenotiazina, dihidroindol, benzo[1,3]dioxol, benzo[b]furilo, benzo[b]tiofenilo, indazolilo, bencimidazolilo, benzotiazolilo, purilo, cinolilo, quinolilo, quinazolilo, cinolilo, ftalazilo, quinazolilo, quinoxalilo, isoquinolilo, 4H-quinolizilo, benzo-1,2,5-tiadiazolilo o 1,8-naftiridilo.

Sin limitación, los heteroarilos monocíclicos incluyen furilo, tiofenilo, 2H-pirrolilo, pirrolilo, oxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, 2H-pirano, 4-H-pirano, piridilo, piridazilo, pirimidilo, pirazolilo, pirazilo o 1,3,5-triazilo. Los heteroarilos monocíclicos se numeran según la nomenclatura química estándar.

Sin limitación, los heteroarilos bicíclicos incluyen indolizilo, indolilo, isoindolilo, 3H-indolilo, indolinilo, benzo[b]furilo, benzo[b]tiofenilo, quinolinilo, isoquinolinilo, indolizilo, isoindolilo, indolilo, benzo[b]furilo, bezo[b]tiofenilo, indazolilo, bencimidazilo, benzotiazolilo, purinilo, 4H-quinolizilo, quinolilo, isoquinolilo, cinolilo, ftalazilo, quinazolilo, quinoxalilo, 1,8-naftiridilo, o pteridilo. Los heteroarilos bicíclicos se numeran según la nomenclatura química estándar.

Un heteroarilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes tales como radical alifático [por ejemplo, alquilo, alquenilo o alquinilo]; radical cicloalifático; (radical cicloalifático)radical alifático; radical heterocicloalifático; (radical heterocicloalifático)radical alifático; arilo; heteroarilo; alcoxilo; (radical cicloalifático)oxilo; (radical heterocicloalifático)oxilo; ariloxilo; heteroariloxilo; (radical aralifático)oxilo; (radical heteroaralifático)oxilo; aroílo; heteroaróilo; amino; oxo (en un anillo carbocíclico o heterocíclico no aromático de un heteroarilo bicíclico o tricíclico); carboxilo; amido; acilo [por ejemplo, radical alifático-carbonilo; (radical cicloalifático)carbonilo; ((radical cicloalifático)radical alifático)carbonilo; (radical aralifático)carbonilo; (radical heterocicloalifático)carbonilo; ((radical heterocicloalifático)radical alifático)carbonilo; o (radical heteroaralifático)carbonilo]; sulfonilo [por ejemplo, radical alifático-sulfonilo o aminosulfonilo]; sulfínilo [por ejemplo, radical alifático-sulfínilo]; sulfanilo [por ejemplo, radical alifático-sulfanilo]; nitro; ciano; halo; hidroxilo; mercapto; sulfoxilo; urea; tiourea; sulfamoílo; sulfamida; o carbamoílo. Alternativamente, un heteroarilo puede estar no sustituido.

Los ejemplos no limitativos de heteroarilos sustituidos incluyen (halo)heteroarilo [por ejemplo, mono y di(halo)heteroarilo]; (carboxi)heteroarilo [por ejemplo, (alcoxicarbonil)heteroarilo]; cianoheteroarilo; aminoheteroarilo [por ejemplo, ((alquilsulfonil)amino)heteroarilo y ((dialquil)amino)heteroarilo]; (amido)heteroarilo [por ejemplo, aminocarbonilheteroarilo, ((alquilcarbonil)amino)heteroarilo, (((alquil)amino)alquil)aminocarbonilheteroarilo, (((heteroaril)amino)carbonil)heteroarilo, ((radical heterocicloalifático)carbonil)heteroarilo y ((alquilcarbonil)amino)heteroarilo]; (cianoalquil)heteroarilo; (alcoxi)heteroarilo; (sulfamoíl)heteroarilo [por ejemplo, (aminosulfonil)heteroarilo]; (sulfonil)heteroarilo [por ejemplo, (alquilsulfonil)heteroarilo]; (hidroxialquil)heteroarilo; (alcoxialquil)heteroarilo; (hidroxi)heteroarilo; ((carboxi)alquil)heteroarilo; (((dialquil)amino)alquil)heteroarilo; (radical heterocicloalifático) heteroarilo; (radical cicloalifático)heteroarilo; (nitroalquil)heteroarilo; (((alquilsulfonil)amino)alquil)heteroarilo; ((alquilsulfonil) alquil)heteroarilo; (cianoalquil)heteroarilo; (acil)heteroarilo [por ejemplo, (alquilcarbonil)heteroarilo]; (alquil)heteroarilo, y (haloalquil)heteroarilo [por ejemplo, trihaloalquilheteroarilo].

Un "radical heteroaralifático (tal como un grupo heteroaralquilo) tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alifático (por ejemplo, un grupo alquilo C1-4) que está sustituido con un grupo heteroarilo. "Radical alifático," "alquilo" y "heteroarilo" se han definido anteriormente.

Un grupo "heteroaralquilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo (por ejemplo, un grupo alquilo C1-4) que está sustituido con un grupo heteroarilo. Tanto "alquilo" como "heteroarilo" se han definido anteriormente. Un heteroaralquilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes tales como alquilo (incluyendo carboxialquilo, hidroxialquilo y haloalquilo tal como trifluorometilo), alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterocicloalquilo, (heterocicloalquil)alquilo, arilo, heteroarilo, alcoxilo, cicloalquiloxilo, heterocicloalquiloxilo, ariloxilo, heteroariloxilo, aralquiloxilo, heteroaralquiloxilo, aroílo, heteroaróilo, nitro, carboxilo, alcoxicarbonilo, alquilcarboniloxilo, aminocarbonilo, alquilcarbonilamino, cicloalquilcarbonilamino, (cicloalquilalquil)carbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, (heterocicloalquil)carbonilamino, (heterocicloalquilalquil)carbonilamino, heteroarilcarbonilamino, heteroaralquilcarbonilamino, ciano, halo, hidroxilo, acilo, mercapto, alquilsulfanilo, sulfoxilo, urea, tiourea, sulfamoílo, sulfamida, oxo o carbamoílo.

Tal como se usa en el presente documento, un grupo "acilo" se refiere a un grupo formilo o $R^X-C(O)-$ (tal como alquil-C(O)-, también denominado "alquilcarbonilo") en la que R^X y "alquilo" se han definido anteriormente. Acetilo y pivaloílo son ejemplos de grupos acilo.

Tal como se usa en el presente documento, un "aroílo" o "heteroaróilo" se refiere a un aril-C(O)- o un heteroaril-C(O)-. La parte arilo y heteroarilo del aroílo o heteroaróilo está opcionalmente sustituida tal como se definió anteriormente.

Tal como se usa en el presente documento, un grupo "alcoxilo" se refiere a un grupo alquil-O- en el que "alquilo" se ha definido anteriormente.

Tal como se usa en el presente documento, un grupo "carbamoílo" se refiere a un grupo que tiene la estructura $-O-CO-NR^X R^Y$ o $-NR^X-CO-O-R^Z$ en la que R^X y R^Y se han definido anteriormente y R^Z puede ser radical alifático, arilo, radical aralifático, radical heterocicloalifático, heteroarilo o radical heteroaralifático.

Tal como se usa en el presente documento, un grupo "carboxilo" se refiere a $-COOH$, $-COOR^A$, $-OC(O)H$, $-OC(O)R^A$ cuando se usa como grupo terminal; o $-OC(O)-$ o $-C(O)O-$ cuando se usa como grupo interno.

Tal como se usa en el presente documento, un grupo "radical haloalifático" se refiere a un grupo alifático sustituido con 1-3 halógenos. Por ejemplo, el término haloalquilo incluye el grupo $-CF_3$.

- Tal como se usa en el presente documento, un grupo "mercapto" se refiere a -SH.
- 5 Tal como se usa en el presente documento, un grupo "sulfo" se refiere a $-\text{SO}_3\text{H}$ o $-\text{SO}_3\text{R}^x$ cuando se usa de manera terminal o $\text{S}(\text{O})_3^-$ cuando se usa de manera interna.
- 10 Tal como se usa en el presente documento, un grupo "sulfamida" se refiere a la estructura $-\text{NR}^x-\text{S}(\text{O})_2-\text{NR}^y\text{R}^z$ cuando se usa de manera terminal y $-\text{NR}^x-\text{S}(\text{O})_2-\text{R}^y$ cuando se usa de manera interna, en las que R^x , R^y y R^z se han definido anteriormente.
- 15 Tal como se usa en el presente documento, un grupo "sulfonamida" se refiere a la estructura $-\text{S}(\text{O})_2-\text{NR}^x\text{R}^y$ o $-\text{NR}^x-\text{S}(\text{O})_2-\text{R}^z$ cuando se usa de manera terminal; o $-\text{S}(\text{O})_2-\text{NR}^x-$ o $-\text{NR}^x-\text{S}(\text{O})_2-$ cuando se usa de manera interna, en las que R^x , R^y y R^z se definieron anteriormente.
- 20 Tal como se usa en el presente documento un grupo "sulfanilo" se refiere a $-\text{S}-\text{R}^x$ cuando se usa de manera terminal y $-\text{S}-$ cuando se usa de manera interna, en la que R^x se ha definido anteriormente. Ejemplos de sulfanilos incluyen radical alifático-S-, radical cicloalifático-S-, aril-S- o similares.
- 25 Tal como se usa en el presente documento un grupo "sulfinilo" se refiere a $-\text{S}(\text{O})-\text{R}^x$ cuando se usa de manera terminal y $-\text{S}(\text{O})-$ cuando se usa de manera interna, en la que R^x se ha definido anteriormente. Los grupos sulfinilo a modo de ejemplo incluyen radical alifático-S(O)-, aril-S(O)-, (radical cicloalifático(radical alifático)) -S(O)-, cicloalquil-S(O)-, radical heterocicloalifático-S(O)-, heteroaril-S(O)- o similares.
- 30 Tal como se usa en el presente documento, un grupo "sulfonilo" se refiere a $-\text{S}(\text{O})_2-\text{R}^x$ cuando se usa de manera terminal y $-\text{S}(\text{O})_2-$ cuando se usa de manera interna, en la que R^x se ha definido anteriormente. Los grupos sulfonilo a modo de ejemplo incluyen radical alifático-S(O)₂-, aril-S(O)₂-, (radical cicloalifático(radical alifático))-S(O)₂-, radical cicloalifático-S(O)₂-, radical heterocicloalifático-S(O)₂-, heteroaril-S(O)₂-, (radical cicloalifático(amido(radical alifático)))-S(O)₂-o similares.
- 35 Tal como se usa en el presente documento, un grupo "sulfoxilo" se refiere a $-\text{O}-\text{SO}-\text{R}^x$ o $-\text{SO}-\text{O}-\text{R}^x$, cuando se usa de manera terminal y $-\text{O}-\text{S}(\text{O})-$ o $-\text{S}(\text{O})-\text{O}-$ cuando se usa de manera interna, en las que R^x se ha definido anteriormente.
- 40 Tal como se usa en el presente documento, un grupo "halógeno" o "halo" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.
- 45 Tal como se usa en el presente documento, un "alcoxicarbonilo," que está englobado por el término carboxilo, usado solo o conjuntamente con otro grupo se refiere a un grupo tal como alquil-O-C(O)-.
- 50 Tal como se usa en el presente documento, un "alcoxialquilo" se refiere a un grupo alquilo tal como alquil-O-alquil-, en el que alquilo se ha definido anteriormente.
- 55 Tal como se usa en el presente documento, un "carbonilo" se refiere a -C(O)-.
- 60 Tal como se usa en el presente documento, un oxo" se refiere a =O.
- 65 Tal como se usa en el presente documento, un "aminoalquilo" se refiere a la estructura $(\text{R}^x)_2\text{N}-\text{alquil}-$.
- Tal como se usa en el presente documento, un "cianoalquilo" se refiere a la estructura $(\text{NC})-\text{alquil}-$.
- 50 Tal como se usa en el presente documento, un grupo "urea" se refiere a la estructura $-\text{NR}^x-\text{CO}-\text{NR}^y\text{R}^z$ y un grupo "tiourea" se refiere a la estructura $-\text{NR}^x-\text{CS}-\text{NR}^y\text{R}^z$ cuando se usa de manera terminal y $-\text{NR}^x-\text{CO}-\text{NR}^y-$ o $-\text{NR}^x-\text{CS}-\text{NR}^y-$ cuando se usa de manera interna, en las que R^x , R^y y R^z se han definido anteriormente.
- 55 Tal como se usa en el presente documento, un grupo "guanidina" se refiere a la estructura $-\text{N}=\text{C}(\text{N}(\text{R}^x\text{R}^y))\text{N}(\text{R}^x\text{R}^y)$ o $-\text{NR}^x-\text{C}(\text{N}(\text{R}^x)\text{NR}^x\text{R}^y)$, en las que R^x y R^y se han definido anteriormente.
- 60 Tal como se usa en el presente documento, el término grupo "amidino" se refiere a la estructura $-\text{C}(\text{NR}^x)\text{N}(\text{R}^x\text{R}^y)$ en la que R^x y R^y se han definido anteriormente.
- 60 En general, el término "vecinal" se refiere a la colocación de sustituyentes en un grupo que incluye dos o más átomos de carbono, estando unidos los sustituyentes a átomos de carbono adyacentes.
- 65 En general, el término "geminal" se refiere a la colocación de sustituyentes en un grupo que incluye dos o más átomos de carbono, estando unidos los sustituyentes al mismo átomo de carbono.

Los términos “de manera terminal” y “de manera interna” se refieren a la ubicación de un grupo dentro de un sustituyente. Un grupo es terminal cuando el grupo está presente en el extremo del sustituyente no unido adicionalmente al resto de la estructura química. Carboxialquilo, es decir, $R^XO(O)C$ -alquilo es un ejemplo de un grupo carboxilo usado de manera terminal. Un grupo es interno cuando el grupo está presente en el medio de un sustituyente con respecto al extremo del sustituyente unido al resto de la estructura química. Alquilarboxilo (por ejemplo, alquil-C(O)O- o alquil-OC(O)-) y alquilarboxiarilo (por ejemplo, alquil-C(O)O-aril- o alquil-O(CO)-aril-) son ejemplos de grupos carboxilo usados de manera interna.

Tal como se usa en el presente documento, “grupo cíclico” incluye sistemas de anillos mono, bi y tricíclico incluyendo radical cicloalifático, radical heterocicloalifático, arilo o heteroarilo, habiéndose definido cada uno de ellos anteriormente.

Tal como se usa en el presente documento, un “sistema de anillos bicíclico en puente” se refiere a un sistema de anillos heterocicloalifático bicíclico o a un sistema de anillos cicloalifático bicíclico en el que los anillos están en puente. Los ejemplos de sistemas de anillos bicíclico en puente incluyen, pero no se limitan a, adamantanilo, norbornanilo, biciclo[3.2.1]octilo, biciclo[2.2.2]octilo, biciclo[3.3.1]nonilo, biciclo[3.2.3]nonilo, 2-oxabiciclo[2.2.2]octilo, 1-azabiciclo[2.2.2]octilo, 3-azabiciclo[3.2.1]octilo y 2,6-dioxa-triciclo[3.3.1.03,7]nonilo. Un sistema de anillos bicíclico en puente puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes tales como alquilo (incluyendo carboxialquilo, hidroxialquilo y haloalquilo tal como trifluorometilo), alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterocicloalquilo, (heterocicloalquil)alquilo, arilo, heteroarilo, alcoxilo, cicloalquiloxilo, heterocicloalquiloxilo, ariloxilo, heteroariloxilo, aralquiloxilo, heteroaralquiloxilo, aroílo, heteroaróilo, nitro, carboxilo, alcocarbonilo, alquilcarboniloxilo, aminocarbonilo, alquilcarbonilamino, cicloalquilcarbonilamino, (cicloalquilalquil)carbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, (heterocicloalquil)carbonilamino, (heterocicloalquilalquil)carbonilamino, heteroarilcarbonilamino, heteroaralquilcarbonilamino, ciano, halo, hidroxilo, acilo, mercapto, alquilsulfanilo, sulfoxilo, urea, tiourea, sulfamoilo, sulfamida, oxo o carbamoilo.

Tal como se usa en el presente documento, una “cadena alifática” se refiere a un grupo alifático lineal o ramificado (por ejemplo, grupos alquilo, grupos alquenilo o grupos alquinilo). Una cadena alifática lineal tiene la estructura $-[CH_2]_v-$, en la que v es 1-6. Una cadena alifática ramificada es una cadena alifática lineal que está sustituida con uno o más grupos alifáticos. Una cadena alifática ramificada tiene la estructura $-[CHQ]_v-$ en la que Q es hidrógeno o un grupo alifático; sin embargo, Q será un grupo alifático en al menos un caso. El término cadena alifática incluye cadenas de alquilo, cadenas de alquenilo y cadenas de alquinilo, habiéndose definido anteriormente alquilo, alquenilo y alquinilo.

El término “sistema de anillos condensado tricíclico” se refiere a un sistema cicloalifático, radical heterocicloalifático, de arilo o de heteroarilo que contiene tres anillos, compartiendo cada anillo al menos dos átomos comunes con al menos otro anillo. Los ejemplos no limitativos de un sistema de anillos condensado tricíclico incluyen antraceno, xanteno, 1H-fenaleno, tetradecahidrofenantreno, acridina y fenotiazina.

El término “opcionalmente sustituido” se usa de manera intercambiable con la expresión “sustituido o no sustituido.” Tal como se describe en el presente documento, los compuestos pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes, tal como se ilustró en general anteriormente, o tal como se ejemplifica mediante clases, subclases y especies particulares de la invención. Tal como se describe en el presente documento, las variables en la fórmula I, por ejemplo, R_1 , R_2 y R_3 , y otras variables contenidas en la misma engloban grupos específicos, tales como alquilo y arilo. A menos que se indique otra cosa, cada uno de los grupos específicos para las variables R_1 , R_2 y R_3 , y otras variables contenidas en la misma pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes descritos en el presente documento. Cada sustituyente de un grupo específico está además opcionalmente sustituido con de una a tres de halo, ciano, oxo, alcoxilo, hidroxilo, amino, nitro, arilo, haloalquilo y alquilo. Por ejemplo, un grupo alquilo puede estar sustituido con alquilsulfanilo y el alquilsulfanilo puede estar opcionalmente sustituido con de uno a tres de halo, ciano, oxo, alcoxilo, hidroxilo, amino, nitro, arilo, haloalquilo y alquilo. Como ejemplo adicional, la parte de cicloalquilo de un (cicloalquil)carbonilamino puede estar opcionalmente sustituida con de uno a tres de halo, ciano, alcoxilo, hidroxilo, nitro, haloalquilo y alquilo. Cuando dos grupos alcoxilo se unen al mismo átomo o a átomos adyacentes, los dos grupos alcoxilo pueden formar un anillo junto con el/los átomo(s) a los que están unidos.

En general, el término “sustituido,” esté precedido o no por el término “opcionalmente”, se refiere a la sustitución de radicales de hidrógeno en una estructura dada con el radical de un sustituyente especificado. Sustituyentes específicos son los descritos anteriormente en las definiciones y más adelante en la descripción de compuestos y ejemplos de los mismos. A menos que se indique otra cosa, un grupo opcionalmente sustituido puede tener un sustituyente en cada posición sustituible del grupo, y cuando más de una posición en cualquier estructura dada puede estar sustituida con más de un sustituyente seleccionado de un grupo especificado, el sustituyente puede o bien ser el mismo o bien diferente en cada posición. Un sustituyente de anillo, tal como un heterocicloalquilo, puede unirse a otro anillo, tal como un cicloalquilo, para formar un sistema de anillos espiro-bicíclico, por ejemplo, ambos anillos comparten un átomo común. Tal como reconocerá un experto habitual en la técnica, las combinaciones de sustituyentes previstas por esta invención son aquellas combinaciones que dan como resultado la formación de compuestos estables o químicamente viables.

La expresión "estable o químicamente viable," tal como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que no se alteran sustancialmente cuando se someten a condiciones para permitir su producción, detección y preferiblemente su recuperación, purificación y uso para uno o más de los fines dados a conocer en el presente documento. En algunas realizaciones, un compuesto estable o un compuesto químicamente viable es uno que no se altera sustancialmente cuando se mantiene a una temperatura de 40°C o menos, en ausencia de humedad u otras condiciones químicamente reactivas, durante al menos una semana.

Tal como se usa en el presente documento, una cantidad eficaz se define como la cantidad requerida para conferir un efecto terapéutico en el paciente tratado y normalmente se determina basándose en la edad, el área superficial, el peso y el estado del paciente. La interrelación de dosificaciones para animales y seres humanos (basándose en miligramos por metro cuadrado de superficie corporal) se describe por Freireich *et al.*, Cancer Chemother. Rep., 50: 219 (1966). El área de superficie corporal puede determinarse aproximadamente a partir de la altura y el peso del paciente. Véase, por ejemplo, Scientific Tables, Geigy Pharmaceuticals, Ardsley, Nueva York, 537 (1970). Tal como se usa en el presente documento, "paciente" se refiere a un mamífero, incluyendo un ser humano.

A menos que se establezca lo contrario, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir todas las formas isoméricas (por ejemplo, enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales)) de la estructura; por ejemplo, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico, los isómeros de doble enlace (Z) y (E) y los isómeros conformacionales (Z) y (E). Por tanto, los isómeros estereoquímicos individuales, así como las mezclas enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales) de los presentes compuestos están dentro del alcance de la invención. A menos que se establezca lo contrario, todas las formas tautoméricas de los compuestos de la invención están dentro del alcance de la invención. Adicionalmente, a menos que se establezca lo contrario, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir compuestos que difieren sólo en presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que tienen las presentes estructuras excepto por la sustitución de hidrógeno por deuterio o tritio, o la sustitución de un carbono por carbono enriquecido en ¹³C o ¹⁴C están dentro del alcance de esta invención. Tales compuestos son útiles, por ejemplo, como herramientas analíticas o sondas en ensayos biológicos.

Un compuesto de la invención que es de naturaleza ácida (por ejemplo, que tiene un grupo carboxilo o hidroxilo fenólico) puede formar una sal farmacéuticamente aceptable tal como una sal de sodio, potasio, calcio u oro. Dentro del alcance de la invención están también las sales formadas con aminas farmacéuticamente aceptables tales como amoniaco, alquilaminas, hidroxialquilaminas y N-metilglucamina. Un compuesto de la invención puede tratarse con un ácido para formar sales de adición de ácido. Los ejemplos de tales ácidos incluyen ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido fosfórico, ácido p-bromofenil-sulfónico, ácido carbónico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido salicílico, ácido málico, ácido fumárico, ácido ascórbico, ácido maleico, ácido acético y otros ácidos minerales y orgánicos bien conocidos por los expertos en la técnica. Las sales de adición de ácido pueden prepararse tratando un compuesto de la invención en su forma de base libre con una cantidad suficiente de un ácido (por ejemplo, ácido clorhídrico) para producir una sal de adición de ácido (por ejemplo, una sal de clorhidrato). La sal de adición de ácido puede convertirse de nuevo en su forma de base libre tratando la sal con una disolución básica acuosa diluida adecuada (por ejemplo, hidróxido de sodio, bicarbonato de sodio, carbonato de potasio o amoniaco). Los compuestos de la invención también pueden estar, por ejemplo, en forma de compuestos aquirales, mezclas racémicas, compuestos ópticamente activos, diastereómeros puros, o una mezcla de diastereómeros.

El término "50% o menos de isómero *R*" se usa de manera intercambiable con "50% o más de isómero *S*".

Las siguientes abreviaturas tienen los siguientes significados. Si la abreviatura no se define, tiene su significado aceptado en general.

BEMP = 2-terc-butilimino-2-dietilamino-1,3-dimetilperhidro-1,3,2-diazafosforina

Boc = t-butoxicarbonilo

BOP = hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris(dimetilamino)fosfonio

bd = doblete ancho

bs = singlete ancho

d = doblete

dd = doblete de dobletes

DIC = diisopropilcarbodiimida

	DMF = dimetilformamida
5	DMAP = dimetilaminopiridina
	DMSO = dimetilsulfóxido
	EDC = etil-1-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
10	eq. = equivalentes
	EtOAc = acetato de etilo
15	g = gramos
	HOBT = 1-hidroxibenzotriazol
	DIPEA = base de Hunig = diisopropiletilamina
20	L= litro
	m = multiplete
25	M = molar
	máx. = máximo
	meq = miliequivalente
30	mg = miligramo
	ml = mililitro
35	mm = milímetro
	mmol = milimol
	MOC = metoxioxicarbonilo
40	N = normal
	ng = nanogramo
45	nm = nanómetros
	OD = densidad óptica
	PEPC = 1-(3-(1-pirrolidinil)propil)-3-etilcarbodiimida
50	PP-HOBT = piperidin-piperidin-1-hidroxibenzotriazol
	psi = libras por pulgada cuadrada
55	Ph = fenilo
	q = cuartete
	quint. = quintete
60	rpm = rotaciones por minuto
	s = singlete
65	t = triplete
	TFA = ácido trifluoroacético

THF = tetrahidrofurano

CCF = cromatografía en capa fina

5

μl = microlitro

UV = ultravioleta

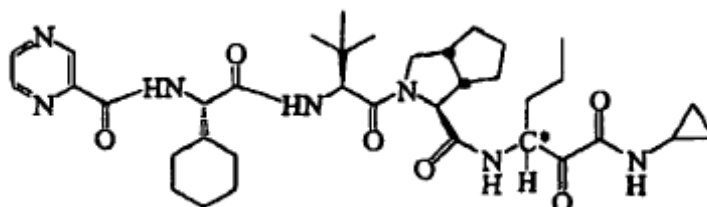
10 II. Compuestos

Los compuestos de la presente invención proporcionan tratamientos terapéuticos deseables porque se observó que tienen una mayor biodisponibilidad cuando el isómero *R* en la posición *C** era más del 50% de la mezcla (por ejemplo, aproximadamente el 60%, aproximadamente el 70%, aproximadamente el 80%, aproximadamente el 85%, aproximadamente el 90%, aproximadamente el 95% o aproximadamente el 98%). De manera inesperada, el isómero *R* en la posición *C** es aproximadamente 2 veces más biodisponible que el isómero *S* en la posición *C**. Adicionalmente, el isómero *R* en la posición *C** se convierte *in vivo* en el isómero *S* en la posición *C** en un porcentaje superior que el *S* en la posición *C**. Estas propiedades potencian la eficacia terapéutica de los compuestos de la invención con más del 50% de isómero *R* en la posición *C** como inhibidores de la actividad serina proteasa, tal como inhibiendo la actividad de la proteasa NS3-NS4A del virus de la hepatitis C. Por ejemplo, algunas realizaciones de la presente invención que tenían más del 50% de isómero *R* en *C** tenían $K_i(\text{app})$ medidas de menos de $3\ \mu\text{M}$ (por ejemplo, aproximadamente $2\ \mu\text{M}$, aproximadamente $1,5\ \mu\text{M}$ o aproximadamente $1,190\ \mu\text{M}$), CI_{50} de menos de aproximadamente $0,9\ \mu\text{M}$ (por ejemplo, aproximadamente $0,883\ \mu\text{M}$) y una CC_{50} de más de $100\ \mu\text{M}$.

25 La alta biodisponibilidad y las propiedades de conversión de isómero favorables en la posición *C** proporcionan eficacia terapéutica potenciada en los compuestos de la presente invención, tales como (1*S*,3*aR*,6*aS*)-2-[[*(2S)*-2-ciclohexil-1-oxo-2-[(pirazinilcarbonyl)amino]etil]amino]-3,3-dimetil-1-oxobutil]-*N*-[(1*R*)-1-[2-(ciclopropilamino)-1,2-dioxoetil] butil]octahidro-ciclopenta[*c*]pirrol-1-carboxamida, en comparación con compuestos de 50% o más de isómero *S* en la posición *C**.

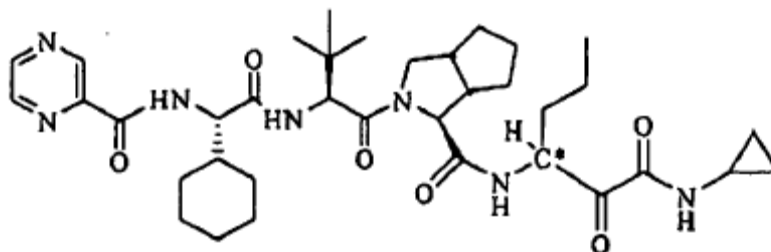
30

La presente invención proporciona una mezcla de compuestos diastereoméricos, que comprende:



35 o una sal farmacéuticamente aceptable o mezclas de los mismos, en la que *C** representa una mezcla de los isómeros *R* y *S*; y el isómero *R* es más del 50% de la mezcla en relación con el isómero *S* en la posición *C**.

La mezcla de compuestos diastereoméricos comprende



40

o una sal farmacéuticamente aceptable o mezclas de los mismos, en la que *C** representa una mezcla de los isómeros *R* y *S*; y el isómero *R* es más del 50% de la mezcla en relación con el isómero *S* en la posición *C**.

45 en la que *C** representa una mezcla de los isómeros *R* y *S* en la que el isómero *R* es al menos el 50% de la mezcla.

En varias realizaciones, el porcentaje del isómero *R* en la mezcla es más del 60%, (por ejemplo, más del 70%, más del 80%, más del 90%, más del 95%, más del 98% o más del 99%).

En varias realizaciones, la razón de isómeros *R* con respecto a *S* en *C** es más de 60 a 40.

5 En varias realizaciones, la razón de isómeros *R* con respecto a *S* en *C** es más de 70 a 30.

En varias realizaciones, la razón de isómeros *R* con respecto a *S* en *C** es más de 80 a 20.

En varias realizaciones, la razón de isómeros *R* con respecto a *S* en *C** es más de 90 a 10.

10 En varias realizaciones, la razón de isómeros *R* con respecto a *S* en *C** es más de 95 a 5.

En varias realizaciones, la razón de isómeros *R* con respecto a *S* en *C** es más de 98 a 2.

15 En varias realizaciones, la razón de isómeros *R* con respecto a *S* en *C** es más de 99 a 1.

Los ejemplos de los compuestos de la invención incluyen: (1*S*,3*aR*,6*aS*)-2-[(2*S*)-2-[[2*S*)-2-ciclohexil-1-oxo-2-[(pirazinilcarbonil)amino]etil]amino]-3,3-dimetil-1-oxobutil]-*N*-[(1*R*)-1-[2-(ciclopropilamino)-1,2-dioxoetil] butil]octahidro-ciclopenta[*c*]pirrol-1-carboxamida.

20 En varias realizaciones de la presente invención, el isómero *R* en la posición *C** es más del 50% de la mezcla y la mezcla tiene una *Ki*(app) de menos de 1,5 μM cuando se determina usando un ensayo de incubación de replicón de VHC de dos días (48 horas), tal como se describe en el presente documento.

25 En varias realizaciones, el isómero *R* en la posición *C** es más del 50% de la mezcla y la mezcla tiene una *Cl*₅₀ de menos de 1 μM y una *CC*₅₀ de más de 90 μM cuando se determina usando un ensayo de incubación de replicón de VHC de dos días (48 horas).

30 En varias realizaciones, el isómero *R* en la posición *C** es más del 50% de la mezcla y la mezcla incluye una *Ki*(app) de aproximadamente 1,190 μM, una *Cl*₅₀ de aproximadamente 0,883 μM y una *CC*₅₀ de más de 100 μM determinadas usando un ensayo de incubación de replicón de VHC de dos días (48 horas).

En varias realizaciones, las mezclas que contienen más del 50% de isómero *R* en la posición *C** tienen una biodisponibilidad superior que las mezclas con el 50% o menos de isómero *R* en la posición *C**.

35 En varias realizaciones, el isómero *R* en la posición *C** es más del 50% de la mezcla y la mezcla tiene una biodisponibilidad de más del 90%.

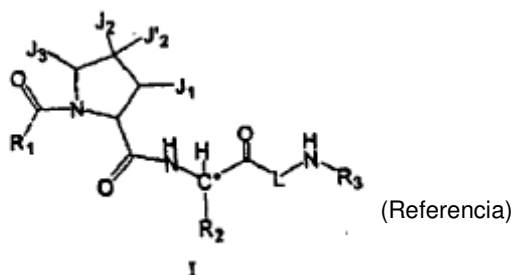
En varias realizaciones, el isómero *R* en la posición *C** es aproximadamente 2 veces tan biodisponible como el isómero *S* en la posición *C**.

40 En varias realizaciones, el isómero *R* en la posición *C** es más del 50% de la mezcla y la mezcla se absorbe más fácilmente que una mezcla que incluye el 50% o menos del isómero *R* en la posición *C**.

45 En varias realizaciones, el isómero *R* en la posición *C** es más del 50% de la mezcla y la mezcla tiene una semivida más larga que mezclas con el 50% o menos de isómero *R* en la posición *C**.

III. Esquemas sintéticos

Los compuestos de fórmula I

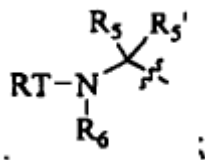


50 o una sal farmacéuticamente aceptable o mezclas de los mismos, en la que *C** representa un átomo de carbono diastereomérico; y el isómero *R* es más del 50% de la mezcla en relación con el isómero *S* en la posición *C**; *R*₁ es *RW*-, *P*₃- o *P*₄-*L*₂-*P*₃-; *R* es un radical alifático opcionalmente sustituido, un radical cicloalifático opcionalmente sustituido, un radical heterocicloalifático opcionalmente sustituido, un arilo opcionalmente sustituido o un heteroarilo opcionalmente sustituido; *W* es un enlace, -*NR*₄-, -*O*- o -*S*-; *R*₄ es *H*, un radical alifático opcionalmente sustituido, un

radical cicloalifático opcionalmente sustituido, un radical heterocicloalifático opcionalmente sustituido, un arilo opcionalmente sustituido o un heteroarilo opcionalmente sustituido;

P₃- es

5

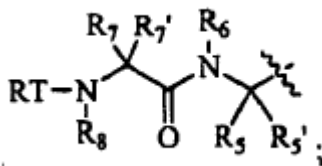


10 T es -C(O)-, -OC(O)-, -NHC(O)-, -C(O)C(O)- o -SO₂-; cada uno R₅ y R₅' es independientemente H, un radical alifático opcionalmente sustituido, un radical cicloalifático opcionalmente sustituido, un radical heterocicloalifático opcionalmente sustituido, un fenilo opcionalmente sustituido o un heteroarilo opcionalmente sustituido; R₆ es un radical alifático opcionalmente sustituido, un heteroarilo opcionalmente sustituido, un fenilo opcionalmente sustituido; o R₅ y R₆, junto con los átomos a los que están unidos, pueden formar un radical heterocicloalifático monocíclico opcionalmente sustituido de 5 a 7 miembros o un radical heterocicloalifático bicíclico opcionalmente sustituido de 6 a 12 miembros, en los que cada anillo heterocicloalifático contiene opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado de -O-, -S- o -NR₅₀-;

15

R₅₀ es H, un radical alifático opcionalmente sustituido, un heteroarilo opcionalmente sustituido o un fenilo opcionalmente sustituido;

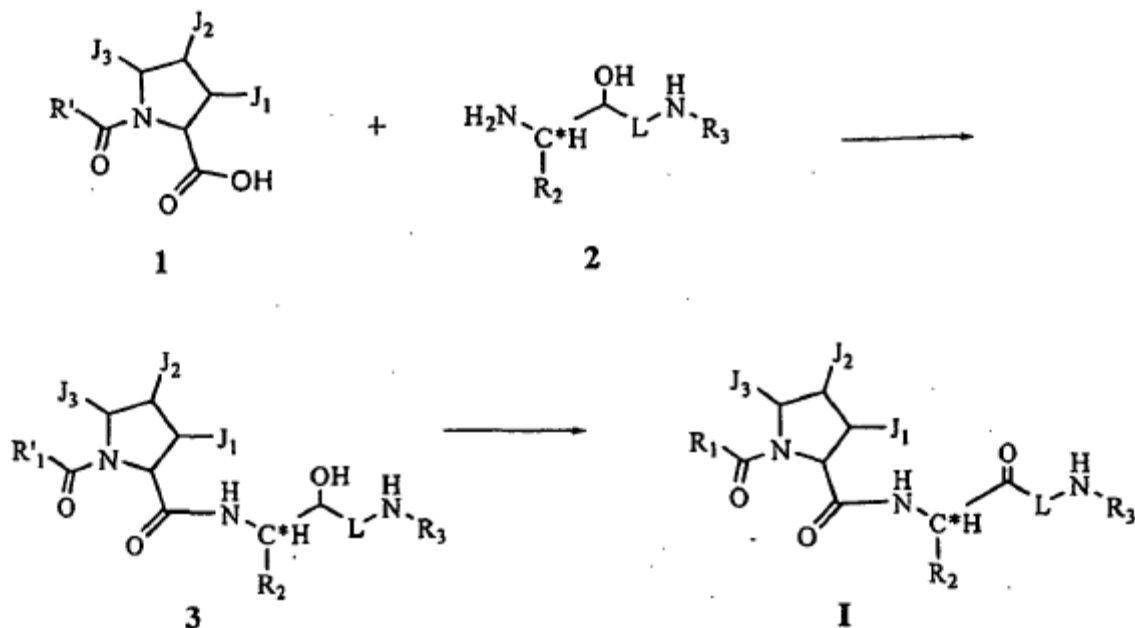
20 P₄-L₂-P₃ es



25 cada uno de R₇ y R₇' es independientemente H, un radical alifático opcionalmente sustituido, un radical cicloalifático opcionalmente sustituido, un radical heterocicloalifático opcionalmente sustituido, un fenilo opcionalmente sustituido o un heteroarilo opcionalmente sustituido; o R₇ y R₇', junto con el átomo al que están unidos, pueden formar un anillo cicloalifático o radical heterocicloalifático de 3 a 7 miembros, o R₇ y R₆, junto con los átomos a los que están unidos, pueden formar un radical heterocicloalifático monocíclico opcionalmente sustituido de 5 a 7 miembros, un heteroarilo monocíclico opcionalmente sustituido de 5 a 7 miembros, un radical heterocicloalifático bicíclico opcionalmente sustituido de 6 a 12 miembros, o un heteroarilo bicíclico opcionalmente sustituido de 6 a 12 miembros, en los que cada anillo heterocicloalifático o heteroarilo contiene opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado de -O-, -S- o -NR₅₀- o cuando R₅ y R₆, junto con los átomos a los que están unidos, pueden formar un anillo; R₇ y el sistema de anillos formado por R₅ y R₆ pueden formar un sistema de anillos condensado bicíclico opcionalmente sustituido de 8 a 14 miembros, estando el sistema de anillos condensado bicíclico opcionalmente condensado además con un fenilo opcionalmente sustituido para formar un sistema de anillos condensado tricíclico opcionalmente sustituido de 10 a 16 miembros; R₈ es H o un grupo protector; y R₂ es un radical alifático opcionalmente sustituido, un radical cicloalifático opcionalmente sustituido, un radical heterocicloalifático opcionalmente sustituido, un heteroarilo opcionalmente sustituido o un fenilo opcionalmente sustituido; R₃ es H, un radical alifático opcionalmente sustituido, un radical cicloalifático opcionalmente sustituido, un radical heterocicloalifático opcionalmente sustituido, un arilo opcionalmente sustituido o un heteroarilo opcionalmente sustituido; L es un enlace, -CF₂-, -C(O)- o -SO₂-; cada uno de J₁, J₂, J₂' y J₃ es independientemente halógeno, -OR', -OC(O)N(R')₂, -NO₂, -CN, -CF₃, -OCF₃, -R', oxo, tioxo, -N(R')₂, -SR', -COR', -SO₂R', -SO₂N(R')₂, -SO₃R', -C(O)R', -C(O)C(O)R', -C(O)CH₂C(O)R', -C(S)R', -C(O)OR', -OC(O)R', -C(O)N(R')₂, -OC(O)N(R')₂, -C(S)N(R')₂, (CH₂)₀₋₂NHC(O)R', -N(R')N(R')COR', -N(R')N(R')C(O)OR', -N(R')N(R')CON(R')₂, -N(R')SO₂R', -N(R')SO₂N(R')₂, -N(R')C(O)OR', -N(R')C(O)R', -N(R')C(S)R', -N(R')C(O)N(R')₂, -N(R')C(S)N(R')₂, -N(COR')COR', -N(OR')R', -C(=NH)N(R')₂, -C(O)N(OR')R', -C(=NOR')R', -OP(O)(OR')₂, -P(O)(R')₂, -P(O)(OR')₂ o -P(O)(H)(OR'), o J₂ y J₂' es H, en la que; dos grupos R' junto con los átomos a los que están unidos pueden formar un sistema de anillos aromático o no aromático de 3 a 10 miembros que tiene hasta 3 heteroátomos seleccionados independientemente de N, O o S, estando el anillo opcionalmente condensado con un arilo C₆-C₁₀, un heteroarilo C₅-C₁₀, un cicloalquilo C₃-C₁₀ o un radical heterocicloalifático C₃-C₁₀, y teniendo cualquier anillo hasta 3 sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de J₂; cada R' se selecciona independientemente de H, radical alifático C₁-C₁₂, cicloalquilo C₃-C₁₀ o cicloalquenoil C₃-C₁₀, cicloalquil C₃-C₁₀-radical alifático C₁-C₁₂, cicloalquenoil C₃-C₁₀-radical alifático C₁-C₁₂, arilo C₆-C₁₀, aril C₆-C₁₀-radical alifático C₁-C₁₂, radical heterocicloalifático de 3 a 10 miembros, radical heterocicloalifático de 6 a 10 miembros - radical alifático C₁-C₁₂, heteroarilo de 5 a 10

50

miembros o heteroaril de 5 a 10 miembros - radical alifático C₁-C₁₂, teniendo R' hasta 3 sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de J₂; o J₁ y J₂, junto con los átomos a los que están unidos, pueden formar un anillo bicíclico opcionalmente sustituido de C₈ a C₁₂; J₁ y J₃, junto con los átomos a los que están unidos, pueden formar anillo bicíclico opcionalmente sustituido de C₈ a C₁₂; J₂ y J'₂, junto con el átomo de carbono al que están unidos, pueden formar un radical cicloalifático opcionalmente sustituido de 5-10 miembros o un anillo heterocicloalifático opcionalmente sustituido de 5 a 10 miembros, o J₂ y J₃, junto con los átomos a los que están unidos, pueden formar anillo bicíclico opcionalmente sustituido de C₈ a C₁₂; pueden prepararse mediante métodos conocidos. Un ejemplo de tales métodos se ilustra en el esquema 1.



10

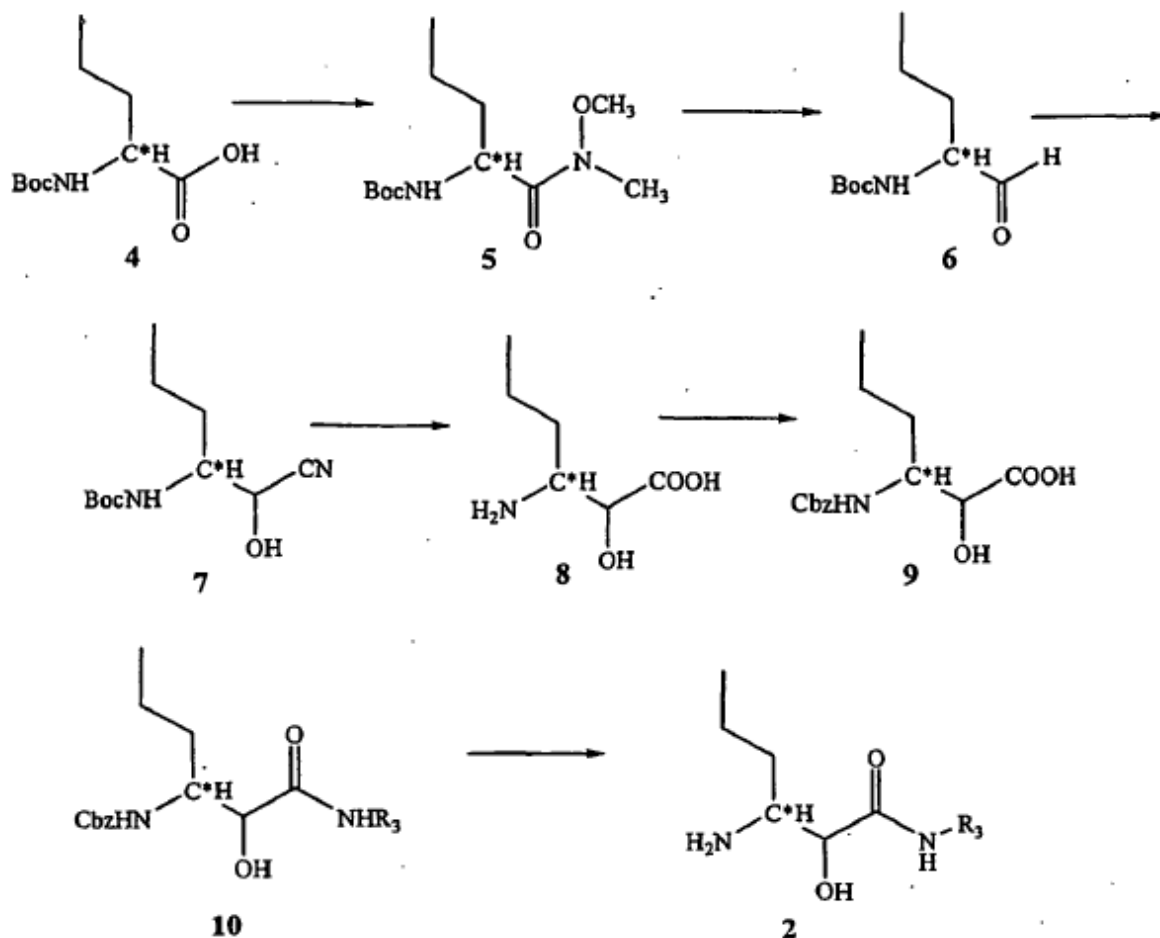
Esquema 1

En referencia al esquema 1, se hace reaccionar un ácido de pirrolidina de fórmula 1 con un amino-alcohol de fórmula 2 en presencia de un reactivo de acoplamiento tal como, por ejemplo, EDC y HOBt dando la amida correspondiente de fórmula 3. La oxidación de amida 3 proporciona los compuestos de fórmula I. Agentes oxidantes adecuados incluyen, por ejemplo, peryodato de Dress-Martin e hipoclorito de sodio en presencia de TEMPO. Los ácidos de pirrolidina de fórmula 1 usados en el esquema 1 pueden prepararse mediante métodos descritos en los documentos WO 03/006490 y WO 02/18369. Los aminoalcoholes de fórmula 2 en la que L es -C(O)- pueden prepararse mediante métodos descritos en el documento WO 02/18369. En la fórmula I, R'₁ representa un grupo protector de N que puede eliminarse para la elaboración adicional de R'₁ según métodos conocidos. Alternativamente, R'₁ representa R₁. Por tanto, la unión del aminoalcohol de fórmula 2 puede lograrse antes o después de la elaboración del resto R₁.

Las mezclas de isómeros *R* y *S*, en la posición C* de la presente invención pueden procesarse mediante técnicas conocidas. Un ejemplo de tales técnicas incluye diluir un isómero puro *R* o *S* (en la posición C*) con una cantidad apropiada de isómero *S* o *R*, respectivamente. Otro ejemplo de tales técnicas incluye diluir una mezcla de una razón conocida de *R* con respecto a *S* (en la posición C*) con un volumen apropiado de isómero puro *R* en C*, un volumen de isómero puro *S* en C*, o un volumen de una mezcla de una razón conocida de isómero *R* y *S* (en C*). Otra técnica incluye llevar a cabo una ruta sintética que proporciona una razón deseada de isómero *R* en C* con respecto a isómero *S* en C*.

La preparación del isómero puro *R* o el isómero *S* en C* se describe en el documento WO 02/18369 y se ilustra en el esquema 2.

35



Esquema 2

- 5 En referencia al esquema 2, se convierte en primer lugar un isómero óptico de Boc-norvalina de fórmula 4 en la correspondiente N-metil(metoxi)amida de fórmula 5 haciéndolo reaccionar con dimetilhidroxilamina en presencia de CDI. La reducción de la amida 5 con hidruro de litio y aluminio proporciona el norvalinal de fórmula 6. La cianohidrina de fórmula 7 se logra mediante la conversión del norvalinal 6 en el complejo de adición de bisulfito (no mostrado) seguido por una reacción con cianuro de potasio. La reacción de la cianohidrina de fórmula 7 con ácido clorhídrico concentrado da como resultado la hidrólisis del grupo ciano y la desprotección dando el aminohidroxiácido de fórmula 8. La reacción del aminohidroxiácido 8 resultante con N-(benciloxycarbonilo)succinimida da el derivado de Cbz de fórmula 9, que puede convertirse adicionalmente en una amida de fórmula 10 mediante la reacción con la amina R_3NH_2 en presencia del reactivo de acoplamiento PyBOP y HOBT. La hidrogenación de la amida 10 con Pd al 10%/C da la amina de fórmula 2.

15 Pueden separarse opcionalmente mezclas de compuestos de fórmula I en sus estereoisómeros constituyentes, por ejemplo, mediante procedimientos de separación cromatográficos. Véanse las tablas 1 y 2.

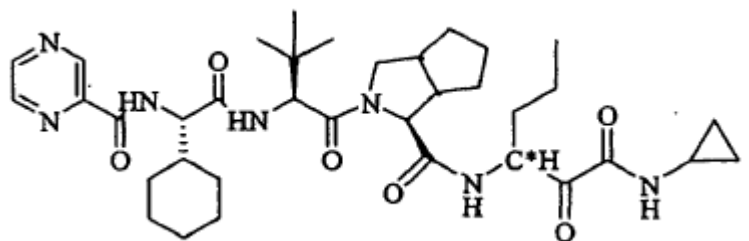
Tabla 1. Separación de ejemplo de isómeros *R* y *S* en C^* de compuestos de fórmula I.

20

Parámetro	Valor de parámetro
Analito	Mezclas de isómeros <i>R</i> y <i>S</i> de compuestos de fórmula I
Instrumentación analítica	PE SCIEX API 3000
Tipo de detección	EM/EM
Cromatografía	Fase normal
Tipo de columna	ChiralPak AD
Dimensiones de la columna	L: 250 mm D: 4,6 mm Tamaño de partícula 5 μ m

Velocidad de flujo	1,3 ml/minuto
Tiempo de ejecución	16,0 minutos
Volumen de inyección	20 µl
Fase móvil	20% de alcohol isopropílico 80% de hexano
Procedimiento de extracción	líquido/líquido

Se realizó una separación específica de una mezcla que contiene isómeros *R* y *S* de compuestos de fórmula



5 en la que C* representa una mezcla de isómeros *R* y *S* según la tabla 1. Se midió que los tiempos de retención eran de 8 minutos 27 segundos para el isómero *R* en C* y de 6 minutos 35 segundos para el isómero *S* en C*, tal como se ilustra en la tabla 2.

10 Tabla 2. Separación de isómeros *R* y *S* en la posición C* de compuestos de fórmula I mediante HPLC

Condiciones de HPLC	
Eluyente (isocrático)	Heptano:acetona:metanol 80:19:1
Velocidad de flujo	750 µl/min
Constitución de la disolución	Acetonitrilo:acetona:metanol:ácido fórmico 40:60:1:1
Velocidad de flujo	250 µl/minuto
Inyector automático	LEAP HTS PAL con unidad de enfriamiento
Temperatura del inyector automático	2°C
Lavado de aguja del inyector automático	Heptano:acetona 85:15
Vol. de inyección	100 µl
Columna de HPLC	Hypersil CPS-1, 250 mm x 2 mm, tamaño de partícula de 5 µm
Temperatura de la columna de HPLC	Aproximadamente -1°C
Presión de la columna inicial típica	97 bar
Tiempo de ejecución del inyector automático	7,75 minutos
Programa de lavado de aguja del inyector automático	PreClnSlv1 1 PreClnSlv1 0 PreClnSlv1 5 PreClnSlv1 0 PreClnSlv1 5 PreClnSlv1 0

15 Usando los métodos de separación ilustrados en la tabla 2, se midió un tiempo de retención de 3,6 minutos para el isómero *R* en la posición C* y se midió un tiempo de retención de 4,0 minutos para el isómero *S* en la posición C*.

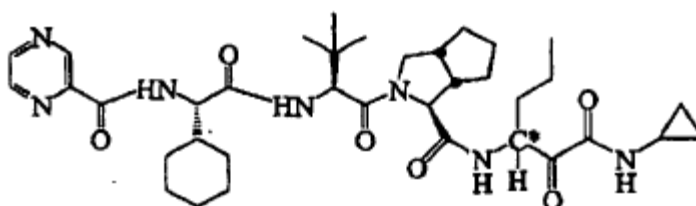
IV. Formulaciones, usos y administraciones

20 Los compuestos de la presente invención pueden ser agentes terapéuticos deseables porque se observó que tienen una mayor biodisponibilidad cuando el isómero *R* en la posición C* era más del 50% de la mezcla (por ejemplo, aproximadamente el 60%, aproximadamente el 70%, aproximadamente el 80%, aproximadamente el 85%, aproximadamente el 90%, aproximadamente el 95% o aproximadamente 99%). Las mezclas con más del 50% de isómero *R* en la posición C* eran aproximadamente 2 veces más biodisponibles que el isómero *S* en la posición C*.

Específicamente, la biodisponibilidad total era aproximadamente del 98% para el isómero *R* en C* dosificado por vía oral y del 50% para el isómero *S* en C* dosificado por vía oral, cuando se representa por la exposición combinada de los 2 isómeros. Además, tras la dosificación oral, la conversión del isómero *R* en C* en isómero *S* en C* fue más prominente que la conversión del isómero *S* en C* en isómero *R* en C*. La interconversión se produjo en un grado mayor tras una dosis oral cuando se comparó con la que se produjo tras una dosis i.v.

Los compuestos de la presente invención pueden ser tratamientos terapéuticos útiles para la infección por VHC porque estos compuestos inhiben la actividad serina proteasa, particularmente la actividad de la proteasa NS3-NS4A del virus de la hepatitis C. Algunas realizaciones de la presente invención que eran más del 50% de isómero *R* en C* tenían medidas de $K_i(\text{app})$ de menos de 3 μM (por ejemplo, de aproximadamente 2 μM , aproximadamente 1,5 μM o aproximadamente 1,190 μM), IC_{50} de menos de aproximadamente 0,9 μM (por ejemplo, de aproximadamente 0,883 μM) y una CC_{50} de más del 100 μM .

Una mezcla de compuestos diastereoméricos, que comprende:



o una sal farmacéuticamente aceptable o mezclas de los mismos, en la que C* representa una mezcla de los isómeros *R* y *S*; y el isómero *R* es más del 50% de la mezcla en relación con el isómero *S* en la posición C* puede usarse para tratar el VHC.

Una realización de esta invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, o sales farmacéuticamente aceptables o mezclas de sales de los mismos. Según otra realización, el compuesto de fórmula I está presente en una cantidad eficaz para disminuir la carga viral en una muestra o en un paciente, en el que dicho virus codifica para una serina proteasa necesaria para el ciclo de vida viral, y un portador farmacéuticamente aceptable.

Si se utilizan sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta invención en estas composiciones, esas sales se derivan preferiblemente de ácidos y bases orgánicos o inorgánicos. Entre tales sales de ácido se incluyen las siguientes: de acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, canforato, canforsulfonato, ciclopentano-propionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2 hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2 naftalenosulfonato, nicotinato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato y undecanoato. Las sales de base incluyen sales de amonio, sales de metales alcalinos, tales como sales de sodio y potasio, sales de metales alcalinotérreos, tales como sales de calcio y magnesio, sales con bases orgánicas, tales como sales de dicitclohexilamina, N-metil-D-glucamina, y sales con aminoácidos tales como arginina, lisina, etc.

Además, los grupos que contienen nitrógeno básico pueden cuaternizarse con agentes tales como haluros de alquilo inferior, tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo; sulfatos de dialquilo, tales como sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo y diamilo, haluros de cadena larga tales como cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo, haluros de aralquilo, tales como bromuros de bencilo y fenetilo y otros. De ese modo se obtienen productos dispersables o solubles en aceite o agua.

Los compuestos utilizados en las composiciones y métodos de esta invención también pueden modificarse añadiendo funcionalidades apropiadas para potenciar propiedades biológicas selectivas. Tales modificaciones se conocen en la técnica e incluyen las que aumentan la penetración biológica en un sistema biológico dado (por ejemplo, sangre, sistema linfático, sistema nervioso central), aumentan la disponibilidad oral, aumentan la solubilidad para permitir la administración mediante inyección, alteran el metabolismo y alteran la tasa de excreción.

Portadores farmacéuticamente aceptables que pueden usarse en estas composiciones incluyen, pero no se limitan a, intercambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, tales como albúmina sérica humana, sustancias tampón tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato de disodio, hidrogenofosfato de potasio, cloruro de sodio, sales de zinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias a base de celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa de sodio, poliacrilato, ceras, polímeros de bloque de polietileno-polioxipropileno, polietilenglicol y lanolina.

Según otra realización, las composiciones de esta invención se formulan para su administración farmacéutica a un mamífero. En una realización, dicho mamífero es un ser humano.

5 Tales composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse por vía oral, parenteral, mediante pulverización para inhalación, por vía tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o a través de un depósito implantado. El término "parenteral" tal como se usa en el presente documento incluye técnicas de inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal. Preferiblemente, las composiciones se administran por vía oral o intravenosa.

10 Formas inyectables estériles de las composiciones de esta invención pueden ser una suspensión acuosa u oleaginosas. Estas suspensiones pueden formularse según técnicas conocidas en la técnica usando agentes de suspensión y agentes humectantes o dispersantes adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una disolución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo como una disolución en 1,3 butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, solución de Ringer y disolución isotónica de cloruro de sodio. Además, se emplean convencionalmente aceites fijos, estériles como medio de suspensión o disolvente. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite fijo blando, incluyendo mono y diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, tales como el ácido oleico y sus derivados de glicérido son útiles en la preparación de inyectables, como son aceites naturales farmacéuticamente aceptables, tales como aceite de oliva o aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxiethyladas. Estas disoluciones o suspensiones aceitosas también pueden contener un diluyente o dispersante de alcohol de cadena larga, tal como carboximetilcelulosa o agentes dispersantes similares que se usan comúnmente en la formulación de formas farmacéuticas farmacéuticamente aceptables incluyendo emulsiones y suspensiones. Otros tensioactivos usados comúnmente, tales como Tweens, Spans y otros agentes emulsionantes o potenciadores de biodisponibilidad que se usan comúnmente en la fabricación de formas farmacéuticas sólidas, líquidas u otras farmacéuticamente aceptables también pueden usarse para fines de formulación.

En una realización, niveles de dosificación de entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día de los compuestos inhibidores de proteasa descritos en el presente documento son útiles en una monoterapia para la prevención y el tratamiento con agente antiviral, particularmente contra enfermedad mediada, por VHC. En otra realización, niveles de dosificación de entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 75 mg/kg de peso corporal por día de los compuestos inhibidores de proteasa descritos en el presente documento son útiles en una monoterapia para la prevención y el tratamiento de una enfermedad mediada por antivirales, particularmente por anti-VHC. Normalmente, las composiciones farmacéuticas de esta invención se administrarán desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 5 veces por día o alternativamente, como una infusión continua. Una administración de este tipo puede usarse como terapia crónica o aguda. La cantidad de principio activo que puede combinarse con los materiales portadores para producir una forma farmacéutica individual variará dependiendo del huésped tratado y el modo de administración particular. Una preparación típica contendrá desde aproximadamente el 5% hasta aproximadamente el 95% de compuesto activo (p/p). En una realización, tales preparaciones contienen desde aproximadamente el 20% hasta aproximadamente el 80% de compuesto activo.

40 Cuando las composiciones de esta invención comprenden una combinación del compuesto de la invención y uno o más agentes terapéuticos o profilácticos adicionales, tanto el compuesto como el agente adicional deben estar presentes a niveles de dosificación de entre aproximadamente el 10 y el 100% de la dosificación normalmente administrada en un régimen de monoterapia. En otra realización, el agente adicional debe estar presente a niveles de dosificación de entre aproximadamente el 10 y el 80% de la dosificación normalmente administrada en un régimen de monoterapia. Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden administrarse por vía oral en cualquier forma farmacéutica aceptable por vía oral incluyendo, pero sin limitarse a, cápsulas, comprimidos, disoluciones o suspensiones acuosas. En el caso de los comprimidos para uso oral, los portadores usados comúnmente incluyen lactosa y almidón de maíz. Normalmente también se añaden agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio. Para la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando se requieren suspensiones acuosas para uso oral, el principio activo se combina con agentes emulsionantes o de suspensión. Si se desea, también pueden añadirse determinados agentes edulcorantes, aromatizantes o colorantes.

55 Alternativamente, las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden administrarse en forma de supositorios para administración rectal. Estos pueden prepararse mezclando el agente con un excipiente adecuado no irritante que es sólido a temperatura ambiente pero líquido a temperatura rectal y por tanto se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Tales materiales incluyen manteca de cacao, cera de abeja y polietilenglicoles.

60 Las composiciones farmacéuticas de esta invención también pueden administrarse por vía tópica, especialmente cuando la diana del tratamiento incluye zonas u órganos fácilmente accesibles mediante aplicación tópica, incluyendo enfermedades de los ojos, la piel o el tracto intestinal inferior. Se preparan fácilmente formulaciones típicas adecuadas para cada una de estas zonas u órganos.

La aplicación tópica para el tracto intestinal inferior puede realizarse en una formulación de supositorio rectal (véase anteriormente) o en una formulación de enema adecuada. También pueden usarse parches transdérmicos por vía tópica.

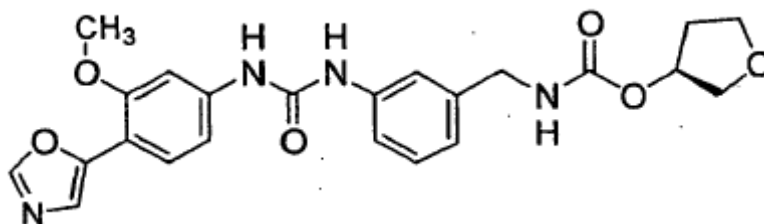
5 Para las aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una pomada adecuada que contiene el componente activo suspendido o disuelto en uno o más portadores. Los portadores para la administración tópica de los compuestos de esta invención incluyen, pero no se limitan a, aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, polioxietileno, compuesto de polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Alternativamente, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una loción o crema adecuada que
10 contiene los componentes activos suspendidos o disueltos en uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. Los portadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, aceite mineral, monoestearato de sorbitano y polisorbato 60, cera de ésteres cetílicos, alcohol ceterárfico, 2-octildecanol, alcohol bencílico y agua.

15 Para uso oftálmico, las composiciones farmacéuticas pueden formularse como suspensiones micronizadas en solución salina estéril, isotónica, de pH ajustado o, preferiblemente, como disoluciones en solución salina estéril, isotónica, de pH ajustado, o bien con o bien sin un conservante tal como cloruro de benzalconio. Alternativamente, para usos oftálmicos, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una pomada tal como vaselina.

20 Las composiciones farmacéuticas de esta invención también pueden administrarse mediante aerosol o inhalación nasal. Tales composiciones se preparan según técnicas bien conocidas en la técnica de la formulación farmacéutica y pueden prepararse como disoluciones en solución salina, empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, promotores de absorción para potenciar la biodisponibilidad, fluorocarbonos y/u otros agentes solubilizantes o dispersantes convencionales.

25 En una realización, las composiciones farmacéuticas se formulan para administración oral.

En otra realización, las composiciones de esta invención comprenden adicionalmente otro agente anti-viral, preferiblemente un agente anti-VHC. Tales agentes anti-virales incluyen, pero no se limitan a, agentes inmunomoduladores, tales como α -, β - y γ - interferones, compuestos de interferón α derivatizados pegilados y
30 timosina; otros agentes anti-virales, tales como ribavirina, amantadina y telbivudina; otros inhibidores de proteasas de la hepatitis C (inhibidores de NS2-NS3 e inhibidores de NS3-NS4A); inhibidores de otras dianas en el ciclo de vida del VHC, incluyendo inhibidores de helicasa y polimerasa; inhibidores del sitio interno de entrada al ribosoma, inhibidores virales de amplio espectro, tales como inhibidores de IMPDH (por ejemplo, compuestos de la patente de estadounidense 5.807.876, 6.498.178, 6.344.465, 6.054.472, los documentos WO 97/40028, WO 98/40381, WO
35 00/56331, y ácido micofenólico y derivados del mismo, e incluyendo, pero sin limitarse a COMPUESTO XX; o cualquier combinación de cualquiera de los anteriores. Véase también W. Markland *et al.*, Antimicrobial & Antiviral Chemotherapy, 44, pág. 859 (2000) y patente estadounidense 6.541.496.



40
COMPUESTO XX

Las siguientes definiciones se usan en el presente documento (siendo las marcas comerciales en referencia a los productos disponibles en esta fecha de presentación de solicitud).

45 "Peg-Intron" significa PEG-INTRON[®], peg-interferón alfa -2b, disponible de Schering Corporación, Kenilworth, NJ;

"Intrón" significa INTRON-A[®], interferón alfa-2b disponible de Schering Corporación, Kenilworth, NJ;

50 "ribavirina" significa ribavirina (1-beta-D-ribofuranosil-1H-1,2,4-triazol-3-carboxamida, disponible de ICN Pharmaceuticals, Inc., Costa Mesa, CA; descrita en el Merck Index, entrada 8365, decimosegunda edición; también disponible como REBETROL[®] de Schering Corporación, Kenilworth, NJ, o como COPEGASUS[®] de Hoffmann-La Roche, Nutley, NJ;

55 Pagasys significa PEGASYS[®], peg-interferón alfa-2a disponible de Hoffmann-La Roche, Nutley, NJ;

"Roferon" significa ROFERON[®], interferón alfa-2a recombinante disponible de Hoffmann-La Roche, Nutley, NJ;

“Berefor” significa BEREFOR[®], interferón alfa 2 disponible de Boehringer Ingelheim Pharmaceutical, Inc., Ridgefield, CT;

5 SUMIFERON[®], una combinación purificada de interferones alfa naturales tales como Sumiferon disponible de Sumitomo, Japón;

WELLFERON[®], interferón alfa n1 disponible de Glaxo Wellcome LTd., Gran Bretaña;

10 ALFERON[®], una mezcla de interferones alfa naturales obtenidos por Interferon Sciences y disponible de Purdue Frederick Co., CT;

15 El término “interferón” tal como se usa en el presente documento significa un miembro de una familia de proteínas específicas de especie, altamente homólogas, que inhiben la replicación viral y la proliferación celular y modulan la respuesta inmunitaria, tales como interferón alfa, interferón beta o interferón gamma. El Merck Index, entrada 5015, decimosegunda edición.

20 Según una realización de la presente invención, el interferón es α -interferón. Según otra realización, una combinación terapéutica de la presente invención utiliza interferón alfa natural 2a. O, la combinación terapéutica de la presente invención utiliza interferón alfa natural 2b. En otra realización, la combinación terapéutica de la presente invención utiliza interferón alfa recombinante 2a o 2b. En aún otra realización, el interferón es interferón alfa pegilado 2a o 2b. Los interferones adecuados para la presente invención incluyen:

25 (a) INTRON-A[®] (interferón-alfa 2B, Schering Plough),

(b) PEG-INTRON[®],

(c) PEGASYS[®],

30 (d) ROFERON[®],

(e) BEREFOR[®],

35 (f) SUMIFERON[®],

(g) WELLFERON[®],

(h) interferón alfa consenso disponible en Amgen, Inc., Newbury Park, CA,

40 (i) ALFERON[®];

(j) VIRAFERON[®];

45 (k) INFERGEN[®]; y

(l) ALBUFERON[™].

50 Tal como reconocen los médicos expertos, un inhibidor de proteasa podría administrarse preferiblemente por vía oral. El interferón normalmente no se administra por vía oral. No obstante, nada en el presente documento limita los métodos o combinaciones de esta invención a ningún régimen o forma farmacéutica específico. Por tanto, cada componente de una combinación según esta invención puede administrarse por separado, juntos o en cualquier combinación de los mismos.

55 En una realización, el interferón y el inhibidor de proteasa se administran en formas farmacéuticas separadas. En una realización, cualquier agente adicional se administra como parte de una única forma farmacéutica con el inhibidor de proteasa o como una forma farmacéutica separada. Puesto que esta invención implica una combinación de compuestos, las cantidades específicas de cada compuesto pueden depender de las cantidades específicas de cada uno de los otros compuestos en la combinación. Tal como reconocen los médicos expertos, las dosificaciones de interferón se miden normalmente en UI (por ejemplo, de aproximadamente 4 millones de UI a aproximadamente 60 12 millones de UI).

65 Por consiguiente, los agentes (ya sea actuando como un agente inmunomodulador o de otra forma) que pueden usarse en combinación con un compuesto de esta invención incluyen, pero no se limitan a, Albuferon[™] (albúmina-interferón alfa) disponible de Human Genome Sciences; interferón-alfa 2B (INTRON-A[®], Schering Plough); REBETRON[®] (Schering Plough, interferón-alfa 2B + ribavirina); interferón alfa pegilado (Reddy, K.R. *et al.* “Efficacy and Safety of Pegylated (40-kd) interferon alpha-2a compared con interferon alpha-2a in noncirrhotic patients with

- chronic hepatitis C (Hepatology, 33, págs. 433-438 (2001); interferón consenso (Kao, J.H., *et al.*, "Efficacy of Consensus Interferon in the Treatment of Chronic Hepatitis" J. Gastroenterol. Hepatol. 15, págs. 1418-1423 (2000), interferón-alfa 2A (Roferon A; Roche), interferón linfoblastoide o "natural"; interferón tau (Clayette, P. *et al.*, "IFN-tau, A New Interferon Type I with Antiretroviral activity" Pathol. Biol. (Paris) 47, págs. 553-559 (1999); interleucina 2 (Davis, G.L. *et al.*, "Future Options for the Management of Hepatitis C." Seminars in Liver Disease, 19, págs. 103-112 (1999); interleucina 6 (Davis *et al.* "Future Options for the Management of Hepatitis C." Seminars in Liver Disease 19, págs. 103-112 (1999); interleucina 12 (Davis, G.L. *et al.*, "Future Options for the Management of Hepatitis C." Seminars in Liver Disease, 19, págs. 103-112 (1999); ribavirina; y compuestos que potencian el desarrollo de la respuesta de las células T cooperadoras de tipo 1 (Davis *et al.*, "Future Options for the Management of Hepatitis C." Seminars in Liver Disease, 19, págs. 103-112 (1999). Los interferones pueden mejorar las infecciones virales ejerciendo efectos antivirales directos y/o modificando la respuesta inmunitaria a la infección. Los efectos antivirales de los interferones a menudo están mediados a través de la inhibición de la penetración viral o el no recubrimiento, la síntesis del ARN viral, la traducción de proteínas virales y/o el ensamblaje y la liberación virales.
- 15 Los compuestos que estimulan la síntesis de interferón en las células (Tazulakhova, E.B. *et al.*, "Russian Experience in Screening, analysis, and Clinical Application of Novel Interferon Inducers" J. Interferon Cytokine Res., 21 págs. 65-73) incluyen, pero no se limitan a, ARN bicatenario, solo o en combinación con tobramicina e imiquimod (3M Pharmaceuticals; Sauder, D.N. "Immunomodulatory and Pharmacologic Properties of Imiquimod" J. Am. Acad. Dermatol., 43 págs. S6-11 (2000).
- 20 Pueden usarse otros compuestos no inmunomoduladores o inmunomoduladores en combinación con un compuesto de esta invención incluyendo, pero sin limitarse a, los especificados en el documento WO 02/18369, (véase, por ejemplo, la página 273, líneas 9-22 y de la página 274, línea 4 a la página 276, línea 11).
- 25 Esta invención también puede implicar administrar un inhibidor de la citocromo P450 monooxigenasa. Los inhibidores de CYP pueden ser útiles para aumentar las concentraciones hepáticas y/o aumentar los niveles sanguíneos de compuestos que se inhiben mediante CYP.
- 30 Si una realización de esta invención implica un inhibidor de CYP, puede usarse cualquier inhibidor de CYP que mejore la farmacocinética de la proteasa NS3/4A relevante en un método de esta invención. Estos inhibidores de CYP incluyen, pero no se limitan a, ritonavir (documento WO94/14436), ketoconazol, troleandomicina, 4-metilpirazol, ciclosporina, clometiazol, cimetidina, itraconazol, fluconazol, miconazol, fluvoxamina, fluoxetina, nefazodona, sertralina, indinavir, nelfinavir, amprenavir, fosamprenavir, saquinavir, lopinavir, delavirdina, eritromicina, VX-944 y COMPUESTO XX. Los inhibidores de CYP preferidos incluyen ritonavir, ketoconazol, troleandomicina, 4-metilpirazol, ciclosporina y clometiazol. Para las formas farmacéuticas preferidas de ritonavir, véase la patente estadounidense 6.037.157 y los documentos citados en el presente documento: patente estadounidense 5.484.801, solicitud estadounidense 08/402.690 y solicitudes internacionales WO 95/07696 y WO 95/09614).
- 35 Se conocen métodos para medir la capacidad de un compuesto para inhibir la actividad de la citocromo P450 monooxigenasa (véase el documento US 6.037.157 y Yun, *et al.* Drug Metabolism & Disposition, vol. 21, págs. 403-407 (1993).
- 40 Con la mejora del estado de un paciente, puede administrarse, una dosis de mantenimiento de un compuesto, composición o combinación de esta invención, si es necesario. Posteriormente, puede reducirse la dosificación o frecuencia de administración, o ambas, en función de los síntomas, hasta un nivel en el que se mantiene el estado mejorado. Cuando los síntomas se han aliviado hasta el nivel deseado, el tratamiento debe cesar. Sin embargo, los pacientes pueden requerir tratamiento intermitente a largo plazo con cualquier recurrencia de los síntomas de enfermedad.
- 45 También debe entenderse que un régimen de tratamiento y dosificación específico para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos y el criterio del médico que trate y la gravedad de la enfermedad particular que se esté tratando. La cantidad de principios activos también dependerá del compuesto particular descrito y de la presencia o ausencia y la naturaleza del agente antiviral adicional en la composición.
- 50 Puede usarse una composición farmacéuticamente aceptable de esta invención para tratar a un paciente infectado con un virus caracterizado por una serina proteasa codificada viralmente que es necesaria para el ciclo de vida del virus. Las composiciones de esta invención pueden usarse para tratar a un paciente que padece una infección por VHC. Un tratamiento de este tipo puede erradicar completamente la infección viral o reducir la gravedad de la misma. El paciente puede ser un ser humano.
- 55 El tratamiento puede comprender adicionalmente la etapa de administrar a dicho paciente un agente antiviral preferiblemente un agente anti-VHC. Tales agentes antivirales incluyen, pero no se limitan a, agentes inmunomoduladores, tales como α -, β - o γ - interferones, compuestos de interferón- α derivatizados, pegilados y timosina; otros agentes antivirales, tales como ribavirina, amantadina y telbivudina; otros inhibidores de proteasas de
- 60
- 65

hepatitis C (inhibidores de NS2-NS3 e inhibidores de NS3-NS4A); inhibidores de otras dianas en el ciclo de vida del VHC, incluyendo pero sin limitarse inhibidores de helicasa y polimerasa; inhibidores del sitio interno de entrada al ribosoma; inhibidores virales de amplio espectro, tales como inhibidores de IMPDH (por ejemplo, COMPUESTO XX y otros inhibidores de IMPDH dados a conocer en las patentes estadounidenses 5.807.876 y 6.498.178, ácido micofenólico y derivados de los mismos); inhibidores del citocromo P-450, tal como ritonavir, o combinaciones de cualquiera de los anteriores.

Pueden administrarse agentes adicionales al paciente como parte de una forma farmacéutica individual que comprende tanto un compuesto de esta invención como un agente antiviral adicional. Alternativamente, el agente antiviral puede administrarse por separado del compuesto de esta invención, como parte de una forma farmacéutica múltiple, en la que dicho agente adicional se administra antes de, junto con o tras una composición que comprende un compuesto de esta invención

La presente invención proporciona un método de pretratamiento de una sustancia biológica destinada a la administración a un paciente que comprende la etapa de poner en contacto dicha sustancia biológica con una composición farmacéuticamente aceptable que comprende un compuesto de esta invención. Tales sustancias biológicas incluyen, pero no se limitan a, sangre y componentes de la misma, tales como plasma, plaquetas, subpoblaciones de células sanguíneas y similares; órganos tales como riñón, hígado, corazón, pulmón, etc.; espermatozoides y óvulos; médula ósea y componentes de la misma, y otros fluidos que han de infundirse en un paciente tal como solución salina, dextrosa, etc.

La invención proporciona métodos de tratamiento de materiales que pueden ponerse en contacto potencialmente con un virus caracterizado por una serina proteasa codificada viralmente necesaria para su ciclo vital. Este método comprende la etapa de poner en contacto dicho material con un compuesto según la invención. Tales materiales incluyen, pero no se limitan a, instrumentos y prendas quirúrgicos (por ejemplo ropa, guantes, delantales, batas, mascarillas, gafas, calzado, etc.); instrumentos y prendas de laboratorio (por ejemplo ropa, guantes, delantales, batas, mascarillas, gafas, calzado, etc.); aparatos y materiales para la recogida de sangre; y dispositivos invasivos, tales como, por ejemplo, derivaciones y endoprótesis.

Los compuestos de esta invención pueden usarse como herramientas de laboratorio para ayudar en el aislamiento de una serina proteasa codificada viralmente. Este método comprende las etapas de proporcionar un compuesto de esta invención unido a un soporte sólido, poner en contacto dicho soporte sólido con una muestra que contiene una serina proteasa viral en condiciones que hacen que dicha proteasa se una a dicho soporte sólido; y eluir dicha serina proteasa de dicho soporte sólido. En una realización, la serina proteasa viral aislada mediante este método es proteasa NS3-NS4A del VHC.

V. ENSAYOS

Ejemplo 1: Biodisponibilidad de isómeros R y S en la posición C* de un compuesto de fórmula I

Se administró por vía oral a tres grupos de ratas Sprague Dawley macho (n = 6-7/grupo) un compuesto de fórmula I en la que la mezcla comprendía aproximadamente un 92% de isómero R en la posición C* y aproximadamente un 8% de isómero S en la posición C*; una mezcla que era aproximadamente un 7% de isómero R en la posición C* y aproximadamente un 93% de isómero S en la posición C*; o un compuesto de fórmula I en la que la mezcla era aproximadamente un 54% de isómero R en la posición C* y aproximadamente un 46% de isómero S en la posición C*; a una dosis nominal de 30 mg/kg. Se recogieron muestras de sangre en serie hasta 24 horas (h) tras la dosis. Se acidificaron las muestras plasmáticas derivadas (100 ml) mediante la adición de 5 ml de ácido fórmico para evitar la interconversión *in vitro*.

La determinación de las concentraciones tanto del isómero R como del isómero S, en la posición C*, en plasma y en disoluciones de dosis se llevó a cabo usando un método de cromatografía líquida quiral/espectrometría de masas (CL/EM/EM, por ejemplo, CL/espectroscopía de masas en tándem) método. Los compuestos para la administración oral a ratas incluyen los enumerados en la tabla 3.

Tabla 3 Compuestos para la administración oral a ratas

Diastereoisómero		Número de mezcla	Isómero R en C* (%)	Isómero S en C* (%)
Isómero S en la posición C*: (1S,3aR,6aS)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-ciclohexil-1-oxo-2-[[pirazinilcarbonil]amino]etil]amino]-3,3-dimetil-1-oxobutil]-N-[(1S)-1-[2-(ciclopropilamino)-1,2-dioxoetil]butil]octahidrociclopenta[c]pirrol-1-carboxamida	Isómero S	1	92	8

Isómero <i>R</i> en la posición C*: (1 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,6 <i>aS</i>)-2-[(2 <i>S</i>)-2-[(2 <i>S</i>)-2-ciclohexil-1-oxo-2-[(pirazinilcarbonil)amino]etil]amino]-3,3-dimetil-1-oxobutil]-N-[(1 <i>R</i>)-1-[2-(ciclopropilamino)-1,2-dioxoetil]butil]octahidrociclopenta[<i>c</i>]pirrol-1-carboxamida	Isómero <i>R</i>	2	7	93
Una mezcla de razón nominal de 60% de isómero <i>S</i> y 40% de isómero <i>R</i> (en la posición C*)	Mezcla de <i>R</i> : <i>S</i>	3	54	67

Se prepararon las formulaciones de las dispersiones sólidas que contienen o bien un 10% de la mezcla de *R*:*S*, el isómero *R* o el isómero *S* según la tabla 4.

5

Tabla 4 Composiciones de formulaciones de dispersión sólidas

Formulación	1	2	3
Componente	Isómero <i>S</i> en C*	Isómero <i>R</i> en C*	Mezcla de <i>R</i> : <i>S</i> en C*
Principio activo (mg)	100	100	100
Laurilsulfato de sodio (mg)	30	30	30
PVP K30 ^a (mg)	967	967	967
Etanol (ml)	10	10	10
Peso total (g) de polvo seco	1	1	1
^a PVP contenido en 10% de agua. Pesos corregidos para agua			

10

Para cada preparación, se disolvió el principio activo en el volumen total de etanol absoluto en un matraz de evaporación de fondo redondo, luego se calentó a 40°C y se sonicó durante aproximadamente de 5 a 6 minutos (min.) hasta que se disolvió. Se añadieron el laurilsulfato de sodio y PVP al matraz que contenía la disolución de fármaco y luego se mezclaron hasta que se disolvieron. Se secaron las mezclas en un rotovapor durante aproximadamente 15 min.

15

Una vez que se obtuvo un polvo seco, se retiró entonces el sólido del matraz y se transfirió a un recipiente de vidrio. Se secó el sólido durante 24 h a 55°C en un horno de vacío con purga de nitrógeno. Entonces se molió el sólido seco mediante almirez y mano de almirez y se almacenó en un vial tapado herméticamente. Antes de la dosificación a las ratas, se añadieron 30 mililitros (ml) de agua al sólido seco dando 3 mg/ml de isómero *R* en C*, isómero *S* en C* o mezcla de *R*:*S* en C*.

20

En el estudio se usaron ratas Sprague Dawley macho (Charles River Laboratories, Kingston, RI; n = 6-7/grupo). El día antes de la dosificación, se canularon las ratas en la arteria carótida para recoger muestras de sangre. Se administró a cada rata por vía oral una dosis nominal de 30 mg/ml de o bien el isómero *R* en C*, el isómero *S* en C*, o bien la mezcla de *R*:*S* en C*. Los experimentos se realizaron con un diseño de estudio paralelo como 6 estudios de dosis única separados tal como se describe en la tabla 5.

25

Tabla 5 Diseño experimental

N.º de ratas	Vía de dosis	Formulación de dosis	Compuestos administrado	Nivel de dosis objetivo (mg/kg)	Volumen de dosis objetivo (ml/kg)
7	Sonda nasogástrica oral	L/N 1832-071B	Isómero <i>R</i> en C*	30	10
6	Sonda nasogástrica oral	L/N 1832-071A	Isómero <i>S</i> en C*	30	10
6	Sonda nasogástrica oral	L/N 1832-071C	Mezcla de <i>R</i> : <i>S</i> en C*	30	10

30

Tras la administración mediante inyección i.v. y oral, se recogieron muestras de sangre en serie antes de la dosis y a las 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8 y 24 h tras la administración oral. Se recogieron las muestras de sangre en tubos que contenían EDTA potásico y se centrifugaron hasta la obtención del plasma en el plazo de 15 min de la recogida. Se preparó una disolución diluida de ácido fórmico diluyendo 1 ml de ácido fórmico con 9 ml de agua. Se colocó un total de 5 microlitros (µl) de este ácido fórmico diluido en cada tubo de plasma. Se colocó una alícuota de plasma (100 µl por tubo) en tubos marcados de manera apropiada que contenían el ácido fórmico y se almacenó el plasma

acidificado congelado a -70°C hasta su análisis. Se implementó la etapa de acidificación para evitar la interconversión *in vitro*.

5 En referencia a la tabla 6, podrían estimarse varios parámetros de biodisponibilidad para los compuestos que experimentan metabolismo reversible mediante las siguientes descripciones. Todos los símbolos contienen un subíndice que representa la entidad medida y un superíndice que representa la entidad dosificada:

FRR representa la biodisponibilidad del isómero *R* en C* tras una dosis del isómero *R* en C*;

10 FSS representa la biodisponibilidad del isómero *S* en C* tras una dosis del isómero *S*;

FR+SR representa la biodisponibilidad total estimada basándose en la exposición combinada a los isómeros *R* y *S* (en la posición C*) tras una dosis del isómero *R*;

15 FS+RS representa la biodisponibilidad total estimada basándose en la exposición combinada a los isómeros *R* y *S* (en la posición C*) tras una dosis del isómero *S*;

20 FSR representa la biodisponibilidad del isómero *S* en C* tras una dosis del isómero *R* en C*, que es la razón relativa de AUCS normalizada por dosis tras una dosis oral del isómero *R* frente a tras la dosis i.v. del isómero *R*; y

FRS representa la biodisponibilidad del isómero *R* en C* tras una dosis del isómero *S* en C*, que es la razón relativa de AUCR normalizada por dosis tras una dosis oral del isómero *S* frente a la de la dosis i.v. del isómero *S*.

Tabla 6 resumen de todos los parámetros de biodisponibilidad

25

Símbolo del parámetro	Valor del parámetro (%)	Contribución del isómero S en C* (%)	Contribución del isómero R en C* (%)
FR ^R	80,59	0	80,59
FS ^S	42,88	42,88	0
FR+S ^R	96,35	15,76	80,59
FR+S ^S	49,23	42,88	6,35
FS ^R	139,99	NA	NA
FR ^S	157,88	NA	NA
N/A = no aplicable			

30 En referencia también a las figuras 1A-B, 2A-B y 3A-B, el isómero *R* en C* se absorbió más fácilmente que el isómero *S* en C* puesto que el valor de FRR fue mayor que el valor de FSS y el valor de FR+SR fue mayor que el valor de FR+SS (aproximadamente 2 veces). Las figuras 1A, 2A y 3A son representaciones gráficas rectilíneas de las concentraciones plasmáticas de un compuesto de fórmula (I) con más del 50% de isómero *R* en la posición C* y un compuesto con el 50% o menos de isómero *R* en la posición C* frente al tiempo tras la administración oral del compuesto. Las figuras 1B, 2B y 3B son representaciones gráficas lineales logarítmicas de las concentraciones plasmáticas de un compuesto de fórmula (I) con más del 50% de isómero *R* en la posición C* y un compuesto con el 50% o menos de isómero *R* en la posición C* frente al tiempo tras la administración oral del compuesto. Las concentraciones plasmáticas en las figuras 1A y 1B se midieron en ratas tras la administración oral a una dosis nominal de 30 mg/kg (isómero *R* en C*). Las concentraciones plasmáticas en las figuras 2A y 2B se midieron en ratas tras la administración oral a una dosis nominal de 30 mg/kg (isómero *S* en C*). Las concentraciones plasmáticas en las figuras 3A y 3B se midieron en ratas tras la administración oral a una dosis nominal de 30 mg/kg (Mezcla de *R*:*S* en la posición C*).

40 Se observó la conversión de *R* en *S* en la posición C* tras una dosis oral del isómero *R* en C*, y se observó la conversión de *S* en *R* en la posición C* tras una dosis oral del isómero *S* en C*. Se evaluó la contribución del isómero *S* a la biodisponibilidad total tras una dosis del isómero *R* mediante la diferencia entre FR+SR y FRR, que fue del 15,76%. De manera similar, se evaluó la contribución del isómero *R* en C* a la biodisponibilidad total tras una dosis del isómero *S* en C* con la diferencia entre FR+SS y FRS, que fue del 6,35%.

50 El grado de la conversión de *R* en *S* en la posición C* fue mayor para una dosis administrada por vía oral del isómero *R* en C* en comparación con la dosis administrada por vía intravenosa del isómero *R* en C*. El valor de FSR fue del 139,99%, lo que significa que el AUCINF (área bajo la curva desde el momento de dosificación hasta el infinito) del isómero *S* observada tras una dosis oral fue 1,39 veces la observada después de administrar las mismas dosis por vía intravenosa. De manera similar, el valor de FRS fue del 157,88%, lo que indica que la conversión de *S* en *R* en la posición C* fue mayor (aproximadamente 1,57 veces) para el isómero *S* administrado por vía oral que para el isómero *S* administrado por vía intravenosa.

55 La conversión de *R* en *S* en la posición C* fue más destacada que la conversión de *S* en *R* en la posición C*. La DN_AUCINF (AUCINF normalizada por dosis) del isómero *S* en C* a partir de una dosis del isómero *R* en C* fue

superior que a partir de una dosis del isómero *S* en *C** (aproximadamente 10 veces). Aunque se observó una tendencia similar para la exposición del isómero *R* en *C**, la DN_AUC_{INF} del isómero *R* a partir de una dosis del isómero *S* en *C** fue superior que a partir de una dosis del isómero *R* en *C** (2 veces), tal como se muestra en la tabla 7.

5

Tabla 7 Resumen de AUC_{INF} normalizada por dosis del isómero *R* y el isómero *S*.

Grupo de dosis	Razón de dosis R:S	Dosis (mg/kg)		DN_AUC _{INF} (h*µg/ml) Media (± DE)	
		<i>R</i> en <i>C*</i>	<i>S</i> en <i>C*</i>	<i>R</i> en <i>C*</i>	<i>S</i> en <i>C*</i>
Isómero <i>R</i> en <i>C*</i>	92:8	16,87	1,56	0,34 (± 0,17)	1,35 (± 0,88)
isómero <i>S</i> en <i>C*</i>	7:93	1,23	17,65	0,72 (± 0,52)	0,14 (± 0,07)
Mezcla de <i>R:S</i> en <i>C*</i>	54:46	10,50	9,05	0,22 (± 0,07)	0,30 (± 0,06) ^a

^a n=2; AUC_{INF} no puede estimarse en las ratas restantes

10

En referencia a la tabla 8, puede lograrse una exposición similar del isómero *S* en la posición *C** mediante la administración de o bien una dosis del isómero *R* en *C** o bien una dosis del isómero *S* en *C**. Los valores de DN_AUC_{INF} del isómero *S* en *C** fueron similares (0,13 h*µg/ml frente a 0,14 h*µg/ml), basándose en la suposición de que la presencia del isómero *S* en *C** (8% del total) en la dosis del isómero *R* en *C** hacía una contribución insignificante a la exposición global del isómero *S* en *C**. Una dosis del isómero *S* en *C** logró una exposición mucho mayor del isómero *R* en *C** (aproximadamente un séptimo) que una dosis del isómero *R* en *C**.

15

Tabla 8 Resumen de DN_AUC_{INF} del isómero *R* en *C** y el isómero *S* en *C** cuando se normalizó por la dosis para la dosis del isómero principal.

Grupo de dosis	Razón de dosis R:S	Dosis (mg/kg)		DN_AUC _{INF} (h*µg/ml) Media (± DE)	
		<i>R</i> en <i>C*</i>	<i>S</i> en <i>C*</i>	<i>R</i> en <i>C*</i>	<i>S</i> en <i>C*</i>
Isómero <i>R</i> en <i>C*</i>	92:8	16,87 ^a	1,56	0,34 (± 0,17)	0,13 (± 0,08)
Isómero <i>S</i> en <i>C*</i>	7:93	1,23	17,65 ^a	0,050 (± 0,036)	0,14 (± 0,07)
Mezcla de <i>R:S</i> en <i>C*</i>	54:46	10,50 ^a	9,05 ^a	0,22 (± 0,07)	0,30 (± 0,06) ^b

^aValores de dosis usados para calcular el AUC_{INF} normalizada por dosis.
^bn=2; AUC_{INF} no puede estimarse en las ratas restantes.
 Nota: Se supuso que la contribución del diastereoisómero menor a AUC_{INF} era insignificante.

20

Tras la administración de la mezcla de *R:S* en *C**, hubo más conversión de *R* en *S* en *C** que conversión de *S* en *R*. El valor de DN-AUC_{INF} del isómero *S* (0,30 h*µg/ml) fue superior al esperado para una dosis oral individual del isómero *S* (0,14 h*µg/ml). Además, el valor de DN-AUC_{INF} de 0,30 h*µg/ml se aproxima a la suma del valor de DN-AUC_{INF} a partir de una dosis de isómero *S* y el valor de DN-AUC_{INF} a partir de una dosis de isómero *R*.

25

El valor de DN_AUC_{INF} del isómero *R* a partir de una dosis oral de mezcla de *R:S* no pareció ser diferente del observado tras una dosis oral del isómero *R*.

30

Hubo una alta variabilidad en el tiempo observado hasta alcanzar las concentraciones máximas del isómero *R* y el isómero *S*. Los valores de T_{max} medios (± DE) fueron 2,11 (± 1,24) h, 3,39 (± 2,38) h y 4,88 (± 3,53) h para el isómero *R* tras la administración oral del isómero *R*, el isómero *S* y la mezcla de *R:S*, respectivamente. Los valores de T_{max} medios (± DE) correspondientes fueron 2,27 (± 1,44) h, 2,52(± 2,19) h y 4,88 (± 3,53) h para el isómero *S*.

35

Tras una dosis oral del isómero *R*, el valor de t_{1/2} de media armónica fue de 2,18 h para el isómero *R*, que fue mayor que el valor de t_{1/2} de i.v. de 0,75 h. Tras una dosis oral del isómero *S*, el valor de t_{1/2} de media armónica fue de 3,60 h para el isómero *S*, que fue mayor que el valor de t_{1/2} de i.v. de 1,73 h.

40

Por tanto, en ratas, la biodisponibilidad del isómero *R* en la posición *C** fue aproximadamente 2 veces la del isómero *S* en la posición *C**. La biodisponibilidad total fue aproximadamente del 98% para el isómero *R* en la posición *C** dosificado por vía oral y aproximadamente del 50% para el isómero *S* en la posición *C** dosificado por vía oral, cuando se representa mediante la exposición combinada de los 2 isómeros. Además, tras la dosificación oral, la conversión de *R* en *C** a *S* en *C** fue más destacada que la conversión de *S* en *C** a *R* en *C**. Se produjo interconversión en un grado mayor tras una dosis oral cuando se comparó con la de una dosis i.v.

45

Ejemplo 2: Protocolo de ensayo de enzimas del VHC

Método de HPLC en Microbore para la separación de sustrato 5AB y productos

Sustrato:

ES 2 401 661 T3

NH₂-Glu-Asp-Val-Val-(alfa)Abu-Cys-Ser-Met-Ser-Tyr-COOH

Se preparó una disolución madre de 5AB 20 mM en DMSO con DTT 0,2 M. Esta se almacenó en alícuotas a -20°C.

Tampón:

HEPES 50 mM, pH 7,8; glicerol al 20%; NaCl 100 mM

El volumen total de ensayo fue 100 µl.

Reactivo	X1 (µl)	Conc. en ensayo
Tampón	86,5	Véase anteriormente
KK4A 5 mM	0,5	25 µM
DTT 1 M	0,5	5 mM
DMSO o inhibidor	2,5	2,5% v/v
tNS3 50 µM	0,05	25 nM
5AB 250 µM (iniciar)	20	25 µM

Se combinaron el tampón, KK4A, DTT y tNS3; se distribuyeron 78 µl en pocillos de una placa de 96 pocillos. Esto se incubó a 30°C durante ≈5-10 min.

Se disolvieron 2,5 µl de concentración apropiada del compuesto de prueba en DMSO (DMSO sólo para control) y se añadieron a cada pocillo. Esto se incubó a temperatura ambiente durante 15 min.

La reacción se inició mediante la adición de 20 µl de sustrato 5AB 250 µM (la concentración de 25 µM es equivalente o ligeramente inferior a la Km para 5AB).

Se incubó durante 20 min. a 30°C.

La reacción se terminó mediante la adición de 25 µl de TFA al 10%

Se transfirieron alícuotas de 120 µl a viales de HPLC

El producto SMSY se separó del sustrato y de KK4A mediante el siguiente método:

Método de separación en Microbore:

Instrumentos: Agilent 1100

Desgasificador G1322A

Bomba binaria G1312A

Inyector automático G1313A

Cámara termostregulada de columna G1316A

Detector por red de diodos G1315A

Columna

Fenomenex Jupiter; 5 micrómetros C18; 300 angstroms; 150x2 mm; P/O 00F-4053-B0

Termostato de la columna: 40°C

Volumen de inyección: 100 µL

Disolvente A = agua de calidad para HPLC + TFA al 0,1%

Disolvente B = acetonitrilo de calidad para HPLC + TFA al 0,1%

Tiempo (min.)	% B	Flujo (ml/min.)	Presión máx.
0	5	0,2	400

12	60	0,2	400
13	100	0,2	400
16	100	0,2	400
17	5	0,2	400

Tiempo de detención: 17 min.

Tiempo tras la ejecución: 10 min.

5 Los compuestos con K_i por debajo de $1 \mu\text{M}$ se designan A. Los compuestos con K_i' que oscilaban entre $1 \mu\text{M}$ y $5 \mu\text{M}$ se designan B. Los compuestos con K_i por encima de $5 \mu\text{M}$ se designan C.

10 En un periodo de incubación de 15 minutos, el isómero *S* mostró una K_i en la categoría A y el isómero *R* mostró una K_i en la categoría B. La K_i se determina mediante los ensayos de escisión peptídica con fluorescencia para la proteasa NS3 del VHC y el ensayo de escisión peptídica basado en HPLC para la serina proteasa NS3 del VHC descrita en los ejemplos 3 y 4.

15 Ensayos farmacocinéticos:

Ejemplo 3: Ensayos de escisión peptídica con fluorescencia para la proteasa NS3 del VHC:

20 Se determinó la constante de inhibición en estado estacionario, K_i^* , de varios compuestos de fórmula I en un ensayo que se modificó ligeramente con respecto a un ensayo de escisión peptídica con fluorescencia descrito en Taliani, M., E. Bianchi, F. Narjes, M. Fossatelli, A. Rubani, C. Steinkuhler, R. De Francesco y A. Pessi. 1996. A Continuous Assay of Virus of the hepatitis C Protease Based on Resonance Energy Transfer Dipeptide Substrates. Anal Biochem. 240:60-67.

25 Se realizó el ensayo en un tampón que contenía HEPES 50 mM (pH 7,8), NaCl 100 mM, glicerol al 20% y ditiotreitolo 5 mM (tampón A), usando el péptido fluorescente RET-S1 como sustrato. Se monitorizaron las reacciones de manera continua usando un lector de placas de microtitulación para fluorescencia fMax (Molecular Devices; Sunnyvale, CA) termorregulado a 30°C , con filtros de excitación y emisión de 355 nm y 495 nm, respectivamente. Se preincubó una disolución madre de proteasa NS3 del VHC en tampón A que contenía péptido KK4A $25 \mu\text{M}$ durante 10 min. a temperatura ambiente, seguido por una incubación adicional de 10 min. a 30°C . Se añadió una alícuota de un compuesto de fórmula I con el 50% o menos de isómero *R*, disuelto en dimetilsulfóxido (DMSO) al 100% a una disolución de RET-S1 en tampón A que contenía péptido KK4A $25 \mu\text{M}$ y se preincubó a 30°C durante 10 min. Se inició la reacción mediante la adición de una alícuota de la proteasa NS3/disolución madre de KK4A a la mezcla de compuesto/RET-S1/KK4A/tampón para dar concentraciones finales de RET-S1 $12 \mu\text{M}$, DMSO al 2% (v/v), péptido KK4A $25 \mu\text{M}$ y proteasa NS3 del VHC 0,5-1,0 nM. Se determinaron las velocidades de reacción en estado estacionario a partir de la regresión lineal de los puntos de datos de fluorescencia frente al tiempo obtenidos a lo largo de un intervalo de 5 min. en un tiempo de reacción de 4 h. Se determinó la K_i^* de los compuestos ajustando los datos de actividad frente a concentración de inhibidor a la ecuación de Morrison para la inhibición enzimática de unión de alta afinidad. Véase Morrison, J. F. 1969. Kinetics of the reversible inhibition of enzyme-catalyzed reactions by tight-binding inhibitors. Biochim. Biophys. Acta 185:269-86.

40 Se determinó la constante de velocidad de disociación del complejo entre la proteasa NS3 del VHC y los compuestos usando el sustrato RET-S1 tal como sigue: Se preparó una disolución madre de proteasa NS3 del VHC en tampón A que contenía péptido KK4A $25 \mu\text{M}$ tal como se describió anteriormente. Se añadió una alícuota de $1 \mu\text{l}$ de $100 \mu\text{M}$ de un compuesto de fórmula I con el 50% o menos de isómero *R* disuelto en DMSO al 100% a una alícuota de $49 \mu\text{l}$ de la disolución madre en enzima precalentada para dar una mezcla de enzima $320 \mu\text{M}$ y $2 \mu\text{M}$ del compuesto, que entonces se incubó a 30°C durante 4 h para permitir que la formación del complejo enzima-inhibidor alcanzase el equilibrio. Se inició la reacción de disociación mediante dilución en serie de una alícuota de $8 \mu\text{l}$ de la mezcla enzima-inhibidor, en $192 \mu\text{l}$ de tampón A que contenía péptido KK4A $25 \mu\text{M}$ y DMSO al 2% (v/v), y luego en $192 \mu\text{l}$ de RET-S1 en tampón A que contenía péptido KK4A $25 \mu\text{M}$ y DMSO al 2%, ambos precalentados hasta 30°C . Las concentraciones finales fueron proteasa NS3 del VHC 0,5 nM, péptido KK4A $25 \mu\text{M}$, RET-S1 $12 \mu\text{M}$ y (1S,3aR,6aS)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-ciclohexil-1-oxo-2-[(pirazinilcarbonil)amino]etil]amino]-3,3-dimetil-1-oxobutil]-N-[(1R)-1-[2-(ciclopropilamino)-1,2-dioxoetil]butil]octahidro-ciclopenta[c]pirrol-1-carboxamida 3 mM. Se monitorizó el cambio en la fluorescencia a lo largo de un intervalo de 4 h y se ajustaron las representaciones gráficas de los datos de fluorescencia frente al tiempo a la siguiente ecuación: $F(t) = V_s \times t + (V_i - V_s) \times (1 - \exp(-k_{obs} \times t)) / k_{obs} + C$, mediante regresión no lineal. Se determinaron las velocidades de control de una reacción que contenía DMSO puro. En estas condiciones experimentales, k_{obs} está dentro del 20% de k_{off} . Se calculó la semivida del complejo ($t_{1/2}$) a partir de k_{off} usando la siguiente ecuación: $t_{1/2} = 0,693/k_{off}$.

Ejemplo 4: Ensayo de escisión peptídica basado en HPLC para serina proteasa NS3 del VHC:

60

Este ensayo es una versión ligeramente modificada de la que se ha descrito anteriormente en Landro, J. A., S. A. Raybuck, Y. P. Luong, E. T. O'Malley, S. L. Harbeson, K. A. Morgenstern, G. Rao y D. J. Livingston. 1997. Mechanistic Role of an NS4A Peptide Cofactor with the Truncated NS3 Protease of Virus of hepatitis C: Elucidation of the NS4A Stimulatory Effect via Kinetic Analysis and Inhibitor Mapping. *Biochemistry* 36:9340-9348.

Se preincubó la proteasa NS3 (10-25 nM) y KK-4A 25 μ M durante 5 min. en un tampón que contenía HEPES 50 mM (pH 7,8), NaCl 100 mM, glicerol al 20% y ditioneitol 5 mM, a temperatura ambiente. Se añadieron inhibidores de proteasa del VHC, disueltos en DMSO, a la mezcla enzimática, con una concentración final de DMSO del 2% (v/v) y se incubaron durante 15 min. a temperatura ambiente. Se inició la reacción de proteólisis mediante la adición del sustrato NS5A/NS5B a una concentración igual a su K_m (25 μ M) y se incubó durante 15 min. a 30°C. Se extinguió la reacción mediante la adición de un volumen de un cuarto de ácido trifluoroacético al 10% y se analizó en una columna de HPLC en fase inversa. Se completó el análisis de la muestra en el plazo de 24 horas de terminación de la reacción. Se calculó la constante de inhibición aparente, K_i (app), de los inhibidores de proteasa del VHC usando el método de ajuste por mínimos cuadrados de regresión no lineal basándose en la ecuación de Morrison para la inhibición competitiva de unión de alta afinidad. Véase Morrison, *et al.*

Ejemplo 5: Determinación de CI_{50} en células de replicón de VHC:

Varios compuestos de fórmula I tienen concentraciones a las que el nivel de ARN de VHC en las células de replicón se reduce en un 50% (CI_{50}) o en un 90% (CI_{90}), o la viabilidad celular se reduce en un 50% (CC_{50}) se determinaron en células de replicón subgenómicas con 1 de VHC (Lohmann, V., F. Komer, J. Koch, U. Herian, L. Theilmann y R. Bartenschlager. 1999. Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* 285:110-3.16 usando ajustes de curvas de cuatro parámetros (SoftMax Pro). Brevemente, se incubaron las células de replicón con compuestos diluidos en medio que contenía suero bovino fetal (FBS) al 2% y DMSO al 0,5% a 37°C. Se extrajo el ARN celular total usando un kit RNeasy-96 (Qiagen, Valencia, CA) y se determinó el número de copias del ARN del VHC en un ensayo de PCR-transcripción inversa, Multiplex, en tiempo real, cuantitativo (QRT-PCR o Taqman). Se midió la citotoxicidad de los compuestos en las células de replicón del VHC con los mismos parámetros experimentales usando en el ensayo de viabilidad celular basado en tetrazolio tal como se describió anteriormente. Véase Lin, C., K. Lin, Y. P. Luong, B. G. Rao, Y. Y. Wei, D. L. Brennan, J. R. Fulghum, H. M. Hsiao, S. Ma, J. P. Maxwell, K. M. Cottrell, R. B. Perni, C. A. Gates y A. D. Kwong. 2004. In vitro resistance studies of hepatitis C virus serine protease inhibitors, (1S,3aR,6aS)-2-[(2S)-2-[(2S)-2-ciclohexil-1-oxo-2-[(pirazinilcarbonil)amino]etil]amino]-3,3-dimetil-1-oxobutil]-N-[(1R)-1-[2-(ciclopropilamino)-1,2-dioxoetil]butil]octahidro-ciclopenta[c]pirrol-1-carboxamida.

Ejemplo 6: Estudios farmacocinéticos en animales:

Se evaluó la farmacocinética intravenosa de los compuestos de fórmula I en ratas y perros. Se administró a un grupo de 3 ratas Sprague-Dawley macho que pesaban entre 250 y 300 g una dosis en bolo intravenosa de 0,95 mg/kg de un S-diastereómero de fórmula I, en un vehículo que consistía en etanol al 15%, dimetilisorbida al 10%, PEG400 al 35% y D5W al 40% (dextrosa al 5% en agua). Se recogieron muestras de sangre en serie en tubos heparinizados a las 0 (antes de la dosis), 0,083, 0,167, 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, y 8 h tras la administración de la dosis. Se administró a un grupo de 3 perros Beagle macho (de 8 a 12 kg; Charles River, MA) una dosis en bolo intravenosa de 3.5 mg/kg del diastereómero en etanol al 10%, PEG400 al 40% y D5W al 50%. Se recogieron muestras de sangre en serie en tubos heparinizados antes de la dosificación y a las 0,083, 0,167, 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 h tras la administración de la dosis. Para los estudios orales en ratas y perros, se formuló un compuesto de S-diastereómero de fórmula I en polivinilpirrolidona (PVP) K30 más laurilsulfato de sodio al 2% y entonces se dosificó como una sonda nasogástrica oral. Se dosificó a un grupo de 3 ratas Sprague-Dawley macho (de 250 a 300 g, Harlan, MD) por vía oral 40 mg/kg del compuesto, y se administró a un grupo de 3 perros Beagle macho (10,9-12,0 kg) una dosis oral de 13,2 mg/kg del compuesto. En ambos estudios orales, se tomaron muestras de sangre antes de la dosis y a las 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 y 24 h tras la administración de la dosis. En ambos estudios intravenoso y oral, se obtuvieron muestras de plasma mediante centrifugación y se almacenaron a -70°C hasta su análisis. Las muestras obtenidas del estudio intravenoso en ratas se sometieron a análisis de cromatografía líquida quiral/espectrometría de masas (CL/EM/EM), mientras que las muestras del resto de los estudios se analizaron usando un método de CL no quiral/EM/EM. Se emplearon técnicas convencionales para realizar un análisis no compartimental de datos usando la versión 4.0.1. de WinNonlin Enterprise/Pro (Pharsight Corporation, Mountain Vista, CA) para el cálculo de los siguientes parámetros farmacocinéticos, tales como C_{max} o C_{min} o C_{avg} (concentración máxima o mínima o promedio del fármaco en suero, respectivamente), AUC₀₋₈ o AUC_{0-inf} (área total bajo la curva de concentración desde las 0 hasta las 8 h o desde 0 hasta el infinito, respectivamente), $t_{1/2}$ (semivida de eliminación), CL (aclaramiento corporal total) y V_{ss} (volumen de distribución en el estado estacionario).

Ejemplo 7: Evaluación de la razón en hígado con respecto a plasma de varios compuestos de fórmula I en ratas

Se evaluó la razón en hígado con respecto a plasma de un diastereómero de un compuesto de fórmula I en ratas tras la administración oral de una solución de un compuesto en propilenglicol. Se administró por vía oral a seis grupos (3 animales por grupo) de ratas Fisher una dosis nominal de 30 mg/kg del diastereómero de un compuesto

de fórmula I. A las 0 (antes de la dosis), 0,5, 1, 2, 4 u 8 h tras la administración de la dosis, se sacrificó a un grupo de 3 animales por punto de tiempo y se obtuvieron una muestra de sangre y la muestra hepática correspondiente de cada animal. Se obtuvieron muestras de plasma centrifugando las muestras de sangre. Se extrajo el hígado completo del animal y se profundió con solución salina normal para eliminar los restos de sangre. Tras el pesado, se cortó el hígado en pequeños trozos y se homogeneizó con un volumen igual de agua. Se almacenaron las muestras de plasma e hígado a -70°C hasta su análisis usando el método del CL no quiral/EM/EM.

Ejemplo 8: Modelo de ratón para la serina proteasa NS3-4A del VHC:

Los detalles de este modelo de ratón para la serina proteasa NS3-4A del VHC se describirán en otro lugar. En el presente documento se facilita una breve descripción de este modelo. Se unió un fragmento de ADNc del VHC que codifica para un codón de iniciación de Met, una cola de His (SHHHHHHAM), los 631 aminoácidos de longitud completa de la proteína NS3 del VHC, los 54 residuos de longitud completa de la proteína NS4A del VHC y los 6 aminoácidos del extremo N-terminal (ASHLPY) de la proteína NS4B del VHC, a un gen de la fosfatasa alcalina placentaria secretado de longitud completa (SEAP) mediante PCR solapante del plásmido pYes2-NS3-4A y pSEAP2 (Clontech, Palo Alto, CA), y luego se subclonó en un vector de expresión de adenovirus, pAdenovirus (Clontech) para generar pAd-WT-HCVpro-SEAP. Se generó una versión correspondiente de este gen de fusión con una sustitución por Ala de la Ser-139 catalítica en la tríada activa de la serina proteasa NS3-4A del VHC, pAd-MT-HCVpro-SEAP, mediante el mismo método de PCR solapante y subclonación usando un a pYes2/NS3-4A que contenía la mutación Ser139 a Ala. Se empaquetó el adenovirus mediante transfección de células HEK293 (ATCC, Rockville, MD) con plásmido pAdenovirus linearizado por PacI, pAd-WT-HCVpro-SEAP o pAd-MT-HCVpro-SEAP, en presencia de Lipofectamine 2000 (Invitrogen). Se purificaron los adenovirus recombinantes mediante centrifugación en gradiente de densidad de cloruro de cesio y se desalaron mediante diafiltración con filtros Centriprep YM-50 (Millipore, Bedford, MA). Se usaron kits de título rápido de adenovirus (Clontech) para determinar la cantidad de unidades infecciosas (IFU) de reservas de adenovirus recombinantes. Se dosificó a ratones SCID de seis semanas de edad (\approx 20 g, Charles River, Wilmington, MA) mediante sonda nasogástrica oral un compuesto de fórmula (I) con el 50% o menos de isómero *R* o con vehículo solo. Dos horas tras la dosificación, se inyectó el adenovirus recombinante, Ad-WTHCVpro-SEAP o Ad-MT-HCVpro-SEAP, en la vena lateral de la cola del ratón.

Los criterios experimentales establecieron de manera prospectiva que no se incluiría a los animales con inyecciones incompletas en el análisis de los datos. Se anestesió a los ratones con isofluorano y se recogieron muestras de sangre en puntos de tiempo diferentes tras la inyección usando extracción de sangre ocular retroorbital, o en el punto de tiempo final mediante punción cardíaca. Se diluyó el suero de ratón 5 veces con agua destilada y se midió la actividad de SEAP en suero usando un sistema de detección Phospha-Light (Applied Biosystems, Foster City, CA) y un luminómetro para microplacas Tropix TR717 (Tropix, Bedford, MA). Para el análisis farmacocinético, se almacenaron las muestras de plasma a -80°C antes del análisis. Se mezclaron las muestras de hígado de ratón con 2 volúmenes (v/p) de ácido fórmico 2 M, se homogeneizaron y se almacenaron a -80°C antes del análisis. Se analizaron las muestras usando un sistema de CL quiral/EM/EM.

Ejemplo 9: Composiciones farmacéuticas

La mezcla de compuestos diastereoméricos de esta invención puede formularse de cualquier manera adecuada para suministrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la mezcla de compuestos al sujeto (por ejemplo, un mamífero). En algunas realizaciones, la mezcla de compuestos diastereoméricos de fórmula I puede formularse en polivinilpirrolidona (PVP) K-30 más laurilsulfato de sodio (SLS).

Mezcla de compuestos diastereoméricos: 49,5%

PVP K30: 49,5%

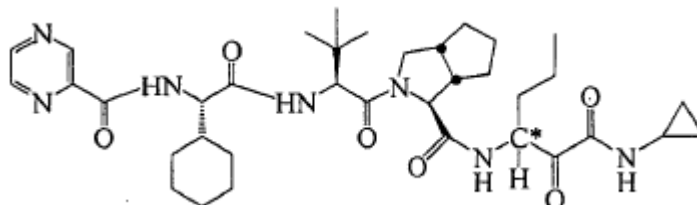
SLS: 1%

La composición puede prepararse disolviendo la mezcla de compuestos diastereoméricos, PVP K30 y suspendiendo SLS en un disolvente tal como metanol:cloruro de metileno seguido por secado por pulverización para eliminar el disolvente. Otras composiciones farmacéuticas contienen cantidades diferentes de la mezcla de compuestos diastereoméricos de fórmula I (49%), PVP K-30 (49%) y SLS (2%).

Ejemplos adicionales de las composiciones farmacéuticas de los compuestos diastereoméricos de fórmula I pueden formularse de manera similar a las composiciones descritas en el documento WO 2005/123076.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Mezcla de compuestos diastereoméricos, caracterizada porque comprende:



- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable o mezclas de los mismos, en la que C* representa una mezcla de los isómeros *R* y *S*; y el isómero *R* es más del 50% de la mezcla en relación con el isómero *S* en la posición C*.
- 15 2. Mezcla de compuestos diastereoméricos según la reivindicación 1, caracterizada porque el porcentaje del isómero *R* en la mezcla es más del 60%.
3. Mezcla de compuestos diastereoméricos según la reivindicación 2, caracterizada porque el porcentaje del isómero *R* en la mezcla es más del 70%.
- 20 4. Mezcla de compuestos diastereoméricos según la reivindicación 3, caracterizada porque el porcentaje del isómero *R* en la mezcla es más del 80%.
5. Mezcla de compuestos diastereoméricos según la reivindicación 4, caracterizada porque el porcentaje del isómero *R* en la mezcla es más del 90%.
- 25 6. Mezcla de compuestos diastereoméricos según la reivindicación 5, caracterizada porque el porcentaje del isómero *R* en la mezcla es más del 95%.
7. Mezcla de compuestos diastereoméricos según la reivindicación 6, caracterizada porque el porcentaje del isómero *R* en la mezcla es más del 98%.
- 30 8. Mezcla de compuestos diastereoméricos según la reivindicación 7, caracterizada porque el porcentaje del isómero *R* en la mezcla es más del 99%.
- 35 9. Composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de la infección por VHC en un paciente caracterizada porque comprende una mezcla de compuestos diastereoméricos según la reivindicación 1, en una cantidad eficaz para inhibir una serina proteasa; y un portador, adyuvante o vehículo aceptable.
10. Composición farmacéutica caracterizada porque comprende una mezcla de compuestos diastereoméricos según la reivindicación 1.

Figura 1A

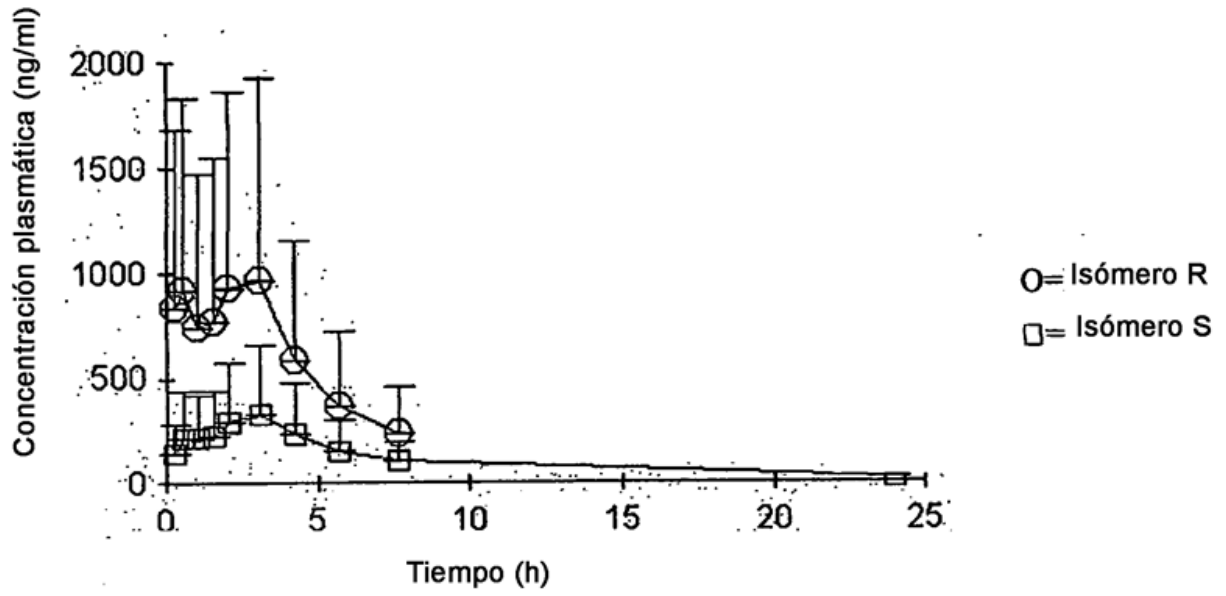


Figura 1B

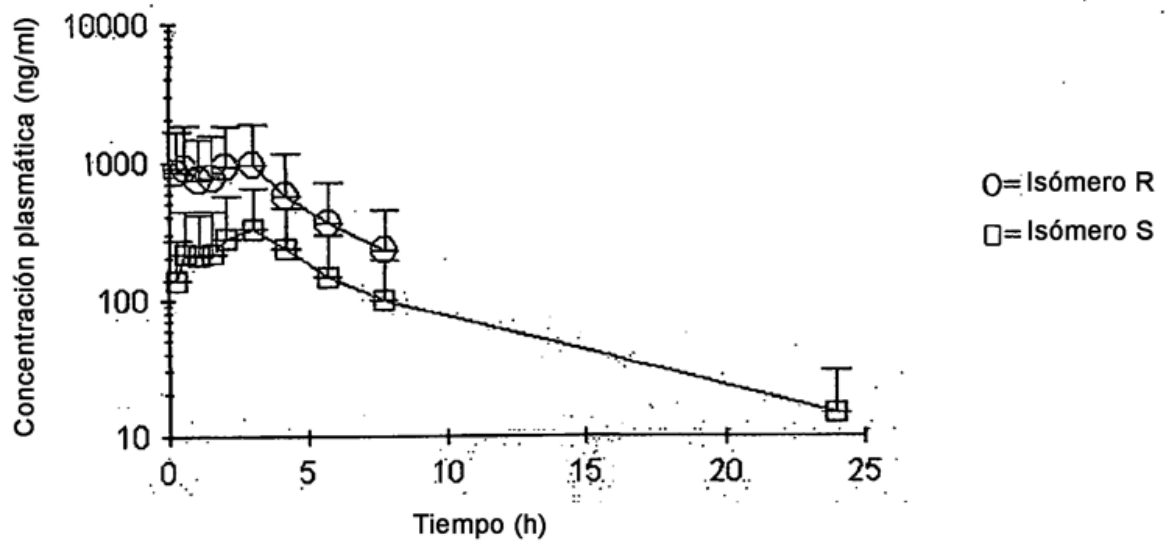


Figura 2A

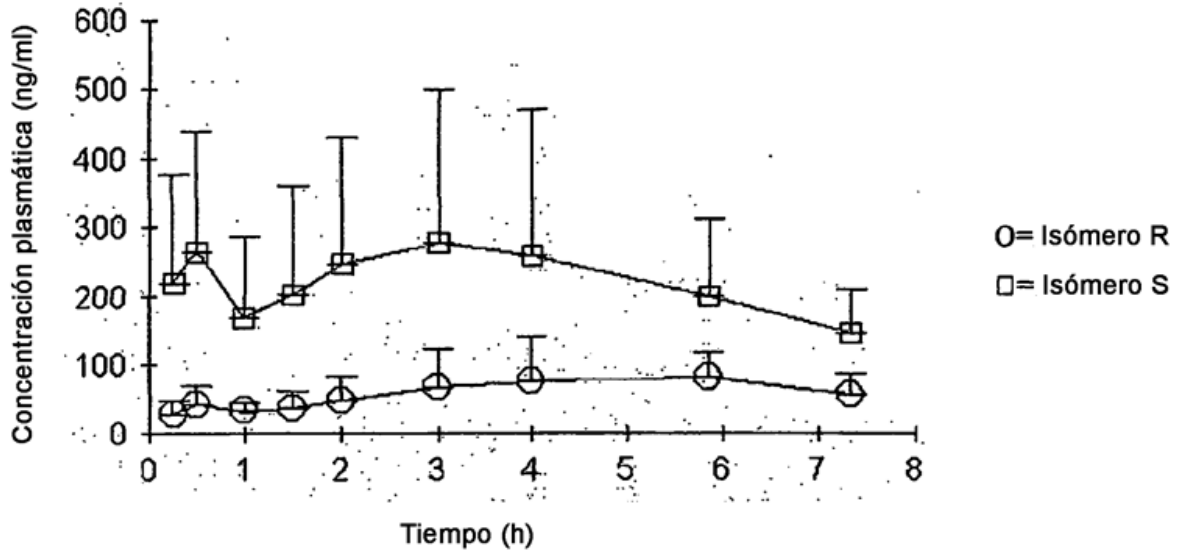


Figura 2B

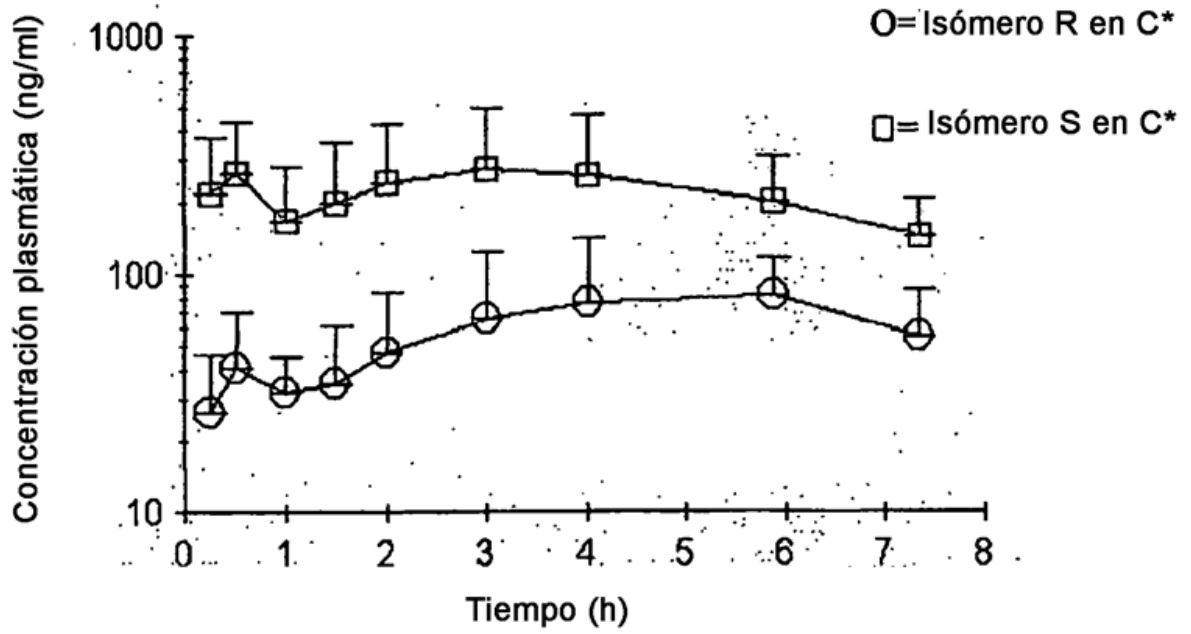


Figura 3A

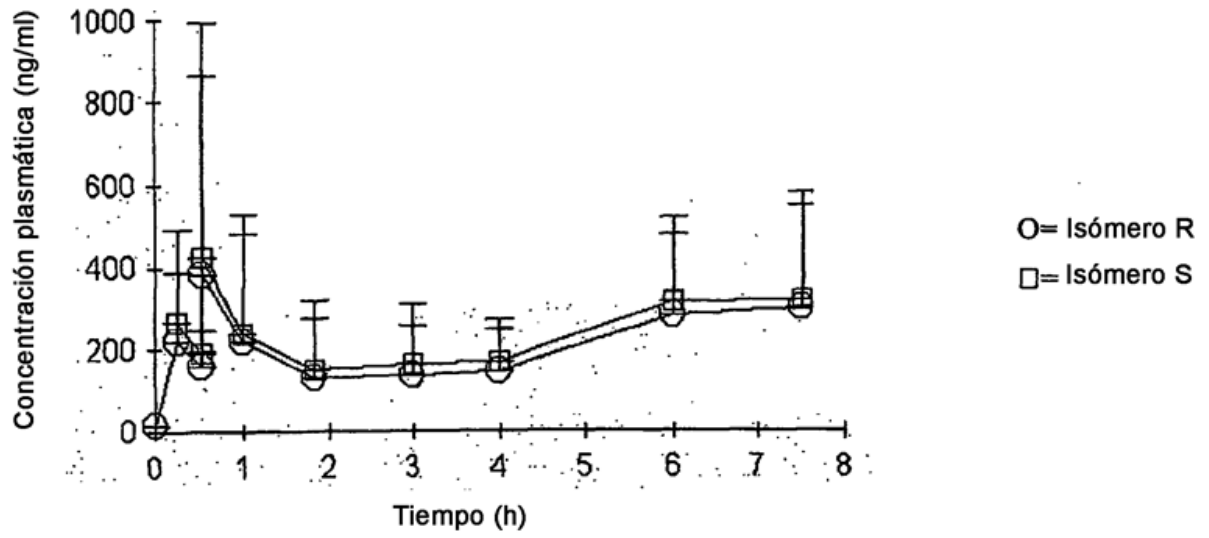


Figura 3B

